

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de BLIDA 1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**



**Mémoire de fin d'étude**  
**En vue de l'obtention du diplôme de Master**  
**En sciences biologiques**  
**Option : Microbiologie-Bactériologie**

**Thème**

**Identification des bactéries isolées des eaux des  
stations d'hémodialyse et leur profil de résistance aux  
antibiotiques**

**Présenté par :**

**HADRI Zineb**

**KOUADRI Khensa**

**Devant le jury composé de :**

**M<sup>me</sup> DEBIB A.**

**M.C.B**

**UB 1**

**Présidente.**

**M<sup>me</sup> BOUDJEMA N.**

**M.C.B**

**UB 1**

**Examinatrice.**

**M<sup>me</sup> BOKRETA S.**

**M.A.B**

**UB 1**

**Promotrice.**

**Promotion 2015/2016**

## *Remerciements*

*Tout d'abord, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour bien mener ce travail.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aux honorables membres du jury :*

*Dr **BEBIB A.** nous faire honneur en acceptant de présider le Jury de cette mémoire,*

*Soyez assuré de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.*

*Nous voudrions également remercier **Dr BOUDJEMA N.** pour l'examinasson de notre travail, Veuillez accepter nos remerciements ainsi que le témoignage de notre respect et notre gratitude.*

*Un grand Merci à notre promotrice **M<sup>me</sup> Bokreta. S** qui a suivi attentivement la progression de notre travail, pour ses conseils et sa patience.*

*Nous adressons un merci chaleureux et sincère à toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de **BLIDA** pour leur aide en particulier **Mr TEFFAHI DJAMEL.***

*Nous ne pouvons pas terminer sans remercier tous les enseignants ayant participé à notre formation durant les cinq années de nos études.*

*Enfin, nous remercions toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.*



## Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

Aux êtres les plus chers de ma vie, ceux qui m'ont apporté l'amour, le courage durant toutes mes années d'étude et le soutien dans les moments les plus difficiles, par leur sacrifice, ma chère maman et mon cher papa, à qui les mots ne suffiront pas pour les remercier.

A mon cher frère MOHAMED et mes chères sœurs FATMA ZOHRA et NESRINE, à ma nièce MERIEM et mes neveux AKRAM, AMINE et ABD ALLAH.

A mon cher fiancé YUCEF pour son soutien, ses conseils, sa tolérance, sa patience et sa confiance, ma belle mère et à toute sa famille.

A toute ma famille maternelle et paternelle.

Spécialement pour Mr TEFFAHI DJAMEL et à toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de BLIDA.

A mes adorables amies et à toutes les personnes que je n'ai pas citées mais que je porte dans mon cœur.

Enfin, je me permets de dédier ce travail à tous ceux qui luttent pour le savoir en souhaitant apporter un plus à la science.

ZINEB





## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, pour tout l'amour qu'ils me portent et pour leur encouragement et leurs grands sacrifices. Aucun dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux, que Dieu vous protège,

A ma chère grande mère, mes oncles, ma tante,

A ma chère sœur SARA, et à mes adorables frères MOHAMED et TAHAR, à ma nièce ISRAA et mon neveu MOHAMED,

A toute ma grande famille,

A mes adorables amies, et tous qui sont chers à mois et je n'ai pas cité.

KHENSA



## Résumé :

L'objectif de ce travail consiste à évaluer la qualité bactériologique des eaux destinées à l'hémodialyse, en isolant et en identifiant les bactéries présentes dans ces eaux et à étudier l'état d'antibiorésistance des souches isolées vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques.

Les résultats de contrôle bactériologique montrent que l'eau de 05 échantillons (17.86%) provenant des cliniques privées est de mauvaise qualité bactériologique. Notre étude a révélé une contamination de trois échantillons d'eau prélevés à partir de robinet d'hémodialyse par les coliformes totaux (>240 UFC/100ml). Un seul échantillon était contaminé par les coliformes fécaux, ce dernier provient de la clinique LILIA à raison d'un taux supérieur à 240g/100ml. Les résultats relatifs à la mise en évidence des streptocoques fécaux montre qu'un seul échantillon de la clinique SIDI ABDEL KADER était contaminé (43g/100ml). De plus, nous avons noté la présence des spores d'anaérobies sulfito-réductrices dans un seul échantillon. Les résultats de nos analyses indiquent que tous les prélèvements ne présentent aucune croissance des germes pathogènes suivants : Salmonelles, *Pseudomonas aeruginosa*, et les vibrions cholériques.

Les résultats d'antibiogrammes des souches isolées vis-à-vis quelques antibiotiques de différentes familles sont décrits. La majorité des souches isolées présente une résistance accrue vis-à-vis les antibiotiques testés principalement aux beta-lactamines, au metronidazole et aux tetracyclines.

**Mots clés :** eau d'hémodialyse, contrôle bactériologique, identification, bactéries, antibiorésistance, stations d'hémodialyse.

## **Abstract:**

The objective of this work is to evaluate the microbiological quality of water used for hemodialysis, by isolating and identifying bacteria in those waters and to study the antibiotic resistance profile of isolated strains towards different families of antibiotics.

The results of bacteriological control show that water of 05 samples (17.86 %) from private clinics is of poor bacteriological quality. Our study revealed a contamination of three water samples by total coliforms ( $> 240$  UFC / 100ml). One sample was contaminated with fecal coliforms, it comes from LILIA clinic with of a rate exceeding 240g/100ml. The results related to the detection of fecal streptococci show that one sample of clinic SIDI ABDEL KADER was contaminated (43g/100ml). Besides, it was noted the presence of sulfite-reducing anaerobic spores in a single sample. The results of our analysis indicate that all samples show no growth of the following pathogenic germs: *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Vibrio cholerae*.

The results of antibiotic susceptibility testing of isolated strains towards some antibiotics from different families are described. The majority of isolated strains present an increased resistance versus tested antibiotics mainly to beta -lactams, metronidazole and tetracyclines.

**Keywords:** hemodialysis water, biological control, identification, bacteria, antibiotic resistance, hemodialysis stations.

## ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النوعية الميكروبيولوجية لمياه غسل الكلى، عن طريق عزل وتحديد البكتيريا الموجودة في تلك المياه ودراسة حالة مقاومة المضادات الحيوية للسلاسل المعزولة ضد عائلات مختلفة من المضادات الحيوية.

تشير نتائج المراقبة البكتريولوجية أن 05 عينات من المياه (17.86%) القادمة من العيادات الخاصة هي ذات نوعية بكتريولوجية رديئة. كشفت دراستنا تلوث ثلاث عينات من مياه صنوبر غسل الكلى بـ Coliformes totaux (<240غ/100مل). عينة واحدة كانت ملوثة بـ Coliformes fécaux، وهذه الأخيرة مصدرها عيادة ليليا بنسبة مرتفعة على 100 / 240UFC مل. النتائج المرتبطة بالكشف عن Streptocoques fécaux أظهرت أن عينة واحدة من عيادة سيدي عبد القادر كانت ملوثة (<43غ/100مل). بالإضافة إلى ذلك، لوحظ وجود أبواغ الجراثيم اللاهوائية المرجعة للسلفيت في عينة واحدة. نتائج تحاليلنا تشير إلى أن جميع العينات لا تظهر أي نمو للجراثيم المسببة للأمراض التالية: les vibriions cholériques. Salmonelles *Pseudomonas aeruginosa*.

تم وصف نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للسلاسل المعزولة ضد بعض المضادات الحيوية من عائلات مختلفة في دراستنا. معظم السلاسل المعزولة أظهرت مقاومة عالية ضد المضادات الحيوية المختبرة خاصة لـ beta-lactamines, metronidazole, tetracyclines.

**الكلمات المفتاحية:** مياه غسل الكلى، المراقبة البكتريولوجية، الكشف، البكتيريا، مقاومة المضادات الحيوية، مراكز غسل الكلى.

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## **Chapitre I : Rappels bibliographiques**

### **I. Généralités**

I.1 Physiologie rénale.....	2
I.2 Insuffisance rénale.....	2
I.2.1 Insuffisance rénale chronique (IRC) .....	2
I.2.2 Insuffisance rénale aiguë (IRA) .....	3
I.3 Hémodialyse.....	3
I.3.1 Techniques d'hémodialyse.....	4
I.3.1.1 Hémodialyse conventionnelle.....	4
I.3.1.2 Hémofiltration.....	5
I.3.1.3 Hémodiafiltration.....	5
I.3.1.4 Hémofiltration et hémodiafiltration en ligne.....	5

### **II. Eaux d'hémodialyse**

II.1 Généralités sur les eaux d'hémodialyse.....	5
II.2 Objectifs du traitement d'eau pour hémodialyse.....	6
II.3 Qualité de l'eau utilisée en hémodialyse.....	6
II.3.1 Importance d'une qualité de l'eau dans hémodialyse.....	6
II.3.2 Réglementation.....	7
II.3.3 Effet d'une mauvaise qualité bactériologique d'eau de dialyse.....	7
II.3.4 Qualité de l'eau exigée ou recommandée.....	8
II.4 Traitement de l'eau d'hémodialyse.....	9

II.4.1 Description technique du traitement d'eau en hémodialyse.....	10
--	----

### **III. Risque infectieux lié à l'eau de dialyse**

III.1 Coliformes.....	13
-----------------------	----

III.1.1 Coliformes totaux.....	13
--------------------------------	----

III.1.2 Coliformes fécaux.....	13
--------------------------------	----

III.2 Streptocoques fécaux.....	13
---------------------------------	----

III.3 Salmonelles.....	14
------------------------	----

III.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
---	----

III.5 Clostridium sulfito-réducteur ou bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR).....	14
--	----

III.6 Vibrions cholériques.....	14
---------------------------------	----

### **IV. Antibiotiques et antibiorésistance**

IV.1 Antibiotiques.....	15
-------------------------	----

IV.1.1 Définition.....	15
------------------------	----

IV.1.2 Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action.....	15
--	----

IV.2 Antibiorésistance.....	16
-----------------------------	----

IV.2.1 Définition.....	16
------------------------	----

IV.2.2 Différents types de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	16
---	----

IV.2.2.1 Résistance naturelle.....	16
------------------------------------	----

IV.2.2.2 Résistance acquise.....	16
----------------------------------	----

IV.2.2.3 Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	16
---	----

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### II.1. Matériel

II.1 Matériel biologique.....18

II.1.2 Matériel non biologique.....18

### II.2 Méthodes

II.2.1 Techniques de prélèvement et transport..... 18

II.2.2 Test de chlore résiduel.....19

II.2.3 Analyses bactériologiques.....20

II.2.3.1 Recherche et dénombrement des coliformes (la colimétrie) .....20

II.2.3.2 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....22

II.2.3.3 Recherche des salmonelles.....23

II.2.3.4 Recherches des *Pseudomonas aeruginosa*.....24

II.2.3.5 Recherche et dénombrement des clodtridium sulfito-réducteurs ou bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) .....26

II.2.3.6 Recherche des vibrions cholériques.....27

II.2.4 Galerie API 20<sup>E</sup> .....29

II.2.5 Antibiogramme.....29

## Chapitre III : Résultats et discussions

III.1 Test de chlore résiduel.....31

III.2 Résultats de contrôle bactériologique.....32

III.2.1 Résultats de contrôle bactériologique de l'Hôpital FRANTZ FANON.....32

III.2.2 Résultats de contrôle bactériologique de la clinique d'hémodialyse SIDI ABDEL KADER.....33

III.2.3 Résultats de contrôle bactériologique de la clinique LILIA.....	34
III.2.4 Résultats de contrôle bactériologique de la clinique IFRADJ.....	35
III.2.5 Résultats de la recherche des Coliformes totaux et fécaux et Streptocoques fécaux.....	36
<b>III.3 Résultats de contrôle de l'antibiorésistance.....</b>	<b>39</b>
III.3.1 Antibiorésistance des souches d'Enterobacteriaceae isolées.....	41
III.3.2 Antibiorésistance des souches de Pseudomonaceae isolées.....	48
III.3.3 Antibiorésistance des souches de Streptococcaceae isolées.....	51
III.3.4 Antibiorésistance des souches de Vibrionaceae isolées.....	53
<b>Conclusion.....</b>	<b>57</b>

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## **Abréviations :**

IR : Insuffisance rénale

AV : Artério-véneux

HD : Hémodialyse

DP : Dialyse péritonéale

MSP : Membrane semi-perméable

PM : Poids moléculaire

RA : Rein artificiel

FG : Filtration glomérulaire

PE : Pharmacopée Européenne

PF : Pharmacopée Française

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

E.colie : *Escherichia coli*

ATB : Antibiotique

ARNm : Acide Ribonucléique messager

MLS : Macrolides, Lincosomides, Synergistines

VF : Viande Foie

BGN : Bacille à Gram Négatif

BGP : Bacille à Gram Positif

CGN : Cocci à Gram Négatif

CGP : Cocci à Gram Positif

GN : Gélose Nutritive

RASRBA : Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ISO : International Standardization Organization

AFNOR : Association Française de Normalisation

g : germe

BQB : Bonne Qualité Bactériologique

MQB : Mauvaise Qualité Bactériologique

C.T : Coliformes totaux

C.F : Coliformes fécaux

S.F : Streptocoques fécaux

S : Salmonelles

P.a : *Pseudomonas aeruginosa*

V.C : Vibrions cholériques

Ech : échantillon

## **Glossaire :**

**Néphron :** unité morphologique et fonctionnelle du rein, composée d'un glomérule et d'un tubule urinifère (Marcel et *al.*, 2006).

**Glomérule rénal :** pelote de capillaires du corpuscule rénal, au niveau desquels se forme l'urine primaire (Jacques et *al.*, 2007).

**Filtration glomérulaire :** formation d'un ultrafiltrat du plasma dans les corpuscules rénaux par filtration à travers la membrane basale de l'endothélium des capillaires du glomérule rénal (Jacques et *al.*, 2007).

**Amyloïdose :** Ensemble de maladies caractérisées par le dépôt de substance amyloïde dans les organes périphériques (Jacques et *al.*, 2007).

**Encéphalopathie :** ensembles de troubles cérébraux qui compliquent parfois certaines infections, certaines altérations de l'état général ou certaines intoxications et correspondant à des altérations anatomiques sévères et variées (Marcel et *al.*, 2006).

**Ostéopathie :** affections osseuses (Jacques et *al.*, 2007).

**Méthémoglobinémie :** présence dans les hématies d'une quantité excessive de méthémoglobine (dérivé de l'hémoglobine dans lequel le fer est à l'état trivalent, il est incapable de fixer l'O<sub>2</sub>), pouvant entraîner des symptômes asphyxiques par anoxémie (Marcel et *al.*, 2006).

**Hépatopathie :** affections du foie (Marcel et *al.*, 2006).

**Ostéoporose :** diminution de la masse minérale des os due à un défaut de renouvellement du tissu osseux, elle s'installe rapidement dans les os qui ne sont plus soumis à des contraintes (immobilisation, apesanteur) (Jacques et *al.*, 2007).

**Ostéomalacie :** calcification insuffisante de la substance fondamentale de l'os de l'adulte se traduisant par des microfractures de la corticale et des travées osseuses de l'os spongieux (Jacques et *al.*, 2007).

**Cyanose :** couleur bleuté que prend la peau humaine lorsque le sang capillaire est mal oxygéné. Elle s'observe aussi lorsqu'une partie importante de l'hémoglobine est convertie en méthémoglobine (Jacques et *al.*, 2007)

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Le cadre réglementaire de l'eau pour l'hémodialyse.....	Annexe III
<b>Tableau II :</b> Relations entre effets toxiques et concentrations de plusieurs contaminants physicochimiques et bactériologiques de l'eau pour hémodialyse.....	8
<b>Tableau III :</b> Les normes microbiologique de l'eau pour l'hémodialyse .....	9
<b>Tableau IV :</b> Les normes de la qualité bactériologique d'une eau destinée à l'hémodialyse.....	15
<b>Tableau V :</b> Les principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action.....	Annexe III
<b>Tableau VI :</b> Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	17
<b>Tableau VII :</b> Table NPP ou table de Mac Grady.....	Annexe III
<b>Tableau VIII :</b> Caractères biochimiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	25
<b>Tableau IX :</b> Table de lecture de la galerie miniaturisée API 20 <sup>E</sup> .....	Annexe III
<b>Tableau X :</b> Noms, abréviations et charge des disques d'antibiotiques utilisés .....	Annexe III
<b>Tableau XI :</b> Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les Entérobactéries .....	Annexe III
<b>Tableau XII :</b> Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	Annexe III
<b>Tableau XIII :</b> Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Vibrio cholerae</i> .....	Annexe III
<b>Tableau XIV :</b> Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Streptococcus sp.</i> .....	Annexe III
<b>Tableau XV :</b> Les résultats du test de chlore résiduel.....	31
<b>Tableau XVI :</b> Résultats d'analyse bactériologique de l'Hôpital FRANTZ FANON.....	32

<b>Tableau XVII</b> : Résultats d'analyse bactériologique de la clinique d'hémodialyse SIDI ABDEL KADER.....	33
<b>Tableau XVIII</b> : Résultats d'analyse bactériologique de la clinique LILIA.....	34
<b>Tableau XIX</b> : Résultats d'analyse bactériologique de la clinique IFRADJ.....	35
<b>Tableau XX</b> : Résultats De la recherche des Coliformes totaux et fécaux et Streptocoques fécaux.....	36
<b>Tableau XXI</b> : Distribution des souches bactériennes isolées.....	40
<b>Tableau XXII</b> : Profil de résistance de toutes les souches isolées .....	Annexe III
<b>Tableau XXIII</b> : Tableau indiquant le passage dans les différentes stations d'hémodialyse .....	Annexe III

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma du principe d'épuration du sang par hémodialyse.....	4
<b>Figure 2</b> : Schéma des principales étapes de traitement de l'eau pour hémodialyse..	10
<b>Figure 3</b> : Un disconnecteur .....	Annexe II
<b>Figure 4</b> : Filtre à sable .....	Annexe II
<b>Figure 5</b> : Filtre à charbon .....	Annexe II
<b>Figure 6</b> : Adoucisseurs .....	Annexe II
<b>Figure 7</b> : Testomat.....	Annexe II
<b>Figure 8</b> : Osmose inverse.....	Annexe II
<b>Figure 9</b> : Robinet de la station.....	Annexe II
<b>Figure 10</b> : Station de traitement d'eau pour hémodialyse de la clinique IFRADJ.....	Annexe II
<b>Figure 11</b> : Schéma de modélisation d'une boucle.....	Annexe II
<b>Figure 12</b> : Test de chlore résiduel (cas positif) .....	Annexe II
<b>Figure 13</b> : Recherche des coliformes totaux par la méthode de NPP sur le milieu BCPL.....	Annexe II
<b>Figure 14</b> : Dénombrement des coliformes totaux par la méthode de NPP sur le milieu BCPL.....	Annexe II
<b>Figure 15</b> : Recherche des Coliformes fécaux par la méthode de NPP sur milieu Schubert.....	Annexe II
<b>Figure 16</b> : Dénombrement des coliformes fécaux par la méthode de NPP sur le milieu Schubert et recherche d' <i>Escherichia coli</i> .....	Annexe II
<b>Figure 17</b> : Recherche des streptocoques fécaux par la méthode de NPP sur milieu Roth.....	Annexe II

<b>Figure 18</b> : Dénombrement des Streptocoques fécaux par la méthode de NPP sur le milieu Eva Litsky.....	Annexe II
<b>Figure 19</b> : Recherche des Salmonelles.....	Annexe II
<b>Figure 20</b> : Recherche des bactéries du genre <i>Pseudomonas</i> .....	32
<b>Figure 21</b> : Recherches des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	Annexe II
<b>Figure 22</b> : Recherche des Clostridium sulfito-réducteur.....	Annexe II
<b>Figure 23</b> : Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur.....	Annexe II
<b>Figure 24</b> : Recherches des <i>Vibrions cholériques</i> .....	Annexe II
<b>Figure 25</b> : Exemple de résultat du test de fermentation des sucres TSI.....	28
<b>Figure 26</b> : Inoculation de la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie API 20 <sup>E</sup> .....	29
<b>Figure 27</b> : Logiciel d'identification par galerie API 20 <sup>E</sup> .....	Annexe II
<b>Figure 28</b> : Application des disques des antibiotiques.....	Annexe II
<b>Figure 29</b> : Mesure des diamètres des zones d'inhibition.....	30
<b>Figure 30</b> : Feuille de résultats de contrôle bactériologique.....	Annexe II
<b>Figure 31</b> : Répartition de l'ensemble des familles et leur taux d'isolement.....	41

## Références bibliographiques

### A

**ALAIN.P.**, 2000 : Les médicaments, troisième édition CdM, France. P : 500.

**ALAIN.K, KOURILSKY.O, NOELLE-PERALD.M.**, 1997-2001: Néphrologie et troubles hydro-électrolytiques. Edition Masson, Paris. P : 394.

**ALHAJ.N, MARIANAL.N.S, RAHA.A.R, ISHAK.R.**, 2007: Prevalence of antibiotic resistance among *Echerichia coli* from different sources in Malayzia. International Journal of Poultry Science. P: 293, 297.

**ANDREW.M, MAINARDI.JL.**, 2003 : La revue du praticien : Que doit-on connaître de la microbiologie pour prescrire un antibiotique ?. P : 51.

**ANGLARET.X, MORTIER.E.**, 2003 : Maladies infectieuses. Edition ESTEM, Paris. P : 263.

**ARVANITIDOU.M, SPAIA.S, KATSINAS.C.**, 1998: Microbiological quality of water and dialysate in all haemodialysis centres of Greece. Nephrol. Dial. Transplant. P : 949-954.

**AVRIL.JL, DUBERNAT.H, DENIS.F, MONTEIL.H.**, 2000 : Bactériologie clinique. Troisième édition Ellipses marketing S.A, Paris. P : 171,229.

### B

**BADAL.RE, BOUCHILLON.KS, LOB.SH, HACKEL.MA, HAWSER.S, HOBAN.DJ.**, 2013 : Etiology, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase rates, and antimicrobial susceptibility of Gram negative bacilli causing intra-abdominal infection in patients in general pediatric and pediatric intensive care union- Global data from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART). 2008-2010. Pediatr Infect Dis J.

**BARNOUX.M.C .**, 1997 : Contrôle de l'eau pour l'hémodialyse : Guide de méthodologie. Première édition.

**BARON.R, LAROUZIERE.S, DUMARTIN.C.,** 2005 : Bonnes pratiques d'hygiène en hémodialyse. P : 114,153.

**BOUDZALIF, METAHRI.O.,** 2009 : Le contrôle bactériologique des eaux destinées à l'hémodialyse. P : 13,28.

**BOUNAAS.I, MEDDOUR.Y.,** 2005 : Etude cyto-bactériologique des divers prélèvements, Hôpital de Koléa. P : 71, 73.

**BOURGEOIS, LEVEAU.,** 1991 : Techniques de contrôle dans les industries agroalimentaires : Le contrôle microbiologique. Edition Lavoisier, Paris. P : 497.

**BOURGEOIS.M, MUSCLE.JF, ZUCCA.,** 1996 : Microbiologie alimentaire, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1, édition TEC et DOC. P : 672.

**BOON.P.I, CATTANACH.M.,** 1999 : Antibiotic resistance of native and fecal bacteria isolated from rivers, reservoir and sewage treatment facilities in Victoria, south eastern Australia. Lett Appl Microbial. P : 8, 164.

**BRYSKIER.A.,** 1999 : Antibiotiques agents antibactériens et anti-fongiques. Edition Marketing chez Ellipses. P : 2116.

## C

**CANAUD.B, LERAY.H.,** 2006 : Conduite de l'hémodialyse et prévention de ces complications. P : 02.

**CARBONELLE.B, DENIS.F, MARMONIER.A et al.,** 1987 : Bactériologie médicale : Techniques usuelles. SIMEP S.A, Paris. P : 121, 137.

**CECILE.L, DEJEAN.A.,** 2002 : Auto dialyse. P : 68.

**CHAUDHURI.BN et al.,** 2011 : Incidence of ESBL, producers among Gram négative bacilli isolated from intra abdominal infections across India (based on SMART study, 2007 data). J.Asooc Physicians India. P : 287, 292.

**CHEN.YT, LAUDERDALE.TL, LIAO.TL, SHIAU.YR, SHU.HY, WU.KM, YAN.JJ, TSAIL.SF.,** 2007 : Sequencing and comparative genomic analysis of Pk29, a 269-Kilobase conjugative plasmid encoding CMY-8 and CTX-M-3  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* antimicrobial agents and chemotherapy. P : 3004-3007.

**CHEKHCHOUKH.S, BEN ABDI.K.,** 2012 : Analyse de la qualité bactériologique des eaux destinées à l'hémodialyse au niveau de la wilaya de Médéa.

**CHOPRA.I, ROBERT.M.,** 2001 : Tetracyclin antibiotics: mode of infection, application, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. Microbiology and Molecular biology Reviews. P: 65, 232, 260.

**CLERMONT.F.,** 2003 : Néphrologie. Edition Masson, Paris. P : 369.

**COURVALIN.P.,** 2004: Données récentes sur la résistance bactériennes aux antibiotiques. Les maladies infectieuses émergentes. P : 29.

**COUSIN.P.,** 1999 : Rapport de stage : Traitement d'eau en hémodialyse. P : 42, 59.

## **D**

**DAHRI.S.,** 2012 : L'eau en hémodialyse. P : 10, 31, 32, 42, 46.

**DELARRAS.C, BERNARD.T.,** 2006 : Surveillance sanitaires et microbiologique des eaux. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris. P : 67, 106, 108.

**DELARRAS.C, BERNARD.T, JOELLE.D.,** 2010 : Surveillance sanitaires et microbiologique des eaux. Deuxième édition TEC et DOC, Lavoisier, Paris. P : 135, 151, 268, 283, 359, 417.

**DENISE.M, MCKEONT.T, KALABRESE.J.P, BISSONNETTE.K.J.,** 1995 : Antibiotic resistant Gram-Negative bacteria in rural groundwater supplies. War.Res. P: 190, 1902.

**DOREZ.D, SOULE.H.,** 2009 : L'eau de dialyse en réanimation. P : 408.

**DUFOR.D, FRANTIN.B.,** 2003 : Prescription et surveillance des antibiotiques, la revue de praticien.

**DURANTE.M, FALKOWS.S, ROSENBERG.F, SCHLEIFER.KH, STACKEBRANDT.F.**, 2009 : The prokaryotes. Troisième édition, Volume 6 (Proteobacteria gamma subclass). Springer-verlag, New york.

## E

**ELIANE.B.**, 2005 : Urologie-Néphrologie. P : 161.

**EL YEMLAHL.**, 2005 : Gestion des risques dans le centre d'hémodialyse.

**EL BAKKOURI.J, BELABBES.H, ZEROUALI.K, BELAICHE.A, MESSAOUIDI.D, CROSS CLAUDE.J, EL MADAGHRI.N.**, 2009 : Résistance aux antibiotiques d'Escherichia coli. Uropathogène communautaire et consommation d'antibiotiques à Casablanca, Maroc. European Journal of Scientific Research. P : 05, 49.

**EYQUEM.A, MONTAGNIER.L, ALOUF.I.**, 2000 : Traité de microbiologie clinique. Deuxième mise à jour et complément. Piccin Nouva Libraria S.P.A, Padoue, Italie. P : 77.

## F

**Favero.M.S, Petersen.N.J, Carson.L.A, Bond.W.W, Hindman.S.H.**, 1975: Gram-negative bacteria in hemodialysis systems. Health Laboratory Science. P: 321–334.

**FERON.A.**, 1989 : Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. La madelaine. C et R. P : 375.

**FRENKIAN.G, RAGON.A, DONADEY.A.**, 1996: Importance de la qualité de l'eau dans le traitement par hémodialyse de l'insuffisance rénale chronique. RBM. P : 08-25.

## G

**GABRIEL.R.**, 1988 : Néphrologie. P : 399.

**GANGOUE PIEBOJL.J.**, 2007 : Caractérisation des  $\beta$ -lactamases et leur inhibition par les extraits des plantes médicinales. Centre d'ingénierie des protéines. Université de Liège. Thèse de doctorat. P : 01, 27, 284, 289.

**GAUDY.C, BUXERAUD.J.**, 2005 : Antibiotiques : Pharmacology et thérapeutique. Edition Elsevier, Paris. P : 269.

**GIDEON.O.A, EGENONU.E.**, 2008 : The current pollution status of the new Calabar river in the Niger delta region of southern Nigeria : a survey of antibiogram profiles of its bacterial isolates. African Journal of Environmental Science and Technology. P : 134, 141.

**GUIGAZ.M, TISSOT, GUERRAZ.F.**, 1995 : L'eau dans les établissements de santé. P : 152.

**GUIRAUD.JP, ROSEC.JP.**, 2004 : Pratique des normes en microbiologies alimentaire. Edition TEC et Québec Griffon d'argile. P : 768.

**GRAHAM.LP.**, 2002 : Chimie pharmaceutique. Boeck université, Paris. P : 379.

## **H**

**HASSENBEY, SOUM.**, 2007 : Etude cyto bactériologique des prélèvements.

**HUBERT.M.**, 2010 : Traitement d'eau par Catherine Bossard dans l'association des techniciens de dialyse.

## **J**

**JABER.BL.**, 2005 : Bacterial infection in hemodialysis patients: Pathogenesis and prevention. P: 67.

**JACQUES.B, ALAIN A-C, CHRISTIAN DE DUVE.**, 2007 : Dictionnaire de Biologie. Ed Boeck, Bruxelles.

**JEHL.F, CHOMARAT.M, WEBER.M, GERARD.A.**, 2003 : De l'antibiogramme à prescription. Biomérieux 5a6928 Marcy L'ITOILE, France.

**JOLY.D.**, 2006: Uro-néphrologie ENC.

**JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE.** Arrêté interministériel N°35 du 27 mai 1998 relatif aux spécifications microbiologiques des eaux de distribution traitées.

## K

**KADA.B.**, 2008 : Traitement de l'eau en hémodialyse. P: 07, 13, 44.

## L

**LARPENT.JP.**, 2000 : Introduction à la nouvelle classification bactérienne : Les principaux groupes bactériens. Edition TEC et DOC, Paris.

**LEBRES.**, 2009 : Pseudomonas, Institut Pasteur, Alger.

**LEBRES.**, 2009 : les vibrionaceae, Institut Pasteur, Alger.

**LEBRES.**, 2009 : les salmonelles, Institut Pasteur, Alger.

**LEBRES.**, 2009 : Enterocoques et streptocoques, Institut Pasteur, Alger.

**LEBRES.**, 2009 : Microbiologie des eaux ,des boissons et des produits de la mer, Institut Pasteur, Alger

**LECLERC.**, 1977 : Microbiologie appliquée. Edition Doin, Paris. P : 228.

**LIGHTFOOT.NF, MAIER.EA.**, 2002 : Analyse microbiologique des aliments et de l'eau directives pour l'assurance qualité. Edition scientifique institut Pasteur. P : 200.

**LINDHOLM.B, YAO.Q, STENVINKEL.P.**, 2004: Inflammation as a cause of malnutrition artherosclerotic cardiovascular disease and poor outcome in hemodialysis patients. P: 08, 118.

**LI.XZ, NIKAIDO.H.**, 2004 : Efflux mediated drug resistance in bacteria drugs. P : 159, 204.

**LUSAMVUKY.A, HERMELIN-JOBET.I, BOUDAR.B, LEBAS.J, BRACQUEMONT.MC.**, 1999: Article de production de l'eau pour hémodialyse, validation et démarche pour un fonctionnement en assurance qualité.

## M

**MALHIEM.NC, VAUR.M.**, 2002 : L'eau ultra pure : Obtention et application. P : 17.

**MARCEL.G, VALERY.D, JEAN.D, THERESE.D.**, 2006: Dictionnaire illustré des termes de médecine. Ed Maloine, Paris.

**MERVET.A, ABO-STATE.H, MAHDY.M, SAFAA.M, EZZAT.E, ABD EL SHAKOUR.H, MOSTAFA EL-BAHNASAWY.M.A.,** 2012 : Antimicrobial resistance profile of Enterobacteriaceae isolated from Rosetta branch of river Nile, Egypt world Applied sciences Journal. P: 1234, 1243.

**MONTANARI.,** 2009 : Microbiological contamination of a hemodialysis center water distribution system. P : 01-02.

## N

**NAUCIEL.C, VILDE.JL.,** 2005: Bactériologie médicale: Connaissance et pratiques. Deuxième édition Masson.

## O

**OWEN.W, LOWRIE.E.,** 1998 : C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. P: 54, 627.

## P

**POONIA.S, SHANTIKUMAR.S, SINGH.T, DECHEN.C.T.,** 2014 : Antibiotic susceptibility profile of bacteria isolated from natural source of water from rural area of east Sikkim. J community Med, India. P : 156, 160.

## Q

**QUENEAU.P.,** 1999: Thérapeutique. Edition Sipe Bames les dunes, Paris. P : 175-185.

## R

**RAGNON.A.,** 2004 : L'eau et la santé dans les établissements des soins. P : 38, 52, 57.

**ROBERT.R, LAMIERE.N.,** 2003 : Insuffisance rénale aigue. Edition Elsevien SAS, France. P : 386.

**RODIER.J.,** 1984 : Les analyses des eaux : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Edition DUNOD. P : 1338.

**RODIER.J, BAZIN.C, BROUTIN.JP, CHAMPSAUR.H, RODI.L.,** 1996 : Analyse des eaux : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Huitième édition DUNOD. P : 668, 780.

**RODIER.J, BAZIN.C, BROUTIN.JP, CHAMBON.P, CHAMPSAUR.H.,** 2005 : L'analyse de l'eau. Huitième édition DUNOD. P : 1384.

**RODRIGUEZ-VILLALOBOS.H, STRUCLENS.MJ.,** 2006 : Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases à spectre étendu : Implication pour réanimateur. Réanimation. P : 205, 213.

**ROUSSEL-DELVALEZ.M.,** 2001 : Bactériologie multi-résistante : Doit-on rester optimiste ?. Feuille de biologie. P : 42, 238.

**ROUX.M.,** 1987 : Analyse biologique de l'eau.

## S

**SAMIE.A, MAKONTO.T.E, ODIYO.T, OUABOI.P.O, MOJAPELO.P, BESSONG.P.O.,** 2011 : Microbial quality, diversity and antibiotic susceptibility profile of bacteria isolates from Borehole water used by schools in Grater Giyani Municipality. African Journal of Microbiology, Mopani district, south Africa. P : 198, 210.

**SCHAECHTER.,** 1999 : Microbiologie et pathologies infectieuses. Edition TEC et DOC. P : 179-199.

**SERVAIS.P, DUCHATEAU.S, REIS.S.,** 2006 : Evaluation de la résistance aux antibiotiques des bactéries *Escherichia coli* dans les eaux du bassin de la seine. Ecologie des systèmes aquatiques. Université Libre, Bruxelles. P : 08.

**SIMON.P.,** 1996-1999 : Dialyse rénale. Edition Masson, Paris. P : 127.

**SINGLETON.P.,** 1994-1999 : Bactériologie. Quatrième édition. P : 415, 420.

**Société Française d'Hygiène Hospitalière.,** 2005 : Bonnes pratiques d'hygiène en hémodialyse. Volume XIII. P : 02.

**SOUDE.S.G.A.A.,** 2005 : Bactéries isolées des hémocultures au laboratoire du centre national hospitalier et universitaire, Hubert Koutoukou Maga De Cotonion. Thèse

pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie diplôme d'état, Université de Bamako, faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, Mali.

**STORA.D.**, 2008 : La pharmacie et surveillance infirmière. Edition Lamarre, France.  
P : 218.

## **T**

**TOROGLU.S, DENCER.S, KORKMAZ.H.**, 2005: Antibiotic resistance in Gram negative bacteria isolated from Aksu river in (Kahramanmaras). Annals of Microbiology, Turkey. P: 229, 233.

## **Y**

**YALA.D, MERED.AS, MOHAMEDI.D, OUAR.K.**, 2001. P: 05, 12.

## INTRODUCTION

A l'état naturel, rares sont les eaux qui sont consommables immédiatement. Pour les rendre potable, un traitement bactériologique et physico-chimique est mis en œuvre. L'eau ainsi produite doit être conforme aux normes définies par le code de la santé publique sous la monographie « eau destinée à la consommation humaine » (Boudzali et Metahri, 2009).

« L'eau, c'est la vie » ; cette affirmation prend un sens tout particulier dans les hôpitaux et les établissements de santé où ce fluide est un élément essentiel pour leur fonctionnement. En hémodialyse, l'eau constitue la matière première, le support d'échange, indispensable à chaque séance de dialyse participant à l'épuration du sang du patient lors de son traitement. Elle compose à 97% le dialysat et constitue un élément essentiel de l'efficacité et de la biocompatibilité de cette thérapeutique. La distribution d'une eau de bonne qualité sera donc nécessaire en permanence ; les patients sont fragiles et la flore microbienne dans l'eau peut être le vecteur représente pour eux un risque potentiel (Dorez, 2009).

En fait, Les patients atteints d'insuffisance rénale chronique souffrent d'anomalies du système immunitaire, comme une conséquence directe de l'urémie et de ses conséquences métaboliques, ce qui les rend plus sensibles aux infections (Jaber, 2005). Chaque patient dialysé est exposée à entre 18 000 et 36 000 litres d'eau par an, à partir de laquelle, si elle n'a pas été traitée correctement, divers contaminants bactériens et toxiques peuvent être transférée aux patients (Montanari et *al*, 2009).

De nombreuses épidémies imputables aux procédures inadéquates de traitement de l'eau de dialyse ont été reportées. Les bactéries présentes dans l'eau et pouvant être à la source d'une infection sont essentiellement des bacilles Gram négatif et plus rarement les mycobactéries non tuberculeuses (Société Française d'Hygiène Hospitalière, 2005). Ces bactéries utilisent la solution de dialyse en tant que source de nutriments pour la croissance (Montanari et *al*, 2009).

Pour satisfaire aux dispositions proposées par la Pharmacopée européenne, l'eau doit subir un traitement spécifique, même si elle provient d'un réseau de distribution publique et des contrôles périodiques de l'eau devront être effectués. C'est dans ce contexte qu'une grande partie de notre travail s'est focalisée.

L'objectif de cette étude consiste à évaluer les paramètres microbiologiques reflétant la qualité des eaux destinées à l'hémodialyse, en isolant et en identifiant les bactéries présentes dans cette eau et en déterminant leur profil d'antibio-résistance.

## **Chapitre II : MATERIEL ET METHODES**

Notre travail a été réalisé durant la période s'étalant du mois de Février jusqu'au mois de Mai 2016 au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida. Il porte sur le contrôle bactériologique de l'eau provenant des réseaux de distribution destinée à l'hémodialyse de quelques centres d'hémodialyse privés et publiques situés dans la wilaya de Blida, ces centres sont :

-L'hôpital de FRANTZ FANON.

-Clinique d'hémodialyse de SIDI ABDEL KADER.

-Clinique LILIA.

-Clinique IFRADJ.

### **II-1 Matériel :**

#### **II-1-1 Matériel biologique :**

Les souches isolées des échantillons d'eau destinées à l'hémodialyse appartenant aux différentes familles.

#### **II-1-2 Matériel non biologique :**

L'échantillon non biologique est réparti en deux flacons de 250 ml d'eau traitée destinée à l'hémodialyse prélevée à partir de plusieurs unités d'hémodialyse en vue d'une analyse bactériologique.

L'ensemble du matériel non biologique utilisé est présenté dans l'annexe I.

### **II-2 Méthodes :**

#### **II-2-1 Techniques de prélèvement et transport :**

Nous avons effectué au total vingt huit (28) prélèvements pour l'analyse bactériologique des eaux à raison d'un prélèvement par 15 jours de chaque unité d'hémodialyse.

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques microbiologiques ou physico-chimiques,

donc il est bien évident qu'un prélèvement correct est indispensable à l'obtention des résultats analytiques significatifs (Rodier et *al*, 1996).

L'eau doit être prélevée dans des flacons stériles en verre de 250 ml avec toutes les précautions possibles, pour cela plusieurs conditions s'imposent :

-Stériliser par un flambage le robinet et laisser l'eau couler de 2 à 3 minutes, puisque les robinets peuvent être facilement contaminés par l'environnement et les parties internes risquent d'être infectés par la croissance des microorganismes sous forme d'un biofilm (Ligntfoot et Maier, 2002).

-Flamber rapidement le bord du goulot, remplir presque entièrement le flacon, flamber à nouveau le bord du goulot et mettre le bouchon.

-Les flacons doivent être étiquetés, il faut inscrire sur l'étiquette les indications nécessaires à l'identification du prélèvement :

- L'origine de l'eau.
- Lieu de prélèvement.
- La date et l'heure du prélèvement.

-Les échantillons sont transportés dans des glacières pour une température comprise entre 4 et 6°C. L'analyse bactériologique doit débuter dans un délai maximum de huit heures après le recueil de l'échantillon (Roux, 1987).

### **II-2-2 Test de chlore résiduel :**

Un dosage de taux de chlore total sur l'eau osmosée doit être réalisé avant chaque série de séance de dialyse, le taux doit être inférieur à 0,1 mg/l. Si le taux de chlore est compris entre 0,1 mg/l et 0,2 mg/l, des dispositions sont à prendre pour surveiller ce taux et pour l'abaisser. Si le taux de chlore est supérieur à 0,2 mg/l, les séances de dialyse sont suspendues à cause du risque accru d'hémolyse chez le patient ainsi que le risque de détérioration des membranes des osmoses (Kada, 2008).

Ce test c'est le seul test physico-chimique qui s'effectue au niveau de laboratoire d'hygiène par la méthode à la Diéthyl-p-phénylènediamine (DPD).

#### **❖ Technique :**

-Prendre un tube stérile, ajouter une quantité déterminée d'eau à analyser (presque 5 à 10 ml).

-Ajouter un comprimé de DPD et bien mélanger le contenu du tube pendant 2 minutes.

-En présence de chlore, le DPD donne à pH entre 6,2-6,5 une coloration rouge-rosâtre (Rodier, 1984) (**Voir Figure 12, Annexe II**).

### **II-2-3 Analyses bactériologiques :**

L'analyse bactériologique de l'eau destinée à l'hémodialyse consiste à :

-La recherche et le dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécale (Coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux).

-La recherche de certaines bactéries pathogènes (*Clostridium sulfito-réducteur*, *Pseudomonas aeruginosa*, Salmonelles et Vibrions cholériques).

-Apprécier la qualité bactériologique de l'eau.

Au cours de notre étude, nous avons utilisé la méthode de NPP de Mac Grady (Nombre le Plus Probable) pour analyser nos échantillons. Cette méthode d'analyse est préconisée par l'association française de normalisation (AFNOR) et par l'organisation mondiale de la santé (OMS).

#### **II-2-3-1 Recherche et dénombrement des coliformes (la colimétrie) :**

La colimétrie désigne les méthodes bactériologiques permettant de rechercher et de dénombrer les coliformes dans un échantillon d'eau. La colimétrie peut se faire en milieu liquide sur BCPL par la technique de NPP **Voir tableau VII, annexe III**).

#### **La technique en milieu liquide sur BCPL (Figure 13 et 14, Annexe II) :**

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs :

- Test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- Test de confirmation ou test de Mac Kenzie : réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

#### **A-Test de présomption :**

**-Technique :** A partir de l'eau à analyser, apporter aseptiquement :

-50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL (D/C) muni d'une cloche de Durham.

-5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL (D/C) muni d'une cloche de Durham.

-5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL (S/C) muni d'une cloche de Durham.

-Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham, dévissez un peu le bouchon des tubes et bien mélangez le milieu et l'inoculum.

**-Incubation :** à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**-Lecture :** Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

-Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).

-Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

-La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de NPP (**Voir tableau VII, annexe III**).

### **B-Test de confirmation :**

Il est basé sur la recherche des coliformes thermo tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*. Les coliformes thermo tolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C. *Escherichia coli* est un coliforme thermo tolérant qui produit l'indole à partir du tryptophane à 44°C.

#### **-Technique:**

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage (1ml) dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham. Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangez le milieu et l'inoculum.

**-Incubation :** à 44°C pendant 24 heures.

**-Lecture :** Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

-Un dégagement gazeux.

-Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après avoir ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs (**Voir figure 15, Annexe II**).

La lecture finale se fait par les prescriptions de la table de NPP en tenant compte à la fois que *Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C (**Voir figure 16, Annexe II**).

### **II-2-3-2 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (Figure 17 et 18, Annexe II):**

Tout comme la méthode de recherche des coliformes en milieu liquide, cette méthode fait appel à deux tests consécutifs :

-Test de présomption.

-Test de confirmation : réservé à la conformation réelle des Streptocoques fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

**-Test de présomption :** A partir de l'eau à analyser, apporter aseptiquement :

-50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu ROTH (D/C).

-5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTH (D/C).

-5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTH (S/C).

Bien mélangez le milieu et l'inoculum.

**-Incubation :** à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**-Lecture :** Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien, ces derniers ne doivent en aucun cas faire l'objet d'un dénombrement mais doivent faire l'objet d'un repiquage sur milieu EVA LITSKY pour la confirmation.

**-Test de confirmation :** Il est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

**-Technique :** Les tubes de ROTH positifs feront l'objet d'un repiquage (1 ml) dans un tube de milieu EVA LITSKY. Bien mélangez le milieu et l'inoculum.

**-Incubation :** à 37°C pendant 24 heures.

**-Lecture :** Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

-Un trouble microbien.

-Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de NPP.

### **II-2-3-3 Recherche des salmonelles (Figure 19, Annexe II):**

#### **❖ Premier jour : Premier enrichissement**

A partir de l'eau à analyser, apporter aseptiquement :

-100 ml dans un flacon contenant 100 ml de milieu Sélénite-Cystéine (SFB) (D/C) par flacon et ajouter quelques gouttes de l'additif Sélénite de Sodium.

**-Incubation :** à 37°C pendant 18 à 24 heures.

#### **❖ Deuxième jour : Deuxième enrichissement et isolement**

Le bouillon Sélénite cystéiné incubé la veille fera l'objet :

-D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu Sélénite-Cystéine (SFB) en tube à raison de 1 ml.

-D'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoen.

**-Incubation :** à 37°C pendant 18 à 24 heures.

#### **❖ Troisième jour : Lecture des boîtes et identification:**

-D'une part, la boîte de gélose Hektoen fera l'objet d'une lecture en tenant compte du fait que les salmonelles se présentent le plus souvent sous forme des colonies de la couleur grise bleue à centre noir.

-D'autre part, prendre au hasard 4 colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une confirmation (une identification morphologique et biochimique) qui se déroule comme suite :

- Etat frais (bacilles, mobilité).
- Colorations de Gram (bacilles à Gram négatif).
- Ensemencement d'un tube Kligler (TSI) qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures (Lactose (-), Glucose (+), gaz (+) et H<sub>2</sub>S(+)).
- Ensemencement soit d'une galerie biochimique classique ou d'une galerie biochimique API 20<sup>E</sup>.

#### **II-2-3-4 Recherche des *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 21, Annexe II):**

On fait la mini galerie ou isolement sur milieu Cétrimide :

##### **1) Mini galerie :**

- **Culture sur KingA et KingB :**

Régénérer les 2 milieux et les incliner, puis on fait l'ensemencement sur la pente, le virage de couleur en vert due à la production de la pyocyanine et la pyoverdine par *Pseudomonas aeruginosa*.

**Remarque :** King A : correspond à la pyocyanine, King B : correspond à la pyoverdine.

- **Les acides aminés Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC) et Adénine déshydrogénase (ADH):**

-Réaliser une suspension bactérienne en eau physiologique.

-Verser les trois milieux (ODC, LDC, ADH) dans 3 tubes à essais stériles, puis ensemencer chacun des 3 tubes avec 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette pasteur.

- **Incubation :** à 37°C pendant 24 heures.
- **Lecture :**

Virage acide (jaune) : Négatif (-).

Virage alcalin (violet) : Positif (+), pour assurer qu'il y a eu effectivement une croissance dans le tube, le milieu doit être trouble.

- **Citrate de Simmons :**

Certaines bactéries sont capables d'utiliser l'ion citrique comme unique source de carbone. De telles bactéries sont après à cultiver sur des milieux synthétiques dont la seule source de carbone est constituée par le Citrate de Sodium. Cette croissance peut s'accompagner d'une libération d'ammoniaque d'où le plus souvent alcalinisation du milieu. L'un des milieux utilisés pour cette étude est celui au Citrate de Simmons.

- **Technique :** L'ensemencement sera fait par une strie longitudinale.
- **Incubation :** à 37°C pendant 24 heures.
- **Lecture :**

Citrate positif (+) : culture abondante avec bleuissement du milieu.

Citrate négatif (-) : Absence de culture et de virage de couleur, même après plusieurs jour d'incubation.

**Tableau VIII : Caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa***

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>LDC</b>	-
<b>ODC</b>	-
<b>ADH</b>	+
<b>Citrate de Simmons</b>	+
<b>King A</b>	+
<b>King B</b>	+

(Lebres, 2009)

## 2) Isolement sur milieu Cétrimide :

La gélose au cétrimide (Bromure de cetyl-triméthyl-ammonium) est un milieu sélectif qui permet l'isolement de des *Pseudomonas* notamment *Pseudomonas*

*aeruginosa*. Ce milieu proche du milieu King A qui favorise la production de pigments (pyocyanine) par *P.aeruginosa*.

- **Technique** : Ensemencer la surface du milieu par des stries serrées à partir d'une suspension.
- **Incubation** : à 37°C pendant 24 heures.
- **Lecture** : Colonies verdâtres = présence des *Pseudomonas aeruginosa*.

### II-2-3-5 Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur ou bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) (Figure 22 et 23, Annexe II):

-**Technique** : A partir de l'eau à analyser, apporter aseptiquement :

-4 fois 5 ml dans 4 différents tubes stériles, qui seront par la suite soumis à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.

-Après chauffage, refroidir immédiatement le tube sous l'eau de robinet (choc thermique).

-Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foie (VF), fondue puis refroidie à 45±1°C dans un bain d'eau additionner d'une ampoule d'Alun de Fer et d'une ampoule de Sulfite de Sodium.

-Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et l'introduction de l'oxygène.

- **Incubation** : à 37°C pendant 16, 24 à 48 heures.
- **Lecture** :

-La première lecture doit absolument être faite après 16 heures d'incubation car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse sera à refaire en utilisant des dilutions décimales de 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> voire même plus.

-La deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures.

-Dénombrer toute colonie noire d'un diamètre supérieur à 0,5 mm poussant en masse et rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser.

### **II-2-3-6 Recherche des vibrions cholériques (Figure 24, Annexe II):**

#### **❖ Premier jour : Premier enrichissement**

A partir de l'eau à analyser, apporter aseptiquement :

-225 ml dans un flacon du milieu Eau Peptonée Alcaline (EPA) 10 fois concentré réparti à raison de 25 ml par flacon.

- **Incubation** : à 37°C pendant 18 à 24 heures.

#### **❖ Deuxième jour : Deuxième enrichissement et isolement :**

Ce flacon fera l'objet :

-D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieux EPA en tube à raison de 1 ml.

-D'autre part, d'un isolement sur gélose GNAB (1).

- **Incubation** : à 37°C pendant 24 heures.

#### **❖ Troisième jour : Lecture des boîtes et deuxième isolement :**

-D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB (2).

-D'autre part, la boîte de gélose GNAB (1) subira une lecture en tenant compte du fait que les vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques.

Prendre au hasard 4 colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une confirmation (une identification morphologique et biochimique) qui se déroule comme suite :

-Oxydase (+)

-Coloration du Gram (BGN, forme incurvée)

-Etat frais (mobiles)

-KIA (culot jaune, pente rouge)

-LDC (+), ODC (+), ADH (-)

- **Test de fermentation des sucres: TSI (Triple Sugar Iron)**

Ce milieu permet d'étudier la fermentation de trois sucres (Glucose, Lactose, Saccharose), d'apprécier la production ou non de H<sub>2</sub>S et de noter la production ou non du gaz à partir du glucose.

- **Technique** : Elle consiste à ensemencer en stries serrées la pente de la gélose puis par piqure centrale le culot.

- **Incubation** : à 37°C pendant 18h.

- **Lecture** :

a) Lecture au niveau du culot (glucose et gaz) :

-La fermentation du glucose se traduit par le virage au jaune.

-La production du gaz se traduit par la formation ou non des bulles de gaz dans la masse ou détachement du milieu.

b) Lecture de pente (lactose, saccharose) :

-La fermentation du lactose et/ou du saccharose se traduit par le virage au jaune de masse.

c) Lecture de H<sub>2</sub>S :

-La production de H<sub>2</sub>S se traduit par un noircissement du milieu.



Lactose +
Saccharose +
Glucose +
Dégagement de gaz +
Production de H <sub>2</sub> S -

**Figure 25 : Exemple de résultat du test de fermentation des sucres TSI**

#### II-2-4 Galerie API 20<sup>E</sup> :

API 20<sup>E</sup> est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et certains bacilles à Gram négatif, à réalisation rapide et facile de 20 tests biochimiques miniaturisés déshydratés prêts à l'emploi.

- **Technique :** Les microtubes (contenant les substrats déshydratés) sont inoculés par une suspension bactérienne d'une densité convenable et les microtubes soulignés sont additionner de l'huile de vaseline.



**Figure 26 : Inoculation de la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie API 20E**

**-Incubation :** à 37°C pendant 24h.

**-Lecture :** La production des métabolites par les bactéries durant la période d'incubation se traduit par des changements des couleurs spontanés ou révélés par addition des réactifs (TDA, Kovacs, VPI, VPPII).

La lecture est réalisée à l'aide d'un tableau de lecture de résultats (**Voir tableau IX, annexe III**) et l'identification obtenue à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique ou à l'aide du logiciel d'identification Apiweb TM (Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres).

#### II-2-5 Antibiogramme :

L'antibiogramme standard ou les méthodes par diffusion sont les plus utilisées par les laboratoires cliniques, elles consistent à déposer des disques de papier buvard imprégnés de concentration déterminée d'antibiotique à la surface d'un milieu gélose

Muller Hinton. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (Soude, 2005).

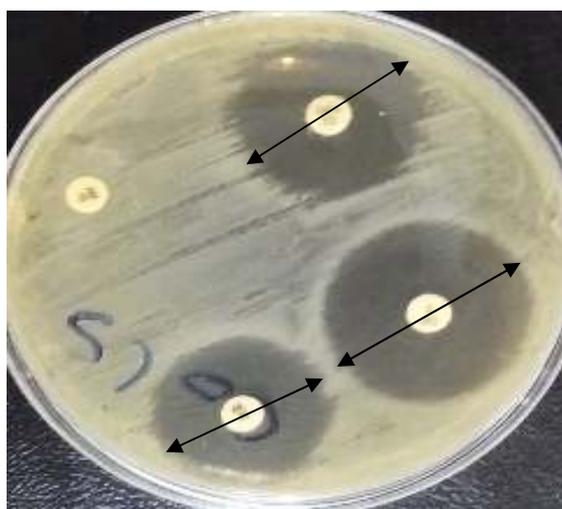
- **Technique :**

**-Préparation de l'inoculum :** A partir d'une culture pure (18 à 24h sur milieu non sélectif adapté aux exigences de la souche), préparer une suspension en eau physiologique équivalent au standard Mc Farland 0,5 ( $\approx 10^8$  UFC/cm<sup>2</sup>).

**-Ensemencement :** Avec un écouvillon essoré, ensemencer toute la surface de milieu en stries serrées (dans 3 orientations décalées 60°).

**-Application des disques :** Disposer les disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile (maximum 7 disques par boîte) (**Voir figure 28, Annexe II**) et laisser les boîtes 20 min à une température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique.

- **Incubation :** à 37°C pendant 24h.
- **Lecture :** Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition (**figure 29**), et comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans les tableaux (**Voir tableaux XI, XII, XIII et XIV, annexe III**) et Classer les bactéries dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistance.



**Figure 29 : Mesure des diamètres des zones d'inhibition**

## Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

Notre travail porte sur l'étude bactériologique de 28 échantillons d'eau destinée à l'hémodialyse, dont 07 échantillons pour chacune des 04 structures sanitaires (L'hôpital de Frantz Fanon, clinique d'hémodialyse de Sidi Abdel Kader, clinique Lilia et clinique Ifradj).

### III.1 Test de chlore résiduel :

Le Tableau XV représente la teneur en chlore résiduel présent dans l'eau de différentes stations d'hémodialyse. 25% des échantillons ont une valeur de 0,1 mg/l qui dépasse les normes.

**Tableau XV: Les résultats du test de chlore résiduel**

Site de travail	Test de chlore			
	Positif (0,1mg/l)	Pourcentage (%)	Négatif (0mg/l)	Pourcentage (%)
Hôpital FRANTZ FANON	2	28,57	5	71,42
Clinique d'hémodialyse SIDI ABDEL KADER	2	28,57	5	71,42
Clinique LILIA	2	28,57	5	71,42
Clinique IFRADJ	1	14,28	6	85,71
<b>Effectif total</b>	<b>7</b>	<b>25</b>	<b>21</b>	<b>75</b>

Selon la Pharmacopée Européenne (2007), le taux de chlore résiduel dans une eau traitée pour l'hémodialyse doit être inférieur à 0,1 mg/l. Notre étude réalisée dans 04 différentes structures sanitaires montre la présence du chlore résiduel dans 07 échantillons à une valeur de 0,1 mg/l qui est supérieur aux normes et son absence dans 21 échantillons (0 mg/l), ces derniers sont déclarés conformes.

Les structures sanitaires (FRANTZ FANON, SIDI ABDEL KADER et LILIA) présentent le même pourcentage de positivité (28,57%) sauf la clinique IFRADJ qui est représentée par un pourcentage inférieure (14,28%).

La chloration est utilisée pour éviter le développement des microorganismes dans le cas où l'eau de distribution publique connaîtrait des fluctuations chroniques ou passagères de

son taux de chlore. Un dosage de taux de chlore sur l'eau osmosée est fait avant chaque série de séances de dialyse (Cécile et Dejean, 2002).

Le chlore a un rôle important pour une bonne désinfection de l'eau potable pour obtenir une eau destinée à l'hémodialyse. La présence de chlore résiduel dans 25% des échantillons montre soit :

- Un défaut de filtre à charbon par saturation.
- Un sous dimensionnement des filtres.
- Un colmatage du filtre par apport de matière (boues) liées à des travaux sur le réseau.
- Ou l'inefficacité de la déchloration par le charbon actif.

Si le taux de chlore est inférieur à 0,1 mg/l dans l'eau osmosée, il n'y a pas de risque particulier. Si le taux de chlore est compris entre 0,1 mg/l et 0,2 mg/l des dispositions sont à prendre pour surveiller ce taux pour l'abaisser. Si le taux de chlore est supérieur à 0,2 mg/l les séances de dialyse sont suspendues à cause de risque accru d'hémolyse chez le patient ainsi que le risque de détérioration des membranes des osmose inverses (Kada, 2008).

### **III.2 Résultats de contrôle bactériologique :**

Les analyses bactériologiques que nous avons réalisées comportent une analyse quantitative qui consiste au dénombrement des germes (Coliformes totaux et fécaux et streptocoques fécaux) et une analyse qualitative qui consiste à la recherche des germes pathogènes (Salmonelles, *Pseudomonas aeruginosa*, clostridium et les vibrions cholériques).

Les résultats sont donnés en Unité Formant Colonie (UFC) par 100ml. L'interprétation des résultats des analyses de l'eau d'HD se base sur les niveaux exigés de chaque paramètre microbiologique décrit par la Norme correspondante [PHARMACOPÉE EUROPÉENNE].

#### **III.2.1 Résultats de contrôle bactériologique de l'Hôpital FRANTZ FANON**

Les résultats d'analyse bactériologique quantitative et qualitative de la structure sanitaire Hôpital FRANTZ FANON sont représentés dans le tableau XVI.

#### **Tableau XVI: Résultats d'analyse bactériologique de l'Hôpital FRANTZ FANON**

N° d'éch	Date	C.T (UFC)	C.F (UFC)	S.F (UFC)	S	P.a	ASR (sp/20ml)	V.C	Qualité
1	08/02/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
2	21/02/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
3	06/03/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
4	20/03/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
5	03/04/16	00	00	04	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
6	17/04/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
7	02/05/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>Normes</b>	-	<100	<10	<10	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB

**BQB** : Bonne Qualité Bactériologique

Tous les échantillons sont conformes aux normes tolérées par la PE et l'OMS. Nous avons noté l'absence totale des coliformes totaux et coliformes fécaux dans 100% des échantillons et la présence des streptocoques fécaux dans un seul échantillon avec un taux de 4g/100ml qui ne dépasse pas les normes et dernièrement l'absence des germes pathogènes dans la totalité des échantillons. Donc, les eaux de cette structure sanitaire étaient déclarées de bonne qualité bactériologique durant toute la période de notre étude.

### III.2.2 Résultats de contrôle bactériologique de la clinique d'hémodialyse SIDI ABDEL KADER

Le tableau XVII présente les résultats d'analyse bactériologique quantitative et qualitative de la structure sanitaire SIDI ABDEL KADER. L'analyse de l'eau d'HD de la clinique SIDI ABDEL KADER révèle une contamination par les streptocoques fécaux dans deux échantillons, dont un seul présente un taux qui dépasse les normes (43g/100ml), par les ASR dans un seul échantillon à raison de 02 spores/20ml et par les coliformes totaux dans plusieurs échantillon dont un seul (n=04) est supérieur à 240g/100ml. Les Salmonelles, *Pseudomonas aeruginosa*, les vibrions cholériques et les coliformes fécaux n'ont pas été détectés dans les échantillons des eaux analysés.

#### Tableau XVII: Résultats d'analyse bactériologique de la clinique d'hémodialyse SIDI ABDEL KADER

N° d'éch	Date	C.T (UFC)	C.F (UFC)	S.F (UFC)	S	P.a	ASR (sp/20ml)	V.C	Qualité
1	08/02/16	01	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
2	21/02/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
3	06/03/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
4	20/03/16	>240	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	<b>MQB</b>
5	03/04/16	43	00	43	Abs	Abs	Abs	Abs	<b>MQB</b>
6	17/04/16	21	00	00	Abs	Abs	2	Abs	<b>MQB</b>
7	02/05/16	07	00	04	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>Normes</b>	-	<100	<10	<10	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB

**MQB** : Mauvaise Qualité Bactériologique

Selon les résultats obtenus, 3/7 des prélèvements analysés dans cette structure ont été déclarés de mauvaise qualité bactériologique à cause, soit de la présence des germes indicateurs d'une pollution fécale avec des taux qui dépassent les normes, soit par la présence des clostridium qui font partie des germes pathogènes. La présence de ces derniers, peut être due à leur résistance au chlore utilisé dans la chaîne de traitement ou bien par l'inefficacité des traitements.

### III.2.3 Résultats de contrôle bactériologique de la clinique LILIA

L'analyse bactériologique des 07 échantillons prélevés de la clinique Lilia montre une contamination d'un seul échantillon (n=06) par les coliformes totaux et par des coliformes fécaux qui sont supérieurs à 240g/100ml. Les autres agents pathogènes n'ont pas été détectés (Tableau XVIII).

**Tableau XVIII: Résultats d'analyse bactériologique de la clinique LILIA**

N° d'éch	Date	C.T (UFC)	C.F (UFC)	S.F (UFC)	S	P.a	ASR (sp/20ml)	V.C	Qualité
1	08/02/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
2	21/02/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
3	06/03/16	02	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
4	20/03/16	01	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
5	03/04/16	01	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB

<b>6</b>	17/04/16	<b>&gt;240</b>	<b>&gt;240</b>	00	Abs	Abs	Abs	Abs	<b>MQB</b>
<b>7</b>	02/05/16	05	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>Normes</b>	-	<100	<10	<10	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB

A la lumière des résultats obtenus, un seul prélèvement analysé était déclaré de mauvaise qualité bactériologique à cause de la présence à la fois des Coliformes totaux et coliformes fécaux, cela ne peut être traduit que par l'inefficacité des traitements des eaux le jour de ce prélèvement qui peut être due à la détérioration des membranes des filtres ce qui permet le passage des contaminants.

### III.2.4 Résultats de contrôle bactériologique de la clinique IFRADJ

Les résultats présentés dans le tableau XIX montrent une contamination d'un seul échantillon d'eau d'HD par les coliformes totaux (>240g/100ml). En revanche, les autres bactéries pathogènes n'ont pas été détectées.

**Tableau XIX: Résultats d'analyse bactériologique de la clinique IFRADJ**

N° d'éch	Date	C.T (UFC)	C.F (UFC)	S.F (UFC)	S	P.a	ASR (sp/20ml)	V.C	Qualité
<b>1</b>	08/02/16	01	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>2</b>	21/02/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>3</b>	06/03/16	<b>&gt;240</b>	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	<b>MQB</b>
<b>4</b>	20/03/16	05	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>5</b>	03/04/16	04	01	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>6</b>	17/04/16	00	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>7</b>	02/05/16	04	00	00	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB
<b>Normes</b>	-	<100	<10	<10	Abs	Abs	Abs	Abs	BQB

Une non-conformité aux normes a été enregistrée dans un seul prélèvement, qui était déclaré de mauvaise qualité bactériologique à cause de la présence des coliformes totaux, cela ne peut être traduit que par l'inefficacité des traitements.

### III.2.5 Résultats de la recherche des Coliformes totaux et fécaux et Streptocoques fécaux

Le tableau ci-dessous (Tableau XX) résume l'ensemble des résultats d'analyse quantitative des 4 structures sanitaires étudiées. Si la valeur d'UFC est supérieure à 100 UFC pour les coliformes totaux et supérieur à 10 UFC pour les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux l'échantillon sera déclaré positif.

**Tableau XX: Résultats De la recherche des Coliformes totaux, Coliformes fécaux et des Streptocoques fécaux**

Site de travail	C.T			C.F			S.F		
	Positif (N)	Négatif (N)		Positif (N)	Négatif (N)		Positif (N)	Négatif (N)	
		NDN	Abs		NDN	Abs		NDN	Abs
<b>Hôpital FF</b>	00	00	07	00	00	07	00	01	06
<b>Pourcentage (%)</b>	00	00	100	00	00	100	00	14,28	85,71
<b>Clinique SAK</b>	<b>01</b>	04	02	00	00	07	<b>01</b>	01	05
<b>Pourcentage (%)</b>	14,28	57,14	28,57	00	00	100	14,28	14,28	71,42
<b>Clinique LILIA</b>	<b>01</b>	04	02	<b>01</b>	00	06	00	00	07
<b>Pourcentage (%)</b>	14,28	57,14	28,57	14,28	00	85,71	00	00	100
<b>Clinique IFRADJ</b>	<b>01</b>	04	02	00	01	06	00	00	07
<b>Pourcentage (%)</b>	14,28	57,14	28,57	00	14,28	85,71	00	00	100
<b>Effectif total des éch</b>	<b>03</b>	25		<b>01</b>	27		<b>01</b>	27	
<b>Pourcentage total(%)</b>	10,71	89,28		3,57	96,42		3,57	96,42	

**NDN** : Ne dépasse pas les normes    **Abs** : Absence totale    **N** : Effectif

Les résultats obtenus après l'analyse bactériologique quantitative de l'eau d'HD de 4 structures sanitaires sont assez diversifiés allant de l'absence totale des tous les germes à leurs présence avec des concentrations variables par rapport aux normes tolérées par la PE et l'OMS.

#### **A-Calcul du taux de non-conformité globale (NCG) :**

$NCG = \text{nombre total des échantillons non conformes} / \text{nombre total des échantillons} = 5/28 = 0.1785 (17.85\%)$

Les eaux destinées à l'hémodialyse prélevées de différentes structures sanitaires sont de bonne qualité bactériologique dans 23 échantillons prélevés (82,14%), alors que les 05 autres échantillons prélevés (17.85%) sont déclarés de mauvaise qualité bactériologique.

Notre étude montre une contamination de trois échantillons d'eau prélevés à partir de robinet d'hémodialyse (après traitement) par les coliformes totaux (>240g/100ml). Ces échantillons proviennent de différentes structures sanitaires ; la clinique d'hémodialyse SIDI ABDEL KADER, la clinique IFRADJ et la clinique LILIA. Un seul échantillon était contaminé par les coliformes fécaux, ce dernier provient de la clinique LILIA à raison d'un taux supérieur à 240g/100ml. La présence de ces germes dans l'eau d'HD est un indice de contamination qui peut être dû à :

- L'inefficacité des traitements des eaux de l'hémodialyse au niveau des filtres,
- Une prolifération bactérienne ou
- Une mauvaise manipulation lors des prélèvements ou par un manque d'hygiène (Kada, 2008).

Nos résultats montrent également que parmi les 03 échantillons positifs pour les coliformes totaux nous avons noté la présence des coliformes fécaux dans un seul échantillon, ce qui explique que les coliformes totaux sont plus résistants à la chloration et aux autres traitements (Singleton, 1999).

En général, la présence des coliformes totaux et fécaux révèle que le vieillissement des réseaux de distribution et de traitement est l'un des causes de contamination fécale primaire par l'accroissement des fuites ou par fixation des microorganismes sur les canalisations, ce qui conduit à la formations des biofilms qui sont des sources inépuisables des bactéries

relogées périodiquement dans les circuits d'eau, ce qui affecte la qualité bactériologique de ces eaux (Dorez, 2009).

Les résultats relatifs à la mise en évidence des streptocoques fécaux montre qu'un seul échantillon de la clinique de l'hémodialyse SIDI ABDEL KADER était contaminé (43g/100ml), alors que tous les autres prélèvements sont conformes à la Pharmacopée Européenne. L'absence de ces germes peut être expliquée par l'efficacité de traitement surtout par osmose inverse, ce dernier permet d'éliminer la totalité des germes pour l'obtention d'une eau osmosée (Cousin, 1999).

En général, les coliformes et les streptocoques fécaux ne sont pas dangereux de point de vue sanitaire puisqu'ils ne passent pas à travers les MSP de la dialyse donc il n'y a aucun risque de contact avec le sang de la personne dialysée mais leur prolifération au niveau des échangeurs d'ions provoque la perte ou bien la diminution de l'efficacité de cette échangeuse (Simon, 1999).

La résistance des Coliformes aux agents antiseptiques, et notamment au chlore et à ses dérivés est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est insaturé, ils constituent donc des indicateurs d'efficacité de traitement (Rodier, 1996).

Durant notre étude, il y a eu un seul échantillon de la clinique d'hémodialyse SIDI ABDEL KADER qui montre la présence des spores anaérobies sulfito-réducteurs avec un taux de 02spores/20ml. Les Clostridium sulfito-réducteur sont souvent considérés comme des témoins de pollution fécale, la forme spore est beaucoup plus résistante que les formes végétatives des CF et des SF, permettant ainsi de déceler une pollution fécale ancienne ou intermittente (Rodier, 1996).

Les résultats d'analyses indiquent que tous les prélèvements ne présentent aucune croissance des germes pathogènes suivants : Salmonelles, *Pseudomonas aeruginosa* et les vibrions cholériques, par conséquent ces échantillons seront déclarés conformes aux normes de la PE et l'OMS. L'absence de ces germes ne peut être expliquée que par l'efficacité de traitement que l'eau potable a subi pour obtenir une eau ultra pure destinée à l'hémodialyse.

Lorsque l'eau correcte après son traitement n'est plus conforme au stade de la mise à dispositions des machines de dialyse, il faut rechercher la cause de cette situation.

L'accroissement de la population bactérienne peut provenir soit du développement de celles existantes à l'entrée du réseau, soit de l'intrusion d'une flore extérieure, que ce soit par des interconnexions entre canalisation, par le mauvais entretien ou par l'altération des canalisations. La présence des germes considérés non plus comme des indicateurs, mais constituant, eux-mêmes une nuisance (Rodier, 1996).

Nos résultats ont été en grande partie similaires à ceux obtenus par plusieurs études concernant l'eau d'hémodialyse dans les structures sanitaires comme celle faite par Boudzali et Metahri (2009) qui ont évalué la qualité bactériologique des eaux d'hémodialyse de 25 échantillons et elles ont trouvé une absence des germes pathogènes (Salmonelles, *Pseudomonas aeruginosa* et les vibrions cholériques), en revanche, elles ont remarqué la présence des Clostridium au niveau d'un seul échantillon à raison d'un spore/20ml.

D'autres études, comme celle réalisées par Chekhchoukh et Ben Abdi (2012) a montré l'absence de la totalité des germes pathogènes, y compris les Clostridium et une autre étude réalisée par Dahri (2012) a révélé seulement la présence des *Pseudomonas aeruginosa* dans deux échantillons (avant et après traitement).

Par ailleurs, nous avons remarqué d'après les résultats obtenus que certains centres privés présentes des taux des germes très élevé dépassant ainsi les normes tolérées par la PE et l'OMS et des contaminations poly-microbiennes essentiellement indicateurs d'une pollution fécale contrairement au centre d'état (Hôpital FRANTZ FANON) qui présente une eau d'hémodialyse de bonne qualité bactériologique dépourvue de la plupart des germes pathogènes. Cela peut être dû aux facteurs économiques concernant les filtres et les membranes d'hémodialyse qui coutent très chers.

En général, notre étude montre que l'eau utilisée au niveau des centres d'hémodialyse pour la préparation de dialysat est de bonne qualité bactériologique à l'exception de quelques échantillons.

### **III.3 Résultats de contrôle de l'antibiorésistance :**

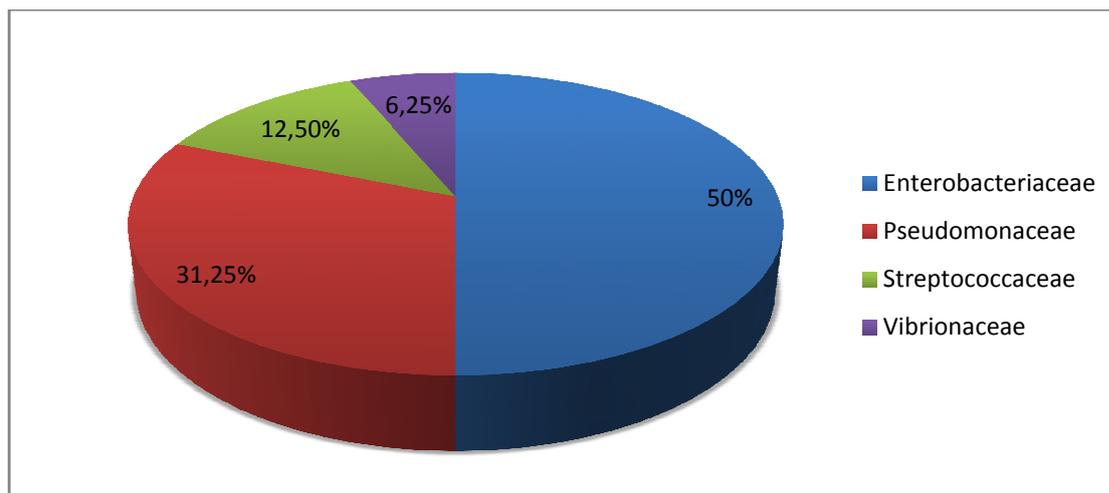
16 souches bactériennes ont été isolées à partir des échantillons d'eau analysés dont les bactéries à gram négatif sont les plus incriminées, dominées par les Enterobacteriaceae (Tableau XXI).

**Tableau XXI: Distribution des souches bactériennes isolées**

Famille d'ATB	Nombre des souches isolées	Les souches
<b>Enterobacteriaceae</b>	08	- <i>Citrobacter freundii</i> - <i>Citrobacter koseri/amalonicus</i> - <i>Serratia rubidaea</i> -2 <i>Enterobacter sakazakii</i> - <i>Leclercia adecarboxylata</i> - <i>Shigella spp</i> - <i>Escherichia coli</i>
<b>Pseudomonaceae</b>	05	- <i>Chryseomonas luteola</i> -2 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> -2 <i>Flavimonas horzihabitans</i>
<b>Streptococcaceae</b>	02	-Streptocoques groupe D
<b>Vibrionaceae</b>	01	- <i>Photobacterium damsela</i>

Selon Arvanitidou et *al* (1998) et Favero et *al* (1975), les bactéries à Gram négatives sont les principaux contaminants de l'eau associée à l'unité d'hémodialyse, ces bactéries peuvent se multiplier rapidement dans une variété de fluides dans les unités d'hémodialyse y compris l'eau distillée, osmosée, et même l'eau adoucie, qui sont normalement considérées dépourvues de nutriments mais ces bactéries utilisent la solution de dialyse ajoutée à l'eau en tant que source de nutriments pour la croissance.

Selon la figure 31, les Enterobacteriaceae occupent la première place avec un taux de 50% contre les Pseudomonaceae, les Streptococcaceae et les Vibrionaceae avec un taux de 31.25%, 12.50% et 6.25% respectivement.



**Figure 31: Répartition de l'ensemble des familles bactériennes selon leur taux d'isolement**

Pour toutes les souches nous n'avons pas calculé le taux de résistance car nous avons isolé au maximum 02 souches pour chaque Genre et nous n'avons pas utilisé les mêmes antibiotiques pour toutes les souches isolées.

### III.3.1 Antibiorésistance des souches d'Enterobacteriaceae isolées:

- *Citrobacter freundii*:

L'antibiorésistance de *Citrobacter freundii* a été étudiée vis-à-vis de 23 antibiotiques, cette bactérie présente 47,82 % de résistance contre tous les antibiotiques testés et 39,13% de sensibilité et 13,04 % des antibiotiques à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire.

Cette souche a montré une résistance importante vis-à-vis de la majorité des  $\beta$ -lactamines avec un taux global de 66,66% à l'Amoxicilline, Pénicilline G, Cefalexine, Oxacilline, Céfazoline, et l'Ampicilline à l'exception du Gentamycine et l'Imipénème et Piperacilline aux quelles elle était sensible avec un taux global de 33,33%.

Un taux de sensibilité de 100% aux aminosides (Tobramycine et Kanamycine, Amikacine) a été montré.

Pour les Phénicolés cette souche était sensible à Chloramphénicol.

Pour les tetracyclines cette souche était résistante à la Linomycine et sensible à la Tétracycline.

Un diamètre d'inhibition intermédiaire vis-à-vis les polypeptides représentés par la Colistine.

Pour la famille des quinolones, cette souche est sensible à la Norfloxacin et montre un diamètre d'inhibition intermédiaire à l'Ofloxacin.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était résistante.

Un diamètre d'inhibition intermédiaire vis-à-vis les Macrolides représentés par l'Erythromycine.

Nous avons noté une résistance à l'Acide fusidique, la Metronidazole et la Vancomycine.

- ***Citrobacter koseri/amalonicus***:

L'antibiorésistance de *Citrobacter koseri/amalonic* a été étudiée vis-à-vis de 22 antibiotiques, cette bactérie présente 59,09% de résistance contre tous les antibiotiques testés et 36,36% de sensibilité et un seul antibiotique à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire avec un taux de 4,54%.

Cette souche a montré une résistance importante vis-à-vis de la majorité des  $\beta$ -lactamines avec un taux global de 66,66% à l'Amoxicilline, Pénicilline G, Oxacilline, Amoxicilline+acide clavulanique, l'Ampicilline et au Céfazoline à l'exception du Gentamycine, Céfotaxime et l'Imipénème aux quelles elle était sensible avec un taux global de 33,33%.

Un taux de sensibilité de 100% aux aminosides (Tobramycine et Kanamycine) a été montré.

La famille des phénicolés représentée par un seul antibiotique, le chloramphénicol à qui cette souche est montrée résistante.

Pour les tetracyclines cette souche était résistante à Linomycine et à la Tetracycline.

Un diamètre d'inhibition intermédiaire vis-à-vis les polypeptides représentés par la Colistine.

La famille des Sulfamides et associations est représentée par un seul antibiotique (Trimethoprim+sulfaméthoxazole) à qui cette souche était sensible.

Pour la famille des quinolones, cette souche est sensible à la Norfloxacine et à l'Ofloxacine.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était résistante.

Nous avons noté une résistance à l'Acide fusidique, la Vancomycine, et la Metronidazole.

- ***Serratia rubidaea*:**

L'antibiorésistance de *Serratia rubidaea* a été étudiée vis-à-vis de 27 antibiotiques, cette bactérie présente 48.14% de résistance contre tous les antibiotiques testés et 44,44% de sensibilité et deux antibiotiques à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire avec un taux de 17,40%.

Pour la famille de  $\beta$ -lactamines un taux global de résistance de 54.54% à la Pénicilline, Amoxicilline, Oxacilline, Cefexime, Cefotaxime et streptomycine et 45,45% de sensibilité globale à Ceftriaxone, Imipénème, Pipéracilline, Aztréname et Gentamycine.

Pour la famille des aminosides, cette souche est sensible à la Tobramycine et montre un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Kanamycine.

La famille des phénicolés représentée par un seul antibiotique, le chloramphénicol qui est efficace contre cette souche.

Pour les tetracyclines cette souche était résistante à la Doxycycline et la Linomycine avec un taux global de 66,66% et sensible à la Pristanamycine avec un taux de 33,33%.

Pour la famille des Polypeptides, cette souche est résistante à la Bacitracine et montre un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Colistine.

La famille des quinolones est représentée par trois antibiotiques (Acide nalidixique, Norfloxacine et l'ofloxacine) à qui cette bactérie est 100% sensible.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était résistante.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) qui est efficace contre cette bactérie.

Nous avons noté une résistance à l'Acide fusidique, la Metronidazole et la Vancomycine.

- ***Enterobacter sakazakii***:

L'antibiorésistance des 02 souches d'*Enterobacter sakazakii* e ont été étudiée vis-à-vis de 33 antibiotiques, les 02 souches ont montré un profil de résistance identique avec 27,27% de résistance contre tous les antibiotiques testés et 45,45% de sensibilité et 27,27% à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire.

Cette souche a montré une sensibilité importante vis-à-vis de la majorité des  $\beta$ -lactamines avec un taux global de 64,28% à l'Ampicilline, Imipénème, Céfotaxime Aztréname, Cefixime, Ceftriaxome, Piperacilline, Streptomycine, Gentamycine à l'exception du Pénicilline G, Amoxicilline+acide clavulanique, Oxacilline et Céfazoline aux quelles elle était résistent avec un taux global de 28,57% et montre un diamètre d'inhibition intermédiaire à l'Amoxicilline avec un taux de 7,14%.

Pour la famille des aminosides, cette souche est sensible à la Tobramycine et à l'Amikacine et montre un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Kanamycine.

Le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés est efficace contre cette souche.

Pour les tetracyclines cette souche montre un taux de 50 % de résistance contre la Linomycine et Tetracycline et un taux de 25 % de sensibilité à la Pristanamycine et un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Doxycycline.

Pour la famille des Polypeptides, cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Colistine et à la Bacitracine.

La famille des Sulfamides et associations est représentée par un seul antibiotique (Trimethroprime+sulfamethoxazole ) à qui cette bactérie est sensible.

La famille des quinolones est représentée par trois antibiotiques (Acide nalidixique, Norfloxacin et l'ofloxacin) à qui cette bactérie montre un diamètre d'inhibition intermédiaire.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était résistante.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) qui est efficace contre cette bactérie.

Nous avons noté une résistance à l'Acide fusidique, la Metronidazole avec un taux global de 66,66% et un diamètre intermédiaire vis-à-vis la Vancomycine.

- ***Leclercia adecarboxylata* :**

L'antibiorésistance de *Leclercia adecarboxylata* a été étudiée vis-à-vis de 22 antibiotiques, cette bactérie présente un taux 27,27% de résistance et 54,54% de sensibilité et 18,18% à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire.

Cette souche a montré une sensibilité importante vis-à-vis de la majorité des  $\beta$ -lactamines avec un taux global de 70% à la Pénicilline G, l'Imipénème, Cefotaxime, Ceftriaxome, l'Aztréname, la Pipéracilline et Gentamycine à l'exception de l'Oxacilline à qui elle était résistante avec un taux de 10% et un taux de global de 20% des antibiotiques (l'Amoxicilline et la Streptomycine) à qui cette bactérie a montré un diamètre d'inhibition intermédiaire.

Le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés est efficace contre cette souche.

Pour les tetracyclines cette souche montre une sensibilité contre la Pristanamycine et un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Linomycine.

La Bacitracine représente la famille des Polypeptides à qui cette souche montre une résistance.

La famille des sulfamides est représentée par la Triméthoprim+sulfaméthoxazole à qui cette souche montre une résistance.

La famille des quinolones est représentée par deux antibiotiques (Acide nalidixique et l'ofloxacin) qui sont efficaces contre cette souche.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était résistante.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) qui est efficace contre cette bactérie.

Nous avons noté une résistance à l'Acide fusidique, la Metronidazole avec un taux global de 66,66% et un diamètre intermédiaire vis-à-vis la Vancomycine

- ***Shigella spp:***

L'antibiorésistance de *Shigella spp* a été étudiée vis-à-vis de 16 antibiotiques, cette bactérie présente un taux de résistance de 62,5% et un taux de sensibilité de 37,5%.

Pour la famille des  $\beta$ -lactamines, cette souche montre une résistance avec un taux global de 42,85% à l'Oxacilline, l'Ampicilline et l'Amoxicilline à l'exception de Pénicilline G, l'Imipénème, la Pipéracilline et la Gentamycine à qui elle était sensible avec un taux de 57,14%.

L'Amikacine représente la famille des aminosides qui est efficace contre cette souche.

La famille des phénicolés est représentée par le chloramphénicol à qui cette bactérie est montrée résistante.

Pour les tetracyclines cette souche montre une résistance à la Linomycine.

La famille des quinolones est représentée par l'antibiotique (Ofloxacin) qui est efficace contre cette souche.

La famille des lincosamides est représentée par clindamycine à qui cette souche est résistante.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) à qui cette souche est montrée résistante.

Nous avons noté une résistance globale de 100% vis-à-vis l'Acide fusidique, la Metronidazole et la Vancomycine.

- *Escherichia coli*:

L'antibiorésistance d'*Escherichia coli* a été étudiée vis-à-vis de 23 antibiotiques, cette bactérie présente un taux de résistance de 65,21% et un taux de sensibilité de 34,78%.

Cette souche a montré une résistance très élevée vis-à-vis de la majorité des  $\beta$ -lactamines avec un taux global de 70% à l'Amoxicilline, Pénicilline G, Oxacilline, Amoxicilline+acide clavulanique, l'Ampicilline, l'Imipénème et au Céfazoline à l'exception du Céfotaxime, Cefalexine et Gentamycine à quel cette souche est montré sensible, ces résultats concordent avec ceux de Eyquem et al (2000) qui a trouvé que que *E.coli* présente une sensibilité à la Gentamycine.

Pour la famille des aminosides, cette souche est sensible à la Tobramycine et à la Kanamycine.

Le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés est efficace contre cette souche.

Pour la Tetracycline cette souche est montrée résistante à la Tetracycline, Linomycine et la Pristanamycine.

La Colistine représente la famille des Polypeptides à qui cette souche montre une sensibilité.

La famille des sulfamides est représentée par la Trimethroprime+sulfamethoxazole à qui cette souche montre une résistance.

La famille des quinolones est représentée par l'antibiotique (Ofloxacin) qui est efficace contre cette souche, ces résultats concordent avec ceux trouvés par Eyquem et al (2000).

Pour la famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (clindamycine) à qui cette souche montre une résistance.

Nous avons noté une résistance globale de 100% vis-à-vis l'Acide fusidique, la Metronidazole et la Vancomycine.

Nos résultats ne concordent pas avec ceux de Servais et *al* (2006) qui disent qu'aucune souche d'*E.coli* n'est résistante à au moins 05 antibiotiques, dans notre étude la souche isolée était testée vis-à-vis 23 antibiotiques et elle a montré une résistance contre 15 antibiotiques.

D'après Feron 1989, *E.coli* de type sauvage est sensible à tous les antibiotiques actifs sur les BGN, malheureusement beaucoup des souches ont acquis des résistances, il s'agit en particulier des souches productrices de  $\beta$ -lactamase.

Toutes les souches d'*Enterobacteriaceae* étaient résistantes à 100% à la clindamycine, metronidazole et à l'acide fusidique. Nos résultats concernant la Clindamycine concordent avec ceux trouvés par Mervet et *al* (2012).

Il est noté que toutes les Entérobactéries sont résistantes au Clindamycines. Le principal mécanisme de résistance des bactéries aux Clindamycines est inductible, le plus souvent d'origine plasmidique, régulé par un système protéique (Carbonelle, 1987).

### III.3.2 Antibiorésistance des souches de *Pseudomonaceae* isolées:

- *Chryseomonas luteola* :

L'antibiorésistance de *Chryseomonas luteola* a été étudiée vis-à-vis de 19 antibiotiques, cette bactérie présente un taux de résistance de 47,36% et un taux de sensibilité de 36,84% et 15,78% à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire.

Cette souche a montré une résistance élevée vis-à-vis de la majorité des  $\beta$ -lactamines avec un taux global de 71,42% à la Pénicilline G, Amoxicilline, Oxacilline, Céfazoline et Cefalexine à l'exception de Gentamycine et Piperacilline à qui cette souche est montrée sensible.

Pour la famille des aminosides, cette souche montre 100% de sensibilité à la Tobramycine et à la Kanamycine.

Cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire vis-à-vis le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés.

Pour les tetracyclines cette souche montre une sensibilité contre la Tetracycline, une résistance à la Linomycine et un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Pristanamycine.

La Colistine représente la famille des Polypeptides à qui cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire.

La famille des quinolones est représentée par l'antibiotique (Ofloxacine) qui est efficace contre cette souche.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était sensible.

Nous avons noté une résistance globale de 100% vis-à-vis l'Acide fusidique, la Metronidazole et la Vancomycine.

- ***Stenotrophomonas maltophilia*** :

L'antibiorésistance des 02 souches de *Stenotrophomonas maltophilia* ont été étudiée vis-à-vis de 21 antibiotiques, les 02 souches ont montré un profil de résistance identique avec 52,38% de résistance contre tous les antibiotiques testés et 19,04% de sensibilité et 28,57% à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire.

Pour la famille des  $\beta$ -lactamines, cette souche montre une résistance avec un taux global de 44,44% à la Céfotaxime, l'Oxacilline, la Pinécilline G et l'Amoxicilline à l'exception de l'Imipénème, Céfazoline et la Pipéracilline à qui elle était sensible avec un taux de 33,33% et un taux global 22,22% des antibiotiques (la Streptomycine et l'Aztréname) à qui cette souche a montré un diamètre intermédiaire d'inhibition.

Cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire vis-à-vis le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés.

Pour les tetracyclines cette souche montre une résistance à la Linomycine et un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Pristanamycine.

La Bacitracine représente la famille des Polypeptides à qui cette souche montre une résistance.

La famille des sulfamides est représentée par la Triméthoprim+ sulfaméthoxazole à qui cette souche montre une résistance.

La famille des quinolones est représentée par deux antibiotiques, l'ofloxacine qui est efficace contre cette souche et l'Acide nalidixique à qui cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était résistante.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) à qui cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire.

Nous avons noté une résistance globale de 100% vis-à-vis l'Acide fusidique, la Metronidazole et la Vancomycine.

- ***Flavimonas horzyi* habitans :**

L'antibiorésistance des 02 souches de *Flavimonas horzyi* habitans ont été étudiée vis-à-vis de 15 antibiotiques, les 02 souches ont montré un profil de résistance avec une petite différence au niveau des diamètres avec 53,33% de résistance et un taux de sensibilité de 33,33% et 13,33% des antibiotiques à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire.

Pour la famille des  $\beta$ -lactamines, cette souche montre une résistance avec un taux global de 57,14% à l'Oxacilline, la Pénicilline G, l'Ampicilline et l'Amoxicilline+acide clavulanique à l'exception de l'Imipénème et la Pipéracilline à qui elle était sensible avec un taux de 28,57% et 14,28% (Amoxicilline) à qui cette souche a montré un diamètre intermédiaire d'inhibition.

Pour la famille des aminosides, cette souche a montré un diamètre d'inhibition intermédiaire à l'Amikacine.

Le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés est efficace contre cette souche.

Pour les tetracyclines cette souche montre une résistance à la Linomycine.

La famille des quinolones est représentée par un seul antibiotique, l'ofloxacine qui est efficace contre cette souche.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) à qui cette souche montre une résistance.

Nous avons noté une résistance à la Vancomycine et la Metronidazole avec un taux global de 66,66% et une sensibilité vis-à-vis l'Acide fusidique.

Nos résultats concordent avec ceux d'Avril et *al* 2000, qui disent que les antibiotiques ayant en général une bonne activité au genre *Pseudomonas* sont : Pipéracilline, Imipénème et les aminosides.

Le phénotype sauvage des *Pseudomonas* montre que cette résistance est liée à la production d'une céphalosporinase, couplé à une imperméabilité et d'un efflux actif constitutif. Ce phénotype se traduit par une résistance aux Pénicillines, seules ou associées à des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamines (Hamdad et Adjal., 2005).

Aucune résistance au Chloramphénicol n'a été observée. De plus, 100% des souches se sont avérées résistantes à la la Linomycine, le Metronidazole et la Vancomycine. Aucune résistance à l'Ofloxacin n'a été observée.

Le phénotype de résistance acquise est lié à des mécanismes enzymatiques (Pénicillinases, Céphalosporinases...) ou non enzymatiques (Imperméabilité, efflux et cibles) (Jehl et *al.*, 2003).

### III.3.3 Antibiorésistance des souches de Streptococcaceae isolées:

- **Streptocoques groupe D :**

L'antibiorésistance testée pour 02 échantillons de 02 structures sanitaires différentes, l'une est privé (Clinique d'hémodialyse de SIDI ABDEL KADER) et l'autre est publique (Hôpital FRANTZ FANON) qui ont été étudiée vis-à-vis de 14 antibiotiques, les résultats de profil de résistance ont montré une nette différence au niveau de 08 antibiotiques qui présentent leur activités la plus importante au niveau de l'Hôpital. Les streptocoques isolés à partir de l'Hôpital ont montré une sensibilité élevée 78,57% par rapport à ceux isolés à partir de la clinique 21,42%. Le faible taux de résistance 21,42% des streptocoques au niveau des eaux d'hémodialyse de l'Hôpital peut être du à la bonne qualité bactériologique que ces eaux ont présenté durant toute les 04 mois au niveau de tous les prélèvements par contre le taux 50% de résistance de ces souches vis-à-vis les antibiotiques au niveau de la clinique peut être

du à la mauvaise qualité des eaux de cette structures démontrée au niveau de 3/7 des prélèvements, alors il peut y avoir une adaptation des souches ce qui explique leur résistance.

Pour la famille des  $\beta$ -lactamines, une résistance avec un taux global de 50% à la Pipéracilline, l'Oxacilline et l'Ampicilline au niveau de la clinique, un taux de résistance de 16,66% a été noté au niveau de l'Hôpital vis-à-vis l'antibiotique (Oxacilline). Nous avons noté un taux de sensibilité de 33,33% au niveau de la clinique à la Pénicilline G et la Gentamycine, une sensibilité plus élevée a été démontré au niveau de l'hôpital (83,33%) vis-à-vis la Pipéracillins, l'Ampicilline, l'Amoxicilline, la Pénicilline G et la Gentamycine. Un diamètre d'inhibition intermédiaire a été monré vis-à-vis l'Amoxicilline au niveau de la clinique.

Pour la famille des aminosides, les streptocoques ont montré une résistance à l'Amikacine au niveau de la clinique et une sensibilité au niveau de l'hôpital.

Le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés est efficace contre les streptocoques isolés à partir de l'Hôpital et montrent un diamètre d'inhibition intermédiaire au niveau de la clinique.

Pour les tetracyclines les streptocoques montrent une résistance à la Linomycine au niveau de la clinique et une sensibilité au niveau de l'Hôpital.

La famille des quinolones est représentée par un seul antibiotique, l'ofloxacine qui est efficace contre ces souches isolées à partir de l'Hôpital et montrent un diamètre d'inhibition intermédiaire au niveau de la clinique.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) à qui les streptocoques isolés des 02 structures sont résistantes.

Nous avons noté une résistance à la Metronidazole dans les 02 prélèvements, une sensibilité à la Vancomycine et un diamètre intermédiaire d'inhibition au niveau de la clinique et une sensibilité au niveau de l'Hôpital vis-à-vis l'Acide fusidique.

Nos résultats se diffèrent avec ceux de Nauciel 2005, qui disent que les streptocoques de groupe D ont une grande résistance à la Pénicilline G et concordent avec ceux trouvés par Avril et *al* (2000) qui ont montré que ces souches sont sensible à la Pénicilline.

L'efficacité de la Vancomycine sur les souches de *Streptococcus sp*, avec une sensibilité totale a été rapportée par Bounaas et Meddour (2005), Hasseinbey et Soum (2007), ces résultats concordent avec nos résultats.

### III.3.4 Antibiorésistance des souches de Vibrionaceae isolées:

- *Photobacterium damsela* :

L'antibiorésistance de *Photobacterium damsela* a été étudiée vis-à-vis de 21 antibiotiques, cette bactérie présente un taux de résistance de 52,38% et un taux de sensibilité de 19,04% et 28,57% à qui le diamètre d'inhibition était intermédiaire.

Pour la famille des  $\beta$ -lactamines, cette souche montre une résistance avec un taux global de 44,44% aux Céfotaxime, l'Oxacilline, la Pinécilline G, et l'Amoxicilline à l'exception de Ceftriaxome, la Streptomycine, l'Imipénème, l'Aztréname et la Pipéracilline à qui elle était sensible avec un taux de 55,55%.

Cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire vis-à-vis le chloramphénicol qui représente la famille des phénicolés.

Pour les tetracyclines cette souche montre une résistance à la Linomycine et un diamètre d'inhibition intermédiaire à la Pristanamycine.

La Bacitracine représente la famille des Polypeptides à qui cette souche montre une résistance.

La famille des sulfamides est représentée par la Triméthroprime+sulfaméthoxazole à qui cette souche montre une résistance.

La famille des quinolones est représentée par deux antibiotiques, l'ofloxacin qui est efficace contre cette souche et l'Acide nalidixique à qui cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire.

La famille des lincosamides est représentée par un seul antibiotique (Clindamycine) à qui cette souche était résistante.

La famille des macrolides est représentée par un seul antibiotique (Erythromycine) à qui cette souche montre un diamètre d'inhibition intermédiaire.

Nous avons noté une résistance globale de 100% vis-à-vis l'Acide fusidique, Metronidazole et la Vancomycine.

Il est difficile d'établir des comparaisons entre nos résultats et ceux de la littérature en raison des différences dans les antibiotiques étudiés.

Les niveaux des résistances bactériennes varient d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre. Ainsi, la connaissance de la situation locale et de son évolution sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie de première intention (El Bakkouri *et al.*, 2009).

En effet, nous avons remarqué que les fréquences de la résistance et de sensibilité ne sont pas les mêmes pour toutes les antibiotiques testés. Certains antibiotiques ont une fréquence de résistance très élevée, d'autres sont efficaces contre plusieurs souches et présentent une fréquence de sensibilité élevée.

Les différents mécanismes de la résistance aux  $\beta$ -lactamines peuvent s'exprimer seuls ou d'une façon concomitante agissant alors d'une façon synergique. Il peut s'agir d'une diminution d'affinité de la cible, d'une diminution de la perméabilité de la membrane à l'expression d'une pompe d'efflux active ou de la production d'enzyme de type  $\beta$ -lactamase capable d'hydrolyser l'anneau  $\beta$ -lactame commun à cette classe d'antibiotique (Rodriguez, 2006 ; Gangoue, 2007).

D'après les résultats obtenus dans cette étude et qui sont représentés dans le tableau XXIII (annexe III), la majorité des souches sont sensibles à l'Imipénème, ces résultats concordent avec ceux déclarés à l'échelle mondiale par Chaudhuri *et al.* (2011) et Badal (2013).

Le mécanisme de résistance principal aux aminoglycosides est l'acquisition d'enzymes bactériennes qui modifient les antibiotiques par acétyltransférase (AAC), adényltransférase (ANT) ou phosphotransférase (APH). Chaque classe de ces enzymes effectue une réaction régio-spécifique soit sur le groupe amine (AAC) ou un groupe hydroxyle (ANT et APH) et les produits de ces réactions sont dépourvus d'activité antibactérienne (Chen *et al.*, 2007).

La diminution de l'accumulation de l'antibiotique est un autre mécanisme majeur de résistance. Les bactéries peuvent exprimer des systèmes d'efflux qui résultent d'une accumulation réduite des aminosides à l'intérieur de la cellule (Durante et *al.*, 2009).

Selon Singleton (1994), les tetracyclines sont des antibiotiques à large spectre. Elles sont actives sur un grand nombre d'espèce bactérienne à Gram Positif et négatif. Cela diffère aux résultats obtenus dans notre étude, qui ont montré que la majorité des souches sont résistantes aux antibiotiques appartenant à la famille des tetracyclines, et d'après Li et Nikaido (2004) la résistance aux tetracyclines se fait par la modification de la cible de ces antibiotiques.

La résistance à ces antibiotiques est de type plasmidique, elle s'explique par une expulsion active de l'antibiotique hors de la cellule (Feron, 1989).

Les autres antibiotiques (Metronidazole, l'Acide fusidique et la Vancomycine) révèlent des taux de résistances élevés.

Pour les mécanismes de résistance des autres antibiotiques appartenant aux différentes familles, ils sont représentés dans le tableau VI (Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques) abordé dans la partie (rappels bibliographiques).

Les différences des taux de la résistance bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques dans cette étude pourraient refléter le taux de contamination dans la zone et pourraient être considérées comme bio-indicateur pour lancer les programmes de surveillance des profils et des taux de la résistance des bactéries.

De manière générale, l'apparition de la résistance bactérienne aux antibiotiques, est multifactorielle résultant d'interaction complexe entre la bactérie et son environnement.

Les facteurs bactériens sont reliés aux modifications génétiques de la bactérie, survenant suite à des mutations chromosomiques et/ou plasmidique, ou l'acquisition des gènes de résistance par l'un des moyennes connues dans le transfert du matériel génétique (conjugaison, transformation et transduction).

Les facteurs environnementaux, concernant l'ensemble des facteurs exerçant une pression de sélection et favorisant l'évolution et la survie des mutants et des facteurs relatifs à l'usage et l'administration des antibiotiques dont le mauvais usage reste parmi les causes

majeurs de développement de la résistance. Ce mauvais usage est relié principalement à la surconsommation humaine en antibiotiques et leur utilisation abusive dans certaines pathologies animales.

Enfin, la résistance vis-à-vis des antibiotiques peut être considérée comme un contaminant émergeant de l'eau, ce qui pouvait contribuer à la diffusion mondiale des gènes de résistance, un problème sanitaire sérieux se posera quand il s'agit de bactéries pathogènes. Cette résistance a créé en plus des échecs thérapeutiques due à la rareté des molécules d'antibiotiques actives sur les bactéries.

## Conclusion:

Notre travail consiste à évaluer la qualité microbiologique des eaux destinées à l'HD et à étudier le profil d'antibiorésistance des souches isolées. Il a conduit aux résultats suivant:

- Le taux de non-conformité globale est de 17.85% soit 5 échantillons sur 28. Ce qui signifie que 17.85% des échantillons prélevés et analysés présentent une ou plusieurs non conformités par rapport aux normes correspondantes.
- Notre étude a révélé une contamination de trois échantillons d'eau prélevés à partir de robinet d'hémodialyse par les coliformes totaux (>240g/100ml).
- Un seul échantillon était contaminé par les coliformes fécaux à raison d'un taux supérieur à 240g/100ml.
- Les résultats relatifs à la mise en évidence des streptocoques fécaux montre qu'un seul échantillon de la clinique SAK était contaminé (43g/100ml).
- La présence des spores d'anaérobies sulfito-réductrices dans un seul échantillon avec un taux de 02spores/20ml.
- Une absence des salmonelles, des vibrions cholériques et des *Pseudomonas aeruginosa* dans la totalité des échantillons d'eau analysés des stations d'hémodialyse.

Une conformité plus ou moins rapprochée de la majorité des échantillons aux normes de la Pharmacopée Européenne a été démontré, mais nous constatons que certains centres d'hémodialyse nécessitent une surveillance régulière de l'eau au cours de son traitement afin d'améliorer la qualité de l'eau, et protéger les patients.

Les résultats de cette étude révèlent une diversité des espèces identifiées :

-Parmi les 16 souches isolées de différentes stations d'hémodialyse, les Entérobactéries étaient les plus répandues avec une fréquence de 50%.

-Un grand nombre de ces souches ont révélé des phénotypes de résistance vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques en particuliers les  $\beta$ -lactamines à l'exception du l'Aztréname, Ceftriaxome et Gentamycine mais l'Imipénème et la Pipéracilline restent les antibiotiques de choix les plus actifs. Par ailleurs, les aminosides et les phénicolés ont gardé leur activité inhibitrice. Ces niveaux de résistance sont associés à de nombreux mécanismes qui peuvent s'exprimer seuls ou de façon concomitante.

Enfin, la résistance vis-à-vis des antibiotiques peut être considérée comme un contaminant émergeant de l'eau, ce qui pourrait contribuer à la diffusion mondiale des gènes de résistance, un problème sanitaire sérieux se posera quand il s'agit de bactéries pathogènes. Cette résistance a créé en plus des échecs thérapeutiques due à la rareté des molécules d'antibiotiques actives sur les bactéries.

Nous proposons comme **recommandations** :

- Assurer efficacement l'entretien des réseaux de distribution.
- Assurer un contrôle quotidien des eaux.
- La mise en place d'un système d'assurance qualité avec la coordination des équipes médicales, techniques et pharmaceutiques.
- Surveillance de la résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques à intervalle régulier.

Quelques **perspectives** se dessinent à la lumière des résultats obtenus :

- Vu le faible effectif de nos échantillons et de la courte durée de la présente étude, nous suggérons la conduite d'une étude de plus grande envergure.
- Effectuer la même recherche sur d'autres bactéries et leur niveau de résistance aux antibiotiques dans d'autres centres d'hémodialyse en Algérie.

## **Chapitre I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES**

### **I. Généralités**

#### **I.1 Physiologie rénale**

Le rein, émonctoire de l'organisme, est formé d'un ensemble d'unités fonctionnelles appelées néphrons. Chaque néphron est formé d'un glomérule et d'un système tubulaire.

Au niveau glomérulaire a lieu, grâce à un système de membrane semi-perméable, la filtration plasmatique (dite filtration glomérulaire) aboutissant à la formation de l'urine dite primaire. Cette urine primaire est ensuite remaniée tout au long du tube grâce à des systèmes de réabsorption des éléments indispensables à l'organisme, et des systèmes de sécrétion des "toxines" à éliminer. Le pouvoir épurateur des reins est avant tout dépendant du débit de filtration glomérulaire, qui est égal à la somme des débits de filtration au sein de chaque glomérule. La valeur de ce débit peut être déterminée grâce au calcul de la clairance de la créatinine, élément produit de manière quasi constante par les muscles de l'organisme, et qui est simplement filtré au sein du glomérule, sans subir de remaniement tubulaire ou presque (Sherwood, 2000).

#### **I.2 Insuffisance rénale**

L'insuffisance rénale est définie par une baisse brutale, en quelques heures ou quelques jours de la filtration glomérulaire (Eliane, 2005).

L'insuffisance rénale peut être aiguë (temporaire et réversible) ou chronique (persistante).

##### **I.2.1 Insuffisance rénale chronique (IRC)**

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est définie par une diminution prolongée et définitive des fonctions rénales secondaires à des lésions anatomiques irréversibles du parenchyme rénal (Alain, 2001), qui correspond à la réduction permanente du débit de la filtration glomérulaire (DFG). En pratique, elle se traduit par une baisse de la clairance de la créatinine et une élévation de la créatinémie. L'IRC est deux fois plus fréquente chez l'homme que chez la femme.

Selon Clermont-Ferrand et *al.*, 2003, parmi les causes principales de l'insuffisance rénale chronique, il faut mentionner :

- L'hypertension artérielle (31% des cas).
- Le diabète (15%).
- Les glomérulonéphrites (15%) et les néphrites interstitielles (14%).
- La maladie polykystique (des kystes, parfois très grosses se développent progressivement dans le rein), à elle seule responsable de plus de 11% des cas.

En général, Un patient atteint d'insuffisance rénale chronique est traité toute sa vie par des séances d'hémodialyse d'une durée de 3 à 4 heures, 3 fois par semaine (Stora, 2008).

### **I.2.2 Insuffisance rénale aiguë**

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est définie par l'arrêt brusque (en quelques heures ou jours) de la fonction excrétrice du rein avec diminution extrême ou interruption complète de la FG qui se traduit par une élévation rapide de la créatinémie (Joly, 2006 ; Alain et *al.*, 2001).

L'IRA est une urgence qui peut justifier une dialyse immédiate parallèlement à la démarche diagnostique. Malgré les progrès techniques et l'évolution des connaissances, sa mortalité reste élevée (45 à 70%), en particulier en présence d'un état septique grave, d'une défaillance hémodynamique sévère ou poly-viscérale et au décours d'une intervention chirurgicale (Robert et Lamieire, 2003).

Un traitement par hémodialyse permet de pallier temporairement à la déficience des reins. Dans 50% des cas environ, si l'IRA persiste, celle-ci se transforme en IRC définitive (El yemlahi, 2005).

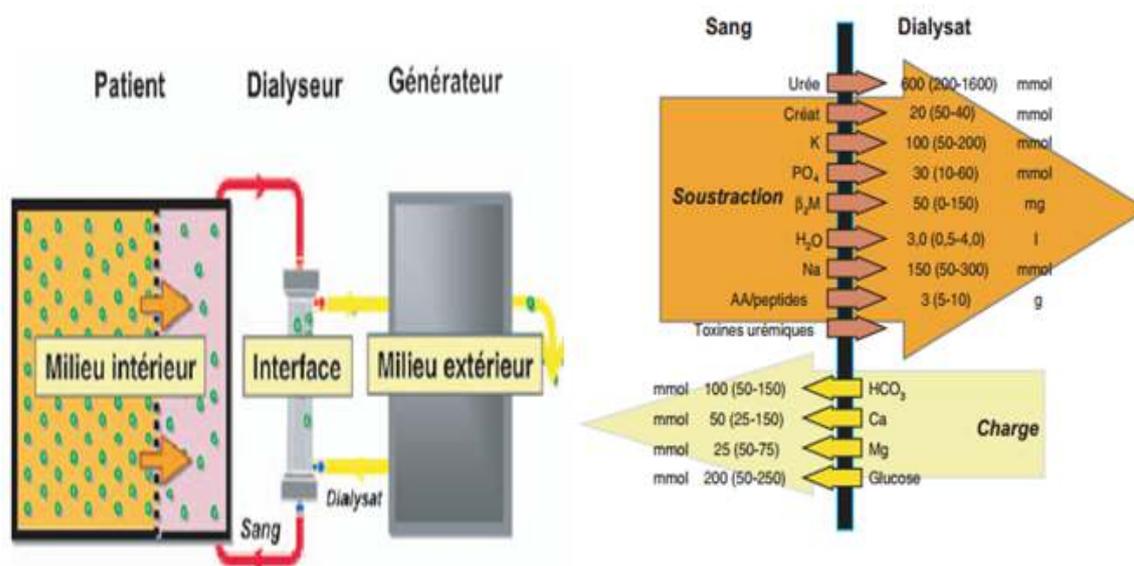
### **I.3 Hémodialyse**

L'hémodialyse est un système qui permet d'épurer le sang en éliminant de nombreuses petites molécules et permet d'extraire l'eau en excès. Ce mot vient de grec : « hémé » signifie le sang et « dialyse » signifie épuration. C'est un traitement médical qui permet d'éliminer les déchets toxique du sang en faisant passer celui-ci par un filtre. Ce système est également connu sous le nom du rein artificiel encore

appelé « dialyseur », qui fait office de filtre et d'un liquide de dialyse (dialysat). (Stora, 2008)

L'HD étant la technique d'épuration extrarénale la plus répandue (Kada, 2008 ; Simon, 1999). La Figure 1 schématise le fonctionnement de cette technique.

Les échanges entre le sang et le dialysat s'effectuent essentiellement par diffusion selon des gradients de concentration. Les pertes par convection (ou ultrafiltration), réalisées selon un gradient de pression sont essentiellement limitées à l'élimination d'un excès d'eau plasmatique. (Cirulaire N°DHOS/E4, 2007)



**Figure 1: Schéma du principe d'épuration du sang par hémodialyse**  
(Canaud et Leray, 2006)

### I.3.1 Techniques d'hémodialyse

Les techniques d'hémodialyse font appel à deux mécanismes principaux de transfert de solutés : la diffusion et la convection. Selon l'importance relative des mécanismes mis en jeu, les modalités techniques de l'hémodialyse peuvent différer et sont dépendantes de la perméabilité des membranes d'échange (membranes à haute et basse perméabilité). (Cirulaire N°DHOS/E4, 2007).

#### I.3.1.1 Hémodialyse conventionnelle

Dans l'hémodialyse conventionnelle, le transfert des solutés s'opère sur un mode principalement diffusif, tandis que celui du sodium et de l'eau s'opère sur un mode principalement convectif, répondant à l'ultrafiltration. (Cirulaire N°DHOS/E4, 2007)

### **I.3.1.2 Hémofiltration**

Dans l'hémofiltration, le transfert des solutés est purement convectif. L'hémofiltration impose le recours à une membrane de haute perméabilité. La balance volumique du patient est maintenue en injectant, dans le circuit sanguin, une solution de substitution de composition voisine de celle d'un ultra filtrat plasmatique normal, à un débit équivalent à celui du débit d'ultrafiltration, diminué du débit correspondant à la perte de poids désirée. (Kada, 2008 ; Gabriel, 1988).

### **I.3.1.3 Hémodiafiltration**

L'hémodiafiltration combine à la fois les propriétés de l'hémodialyse conventionnelle et de l'hémofiltration. Le transfert des solutés est d'une part diffusif, ce qui assure une soustraction efficace des substances de faible masse molaire, et d'autre part convectif, ce qui accroît l'extraction des solutés de masse molaire élevée. L'hémodiafiltration nécessite donc à la fois un dialysat et une solution de substitution. (Alain et *al.*, 2001 ;Kada, 2008).

### **I.3.1.4 Hémofiltration et hémodiafiltration en ligne**

Les techniques d'hémofiltration et d'hémodiafiltration en ligne nécessitent des volumes importants de solution de substitution. Elles reposent sur la production extemporanée de la solution de substitution à partir du dialysat affluent. (Circulaire N°DHOS/E4, 2007)

## **II. Eaux d'hémodialyse**

### **II.1 Généralités sur les eaux d'hémodialyse**

Appellation codifiée par la Pharmacopée Européenne (PE) dont l'intitulé exact est « l'eau pour dilution des solution concentrées pour HD ».

L'eau pour hémodialyse est une matière première médicamenteuse dont sa composition bactérienne et physico-chimique est réglementée par la monographie de la PE (Cousin, 1999 ; Cécile et Dejean, 2002).

Elle représente 97% de la composition du dialysat, au cours d'une séance de dialyse de 4 heures, le sang du patient est mis au contact au travers de la membrane du dialyseur avec 150 litres du dialysat soit environ de 145 litres d'eau. Cette eau est issue de l'eau de ville qui contient un grand nombre de composés organique et

inorganique ainsi que bactériologiques qui peuvent s'avérer extrêmement nocif pour le patient. Il est donc nécessaire et essentiel d'apporter une attention particulière à la production de cette eau qui est obtenue à partir de l'eau potable après un traitement (Dorez *et al.*, 2009).

## **II.2 Objectifs du traitement d'eau pour hémodialyse**

L'eau pour hémodialyse est un médicament qui doit répondre à certains impératifs :

- ❖ Bonnes qualités bactériologiques et pyrogéniques.
- ❖ Absence de toxicité pour le patient.
- ❖ Maintien de la constance physico-chimique de la solution diluée.

Le traitement physico-chimique, bactériologique et endotoxinique de l'eau pour HD est donc un processus essentiel dans la prévention des infections en hémodialyse afin de produire de façon fiable et reproductible une eau de qualité bactériologique compatible avec le dialysat. Il permet entre autre :

- ❖ Eliminer les bactéries présentes dans l'eau brute.
- ❖ Eviter la recontamination bactérienne du système
- ❖ Inhiber la croissance bactérienne.
- ❖ Produire une eau de qualité bactériologique compatible avec l'application finale. (Circulaire N°DHOS/E4, 2007)

## **II.3 Qualité de l'eau utilisée en hémodialyse**

### **II.3.1 Importance d'une qualité de l'eau dans l'hémodialyse**

La qualité de l'eau pour hémodialyse constitue un élément essentiel de l'efficacité et la sécurité de l'HD en raison de l'importance des échanges entre ces solutés et le sang de malade à travers une membrane de dialyse de quelques microns d'épaisseur (Dahri, 2012).

La qualité de l'eau peut moduler les interactions du sang avec les membranes artificielles et contribue largement à la bio-incompatibilité en augmentant plus le risque de voir apparaître, chez les hémodialysés chroniques, de nouvelles pathologies dites iatrogènes qui ne sont pas toujours liées à l'IR (Owen et Lowrie, 1998 ; Lindholm *et al.*, 2004).

Ainsi, des teneurs limites pour différents agents contaminants de cette eau doit répondre à des normes pour améliorer la qualité de vie à court et à long terme des hémodialysés chroniques (Frenkian et *al.*, 1996 ; Barnoux et *al.*, 1997).

### **II.3.2 Réglementation**

D'après le Journal Officiel de la République Algérienne (JORA) en ce qui concerne les normes liées à l'eau destinée à d'hémodialyse et son traitement, des limites de qualité ont été proposées par la Pharmacopée Européenne, ISO et AFNOR pour assurer la sécurité sanitaire des patients insuffisants rénaux.

Pour respecter ces différentes dispositions, les eaux utilisées pour la dilution des solutions concentrées font l'objet d'un traitement plus au moins complexe, la qualité de ce traitement doit être contrôlée trimestriellement par des analyses bactériologiques et physico-chimiques.

Le but du traitement est d'améliorer à la fois les qualités physico-chimiques et microbiologiques de l'eau pour répondre, au minimum, aux critères définis par la monographie de l'eau pour hémodialyse dans la Pharmacopée Européenne, les valeurs de certaines limites de qualité proposées par cette dernière sont plus basses que celles définies pour les eaux destinées à la consommation humaine (micropolluants minéraux ou organiques, microorganismes et endotoxines). En conséquence, cette eau subit en général un traitement adaptée plus au moins complet (Ragnon, 2004) (**Voir tableau I, annexe III**).

### **II.3.3 Effets d'une mauvaise qualité bactériologique d'eau de dialyse**

Les complications liées à une eau de dialyse de qualité insuffisante peuvent être catégorisées selon la durée de leur manifestation :

A court terme, le passage des microorganismes ou produits de ces derniers dans le sang du patient peut être à l'origine des réactions pyogènes (frissons, myalgies, fièvre, nausée, hypotension) pouvant aller jusqu'au choc. Ces réactions débutent généralement en cours de séance de dialyse. La majorité des états septiques chez les patients dialysés sont toutefois liés à des infections de cathéters endovasculaires et de fistules ou à des infections urinaires ou cutanées.

A long terme, la stimulation répétitive des monocytes par des produits microbiens est à l'origine d'une production chronique des cytokines (médiateurs d'inflammation). Ces substances (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6) sont elles même responsables d'une production hépatique de protéine C-réactive (CRP) et  $\beta$ -2-microglobuline pouvant aboutir à une amyloïdose. A l'inverse, certaines protéines comme l'albumine diminuent sous l'effet de l'inflammation chronique et plusieurs études ont montré que l'hypo-albuminémie prédit la mortalité chez les patients dialysés (Hubert, 2010) (**Tableau II**).

**Tableau II: Relations entre effets toxiques et concentrations de plusieurs contaminants physicochimiques et bactériologiques de l'eau pour hémodialyse**

Contaminant	Effets toxiques	Concentration toxique
<b>Aluminium</b>	Encéphalopathie de dialysé, ostéopathie, anémie	60 $\mu$ g/ l
<b>Calcium-Magnésium</b>	Nausée, vomissement, céphalées flush, myalgie Trouble tensionnels	88 mg/l (calcium)
<b>Chloramines</b>	Hémolyse, méthémoglobinémie, anémie	0,25 mg/l
<b>Cuivre</b>	Nausée, frisson, céphalées, hépatopathie, fièvre	0,49 mg/l
<b>Fluore</b>	Ostéoporose, ostéomalacie	1 mg/l
<b>Nitrate</b>	Hémolyse, hypotension, cyanose, nausée, méthémoglobinémie	21 mg/l
<b>Sodium</b>	Hypertension, œdèmes, vomissement, céphalée pulmonaire, tachycardie, insuffisance respiratoire, crise coma, mort	300 mg/l
<b>Sulfate</b>	Nausée, vomissement, acidose métabolique	200 mg/l
<b>Zinc</b>	Nausée, vomissement, fièvre, anémie	0,2 mg/l
<b>Microbiologique</b>	Frisson, fièvre, nausée, septicémie	>100 UFC/ml
<b>Endotoxines</b>	Hypotension, cyanose, choc	>0,25 EU/ml

(Dahri, 2012)

#### II.3.4 Qualité de l'eau exigée ou recommandée

Les critères de qualité de l'eau pour l'HD définis par la PE sont nombreux sur les plans physico-chimiques, microbiologique et endotoxique. Ils sont habituellement contrôlés au départ et au cours de retour de boucle (**Tableau III**).

D'après le JORA N°30 du 28 Avril 2002, et la PE (7<sup>ème</sup> édition 2011), et la norme ISO 23500 (Mai 2011), les normes microbiologique de l'eau destinée à l'HD sont :

**Tableau III : Les normes microbiologique de l'eau pour l'hémodialyse**

Paramètres	Eau pour hémodialyse (maximum toléré)		
	JORA	Pharmacopée Européenne	ISO 23500
<b>Endotoxines</b>	<0,25 µl/ml	<0,25 µl/ml	<0,25 µl/ml
<b>Bactéries revivifiables 24h à 30°C</b>	<100 Microorganismes/100ml	<100 Microorganismes/100ml	-
<b>Bactéries revivifiables 48h à 20°C</b>	<100 Microorganismes/100ml	<100 Microorganismes/100ml	-

(Boudzali, Metahri, 2009; Dahri, 2012)

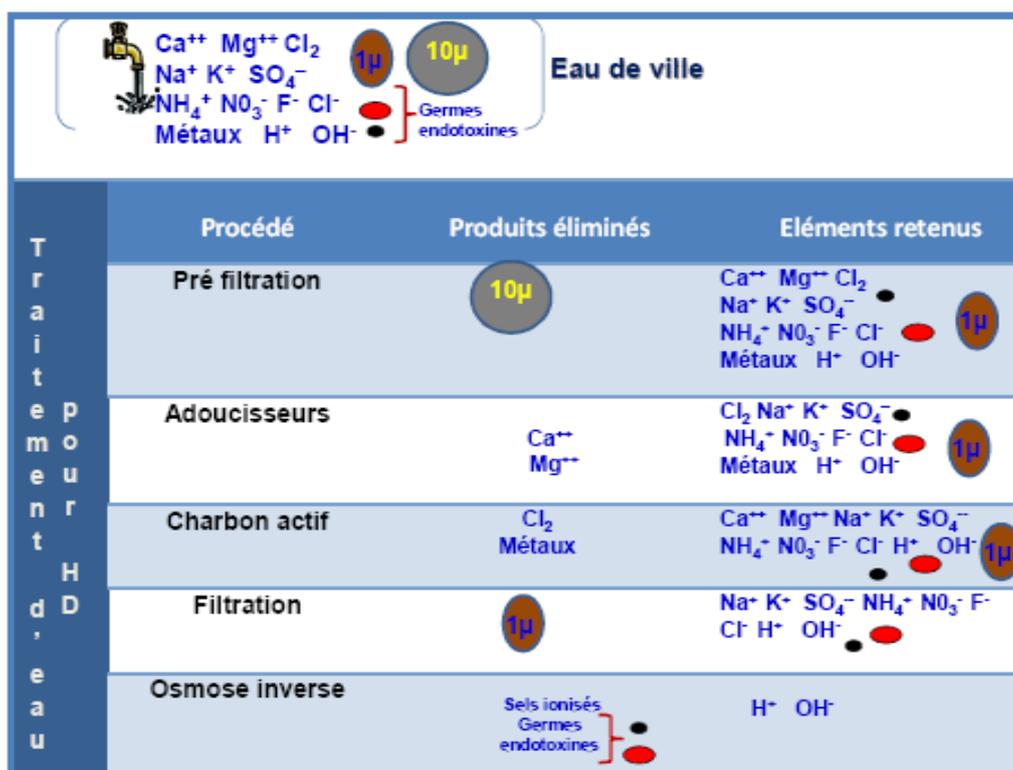
#### II.4 Traitement de l'eau d'hémodialyse

L'eau véhicule un grand nombre de composés organiques et inorganiques qui s'avèrent très nocifs pour le patient, par conséquent la qualité de l'eau est essentielle dans le processus de l'HD et chaque étape de traitement doit être maîtrisée pour atteindre les qualités requises (Cousin, 1999 ; Kada, 2008).

L'eau pour l'HD est préparée à partir de l'eau du réseau intérieur dédié à la dialyse. Sa production nécessite l'emploi successif de plusieurs techniques complémentaires. Les premières étapes constituent le « prétraitement » permet à protéger et à faciliter le fonctionnement des osmoseurs. Ce traitement permet de fournir une eau pour dilution des solutions concentrées pour HD dont les paramètres physico-chimiques et bactériologiques sont conformes aux exigences de la PE et PF. En effet, plusieurs épidémies d'infection bactériennes ou de réactions fébriles ont été décrites du fait de procédures inadéquates de traitement de l'eau et désinfection des circuits (Kada, 2008).

Les autres traitements de l'eau peuvent être effectués par des cartouches de déminéralisation ou plus souvent par système d'osmose inverse, cette dernière technique est associée à un prétraitement par filtration et adoucissement (Kada, 2008 ;

Lusamvuky et *al.*, 1999). La **Figure 2** représente les principales étapes de traitement de l'eau pour hémodialyse.



**Figure 2:** Schéma des principales étapes de traitement de l'eau pour hémodialyse

#### II.4.1 Description technique du Traitement d'eau en hémodialyse

Le traitement comporte généralement trois étapes principales qui sont le prétraitement, le traitement et la distribution à adapter en fonction de la qualité de l'eau de ville présente en début de circuit.

❖ **Prétraitement** : Les techniques classiquement utilisées sont :

- **Le disconnecteur** : Il est mis à l'entrée de l'installation de traitement d'eau, permettant la protection du réseau d'eau potable. Il est constitué d'un ensemble de clapets de soupapes et de membranes qui empêchent le reflux de l'eau engagée dans le circuit de traitement éliminant ainsi le risque de contamination du réseau par lequel il est alimenté (Lusamvuky et *al.*, 1999) **(Voir figure 3, annexe II).**
- **La chloration** : Elle est utilisée pour éviter le développement des microorganismes dans le cas où l'eau de distribution publique connaîtrait des fluctuations chroniques ou passagères de son taux de chlore. Un dosage

de taux de chlore est fait avant chaque séance de dialyse (Cécile et Dejean, 2002).

- **La filtration** : Des filtres destinés à retenir des particules insolubles sont disposés à différents niveaux de la chaîne de prétraitement. Leur porosité est décroissante depuis le filtre à sable qui est constitué d'un lit de sable et de gravier jusqu'au filtre de cartouche dont la porosité varie de filtre de 1µm et par exemple utilisé pour retenir les fines particules de charbon actif (Ragnon, 2004). Le principal problème de cette technique est la contamination des filtres, la désinfection périodique des cartouches est donc nécessaire (**Voir figure 4, annexe II**).
- **La filtration à charbon actif** : Le charbon actif absorbe les résidus chlorés et halogénés (Dorez et *al.*, 2009). Il a trois actions : la destruction par action catalytique de chlore et chloramine, l'absorption des quantités importantes de matière organique et de pyrogène et la filtration des particules et des colloïdes (Baron et *al.*, 2005) (**Voir figure 5, annexe II**).
- **L'adoucissement** : C'est un traitement physico-chimique qui se fait par deux adoucisseurs fonctionnant en alternance, l'un est en production pendant que l'autre est en phase de régénération. Il va permettre l'élimination de carbonate du calcium et du magnésium en échangeant ces cations contre du sodium. Le principal intérêt des adoucisseurs est de protéger la membrane de l'osmoseur (Malhiem et *al.*, 2002) (**Voir figure 6, annexe II**).

**Le testomat** : C'est un appareil de mesure installé à la sortie des adoucisseurs et est utilisé pour la surveillance de la dureté de l'eau (Lusamvuky et *al.*, 1999) (**Voir figure 7, annexe II**).

- ❖ **Traitement** : Durant cette phase, les microorganismes, les endotoxines ou d'autres particules microbiennes encore présentes dans l'eau prétraitée sont éliminées. Ce traitement transforme l'eau de ville (eau potable) en eau de dialyse. (Lusamvuky et *al.*, 1999), elle se fait par :
  - **L'osmose inverse** : C'est le traitement physico-chimique et antimicrobien qui va permettre d'éliminer la quasi-totalité des ions, substances organiques dissoutes et des microorganismes (Guigaz et *al.*, 1995). Il consiste à appliquer sur la solution à purifier une pression supérieure à la

pression osmotique, obligeant le solvant à aller de la solution la plus concentrée vers la solution la moins concentrée. Un montage en double osmose est souvent utilisé d'une part pour limiter les risques liés à une défaillance du prétraitement et d'autre part pour augmenter le degré d'épuration des contaminants et produire une eau ultra-pure (Guigaz, 1995) (**Voir figure 8, annexe II**)

- **L'ultrafiltration** : Cette technique permet d'éliminer tout micro-organisme ou endotoxine et constitue l'ultime barrière pour produire le liquide de substitution avant son injection dans la technique. Les filtres d'ultrafiltrations 0,2 m sont des membranes dites " stérilisantes " et placés en départ de boucle de distribution d'eau de dialyse (Lusamvuky et *al.*, 1999).
- ❖ **Distribution** : L'eau traitée circule en permanence dans une boucle de distribution linéaire, afin d'alimenter les générateurs d'hémodialyse (**Voir figure 11, annexe II**). Cette opération doit garantir une non-altération des propriétés physicochimiques et bactériologiques obtenues en fin de phase de traitement. Les zones de stagnation, « bras morts » ou parties transparentes à la lumière doivent être évités car ils sont tous sources de contamination bactérienne (Cousin, 1999).

### III. Risque infectieux lié à l'eau de dialyse

De nombreuses épidémies imputables aux procédures inadéquates de traitement de l'eau de dialyse ont été reportées. Le dialysat est composé d'eau déminéralisée et purifiée ou hautement purifiée selon le type de traitement, de concentré acide et de bicarbonate. L'élément principal pouvant être contaminé est l'eau. Son traitement physico-chimique et microbiologique est essentiel dans la prévention des infections en hémodialyse (Société Française d'Hygiène Hospitalière, 2005).

Les bactéries présentes dans l'eau et pouvant être à la source d'une infection sont essentiellement des bacilles Gram négatif et plus rarement les mycobactéries non tuberculeuses. Le principal problème est dû au passage des endotoxines, lié au phénomène de rétro-filtration (backfiltration) qui peut atteindre jusqu'à 4 litres au cours d'une séance. Ce passage bien que lié à la qualité de la membrane a été

démontré avec tous les types de membranes. Le risque infectieux lié à cette rétro-filtration est réduit lors d'utilisation d'une eau de bonne qualité microbiologique (Société Française d'Hygiène Hospitalière, 2005).

Une eau traitée ne doit contenir aucun germe pathogène, habituellement les bactéries pathogènes les plus rencontrées dans l'eau sont souvent responsables des maladies infectieuses chez l'homme (Bourgeois et *al.*, 1996). Les bactéries qui peuvent se retrouver dans cette eau sont :

### **III.1 Coliformes :**

#### **III.1.1 Coliformes totaux (CT) :**

Les coliformes sont un sous groupes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae (Rodier et *al.*, 2005). Selon la norme NF ISO 4832 (AFNOR, 1999), ce sont des bacilles à Gram négatif (BGN), non sporulant, anaérobies facultatifs, oxydase négatif, capable de fermenter le lactose avec production de l'acide et de gaz en 48h à une température de 35 à 37°C ( $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) (Singleton, 1999 ; Larpent, 2000).

#### **III.1.2 Coliformes fécaux (CF) :**

Appelés aussi « les coliformes thermo-tolérants ». Ils sont capables de se développer à 44°C et constituent une bonne présomption de contamination fécale. Ils produisent de l'indole à partir du tryptophane à 44°C (Guiraud et Rosec, 2004). Ils sont alors fortement présomptifs d'*Escherichia coli* (Leclerc, 1977).

❖ ***Escherichia coli*** : est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. C'est une bactérie commensale, elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel, 2005). C'est un indicateur direct d'une pollution fécale (Rodier et *al.*, 1984).

### **III.2 Streptocoques fécaux :**

Cette appellation correspond à des streptocoques du groupe D (ou séro groupe D de lancefield) (Delarras et Bernard, 2006). Ce sont des cocci à Gram positif, appartenant à la famille des streptococcaceae, de forme sphérique ou ovoïde en chainettes plus ou moins longues, anaérobies facultatifs, non sporulés, exigeants en

nutriments, catalase négatif, oxydase négatif et homo-fermentaires (Bourgeois et Leveau, 1991). Les streptocoques fécaux sont capables de se développer en 24 à 48h à 37°C sur milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques, réduisant le TTC (Tetra Triosol Citrate).

### **III.3 Salmonelles :**

Elles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche mais certains sont immobiles, non sporulés, nitrate positif, catalase positif, oxydase négatif, lactose négatif, uréase négatif, H<sub>2</sub>S positif, possédant deux antigènes principaux : somatique O et flagellaire H (Leclerc, 1977 ; Bourgeois et *al.*, 1996 ; Singleton, 1999).

### **III.4 *Pseudomonas aeruginosa* :**

Ce sont des bacilles à Gram négatif, aérobies strictes, mobiles, à ciliature polaire monotriche, oxydase positif, catalase positif. C'est la seule espèce de *Pseudomonas* produisant deux pigments, la pyocyanine et la pyoverdine qui peuvent être mis en évidence sur les milieux de King A et King B.

Elle peut se développer à température 30 à 45°C sur milieu gélose nutritive et sur le milieu sélectif gélose cétrimide. Cette bactérie est opportuniste pathogène pour l'homme, elle est l'agent du pus bleu des infections cutanées post-chirurgicales. Elle est résistante à certains antibiotiques (Delarras et Bernard, 2006 ; Delarras et *al.*, 2010).

### **III.5 Clostridium sulfito-réducteur ou bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) :**

Ce sont des bactéries anaérobies strictes, à Gram positif formant des endospores (Bourgeois et Leveau, 1991). De la famille des Bacillaceae, ce sont des gros bacilles, mobiles par ciliature péritriche mais parfois immobiles, thermotolérants, catalase négatif, les espèces pathogènes secrètent des exotoxines (Schaechter, 1999).

Tous ces germes ont un point commun de réduire le soufre de sodium en sulfure dans les milieux de cultures solides en présence de sel de fer (Leclerc et Haslay, 1993).

### III.6 Vibrions cholériques :

Ils appartiennent à la famille de Vibrionaceae, ce sont des bâtonnets droits ou incurvés en virgule, isolés par deux ou parfois groupés en chaînettes, à Gram négatif, certains sont mobiles par flagelle polaire et d'autres sont immobiles, aéro-anaérobies, oxydase positif, catalase positif, indole positif, halotolérants, peuvent être cultivés à pH alcalin de 8,6 à 9, non sporulés, saccharose positif et H<sub>2</sub>S négatif. Ils se développent à température 37°C sur le milieu sélectif Gélose Nutritive Alcaline Biliée (GNAB) après enrichissement sur eau peptonée alcaline (EPA) (Delarras et *al.*, 2010).

La qualité bactériologique de l'eau d'alimentation de générateur de dialyse est définie par la PE comme il indique le tableau suivant :

**Tableau IV : Les normes de la qualité bactériologique d'une eau destinée à l'hémodialyse (Pharmacopée Européenne, 2007)**

Paramètres bactériologiques	Unités	Recommandations
Coliformes totaux	Germe/ml	<100 germes
Coliformes fécaux	Germe/ml	<10 germes
Streptocoques fécaux	Germe/ml	<10 germes
Salmonelles	Pas d'unité	Absence
Vibrions cholériques	Pas d'unité	Absence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pas d'unité	Absence
Clostridium	Spores/20 ml	Absence

## IV. Antibiotiques et antibiorésistance :

### IV. 1. Antibiotiques :

#### IV.1.1 Définition :

Ce sont des produits de métabolisme secondaire de moisissures ou de bactéries ou leurs dérivés obtenus par synthèse chimique, qui inhibent (effet bactériostatique) ou détruisent (effet bactéricide), même à très faible concentration d'autres bactéries. (Gazengel et Orecchioni, 1999).

#### IV.1.2 Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action :

(Voir tableau V, annexe III)

## **IV.2. Antibiorésistance :**

### **IV.2.1 Définition :**

Une souche est dite résistante quand elle supporte une concentration d'ATB beaucoup plus élevée que celle qui inhibe la majorité des autres souches de la même espèce. En effet, cette résistance se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Andrew et Mainardi, 2003).

### **IV.2.2 Différents types de la résistance bactérienne aux antibiotiques :**

#### **IV.2.2-1 Résistance naturelle :**

La résistance est dite naturelle (intrinsèque) si ce caractère est présent chez tout les souches d'une même espèce ou d'un même genre et délimité de ce fait le spectre d'activité de l'ATB (Courvalin et *al.*, 2004).

Elle est toujours transmissible à la descendance car elle est portée par le chromosome ainsi détermine les phénotypes (Sauvages) des espèces bactériennes (Andrew et Mainardi, 2003).

#### **IV.2.2.2 Résistance acquise :**

Elle ne s'applique que pour certaines souches au sein de la même espèce bactérienne, cette résistance est variable dans le temps, elle est due à une modification génétique comme la mutation ou acquisition de matériel génétique étranger. De ce fait deux supports essentiels sont à noter : Support chromosomique et support extra-chromosomique (Plasmide) (Roussel, 2001).

#### **IV.2.2.3 Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques :**

Le tableau VI représente les principaux mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques :

Tableau VI : Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Antibiotique	Cible bactérienne	Mécanisme de résistance			
		Inactivation enzymatique	Modification de cible	Imperméabilité cellulaire	Efflux actif
<b>Inhibition de la synthèse de la paroi (peptidoglycane)</b>					
<b>β-lactamines</b>	PLP	+++	++	++	++
<b>Inhibition de la synthèse protéique</b>					
<b>Aminosides</b>	ARN ribosomal 30S	+++	++	+	+
<b>MLS</b>	ARN ribosomal 50S	+	+++		++
<b>Tétracyclines</b>	ARN ribosomal 30S		++		
<b>Phénicoles</b>	ARN ribosomal 50S	++			++
<b>Inhibition de la synthèse ou de fonctionnement de l'ADN</b>					
<b>Quinolones</b>	Topoisomérases		+++		++
<b>Sulfamides</b>	DHFS1		++		+

(Li et Nikaido, 2004)

### **Appareillage et verrerie:**

Le matériel utilisé pour les analyses bactériologiques est :

- Glacière ;
- Pipettes Pasteur stériles à usages unique ;
- Tubes à essai stériles ;
- Bec Bunsen ;
- Les boîtes de Pétrie ;
- Etuve à 37°C et 44°C ;
- Bain Marie ;
- Réfrigérateur ;
- Flacons en verre de 25ml ;
- Portoirs ;
- Pince stérile;
- Seringues de 5 ml ;
- Ecouillons stériles.

### **Milieux de culture :**

- Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol (BCPL) ;
- Bouillon au Sélénite de sodium cystéine (SFB) ;
- Bouillon Roth ;
- Gélose Nutritive (GN);
- Eau Peptonée Alcaline (EPA) ;
- Gélose Viande Foie (VF) ;
- Gélose Hektoen ;
- Gélose Nutritive Alcaline Biliée (GNAB) ;
- Bouillon à l'acide de sodium plus d'éthyle de violet (EVA LITSKY) ;
- Bouillon Shubert ;
- Gélose Cétrimide

- Gélose Mueller Hinton ;
- Bouillon Urée Indole ;
- Gélose Triple Sugar Iron (TSI).

**Solutions et réactifs :**

- Eau distillée stérile ;
- Réactif de kovacs, TDA, VPI et VPII ;
- L'huile de vaseline ;
- Sulfite de sodium ;
- Alun de fer ;
- Sélénite de sodium ;
- Eau de javel.

**Composition des différents milieux de culture :**

**-Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol (BCPL) : (g/l)**

	BCPL (S/C)	BCPL (D/C)
Extrait de viande	01	02
Peptone de caséine	07	14
Lactose	05	10
pH final	6,7±0,2	6,7±0,2

Autoclavé à 121°C pendant 15 minutes

**-Bouillon Shubert: (g/l)**

Peptone	10	Tryptone	10
Acide glutamique	0,2	Tryptophane	0,2
Sulfate de magnésium	0,7	Sulfate d'ammonium	0,4
Citrate de sodium	0,5	Chlorure de sodium	0,2
Mannitol	07	Lactose	10
Peptone bactériologique	10	Fushine basique	0,4
Agar	18	pH final	7

Autoclavé à 121°C pendant 15 minutes

**-Bouillon Roth: (g/l)**

	Roth (S/C)	Roth (D/C)
Peptone de caséine	20	40
Extrait de viande	1,5	3
Glucose	4	8

**-Bouillon EVA LITSKY: (g/l)**

Tryptone	20
Phosphate dipotassique	2,7
Acide de sodium	5
Ethyle violet	0,4
Glucose	5
Chlorure de sodium	2,7
pH final	6

Autoclavé à 124°C pendant 15 minutes

**-Gélose Viande Foie (VF) : (g/l)**

Base Viande-foie	30
D-Glucose	2
Ethyle violet	
Agar	8

**-Bouillon sélénite de sodium (SFB) : (g/l)**

	SFB (S/C)	SFB (D/C)
Chlorure de sodium	5	10
Phosphate dipotassique	27	54
Phosphate mopotassique	0,2	0,4
pH final	6,9±0,1	

### **-Eau Peptone Alcaline (EPA): (g/l)**

Protéase peptone	10
Peptone	10
Chlorure de sodium	5
Sodium thiosulfate	0,3
pH final	8,6

Autoclavé à 120°C pendant 15 minutes

### **-Gélose Nutritive Alcaline Biliée (GNAB) : (g/l)**

Peptone de viande	5
Extrait de viande	3
Chlorure de sodium	2
Bile de bœuf desséchée	18
pH final	8,6

### **-Gélose Nutritive (GN) : (g/l)**

Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Peptone	5
Chlorure de sodium	5
Agar	15
pH final	7,4

### **-Gélose Cétrimide : (g/l)**

Peptone de gélatine	16
Peptone de caséine	10
Bromure de tetradonium (Cétrimide)	0,2
Acide nalidixique	0,015
Sulfate de potassium	10
Chlorure de magnésium	1,4

## Annexe I

---

Agar	10
<b>-Gélose Hektoen : (g/l)</b>	
Proteose-peptone	12
Extrait de levure	3
Lactose	12
Saccharose	12
Salicine	2
Citrate de fer III et d'ammonium	1,5
Sels biliaires	9
Fushine d'acide	0,1
Bleu de bromothymol	0,065
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	5
Agar	14
<b>-Triple Sugar Iron (TSI) : (g/l)</b>	
Peptone de caséine	15
Peptone de viande	5
Extrait de viande	3
Peptone de levure	3
Chlorure de sodium	5
Lactose	10
Saccharose	10
Glucose	1
Citrate ammoniacal de Fer III	0,5
Thiosulfate de sodium	0,5
Rouge de phénol	0,024
Agar	12

### **-Gélose Mueller Hinton (MH): (g/l)**

Infusion de viande de bœuf déshydratée 300

Hydrolysat de caséine 17,5

Amidon de maïs 1,5

Agar 13

### **Composition des différents réactifs :**

#### **-Réactif de Kovacs : (g)**

Peptone bactériologique 10

Phosphate dipotassique 3,5

Lactose 10

Fushine basique 0,1

Agar 18

#### **-Sulfite de sodium à 10% :**

Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 7H<sub>2</sub>O (Hyperhydrate) 10g

Eau distillée 100ml

Ou

Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (Anhydride) 10g

Eau distillée 100ml

#### **-Alun de fer à 5% :**

Citrate ammoniacal (Alun de fer) 5g

Eau distillée 100ml

Station de traitement d'eau pour hémodialyse de l'hôpital de FRENTZ FANON



Figure 3 : Un disconnecteur



Figure 4 : Filtre à sable



Figure 5 : Filtre à charbon



Figure 6 : Adoucisseurs



Figure 7 : Testomat



Figure 8 : Osmose inverse



Figure 9 : Robinet de la station



Figure 10 : Station de traitement d'eau pour hémodialyse de la clinique IFRADJ

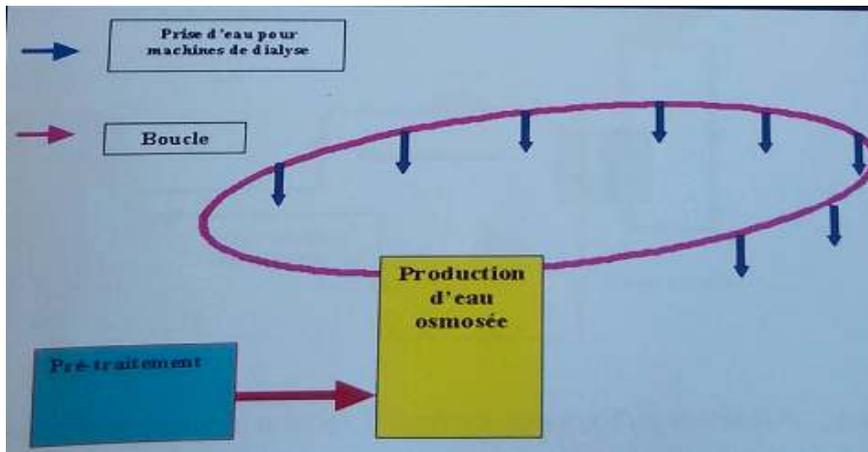
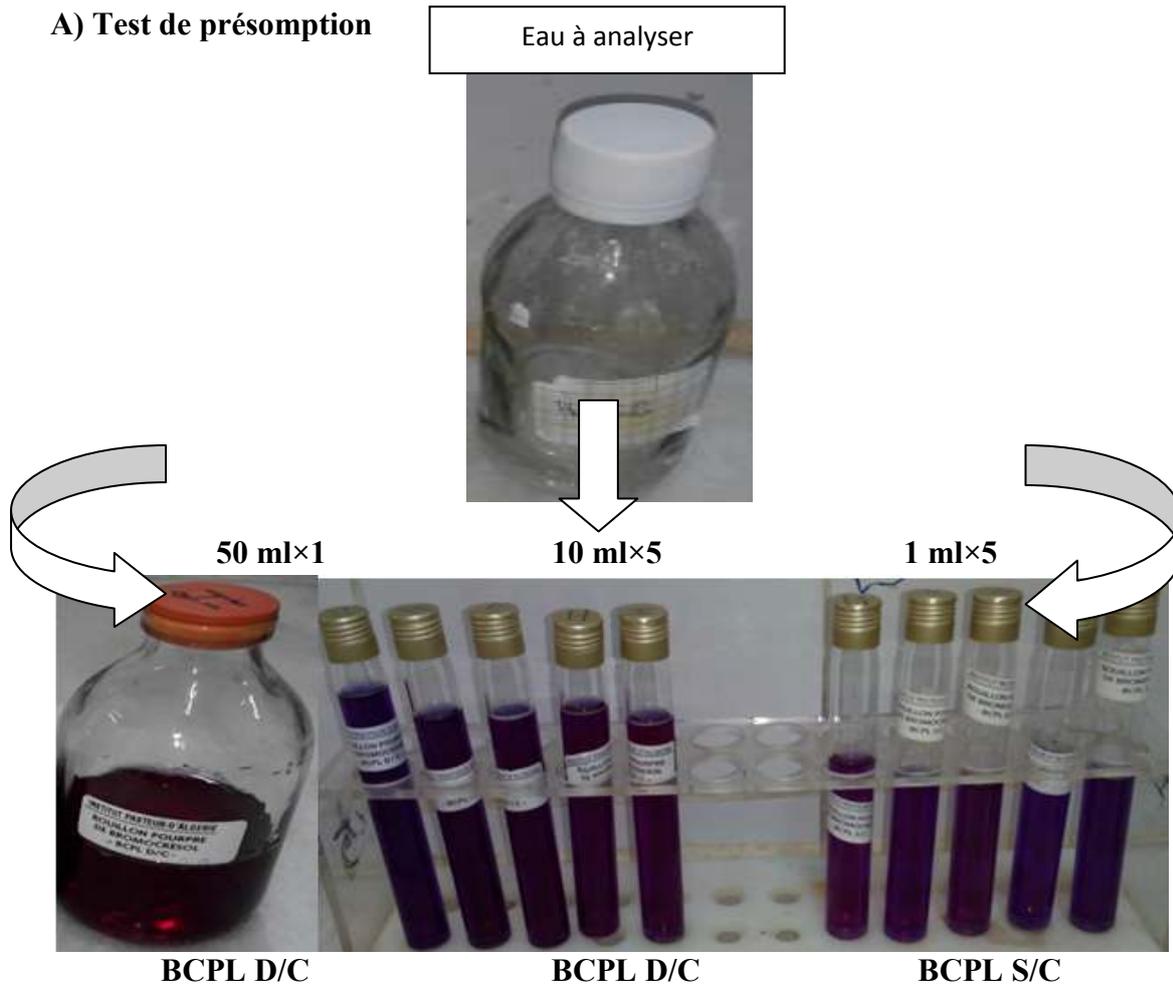


Figure 11 : Schéma de modélisation d'une boucle



Figure 12 : Test de chlore résiduel (cas positif)

A) Test de présomption



**Remarque:** Chasser le gaz présent dans les cloches avant l'incubation et dévissez légèrement les bouchons des tubes.

**Incubation :** à 37°C pendant 24 à 48h

**Résultat positif**



- Virage du couleur +
- Trouble +
- Dégagement de gaz +

**Résultat négatif**



- Virage du couleur -/+
- Trouble -/+
- Dégagement de gaz -

**Figure 13 :** Recherche des coliformes totaux par la méthode de NPP sur le milieu BCPL

**Illustration :** Noter le nombre des tubes positifs et se référer à la table de NPP



Le nombre caractéristique relatif au dénombrement des coliformes totaux est donc **120** ce qui correspond sur la table de NPP à **5 Coliformes totaux**.

**Figure 14 : Dénombrement des coliformes totaux par la méthode de NPP sur le milieu BCPL**

**B) Test de confirmation :**

Ajoutez quelques gouttes de réactif **Kovacs**

**Résultat positif**

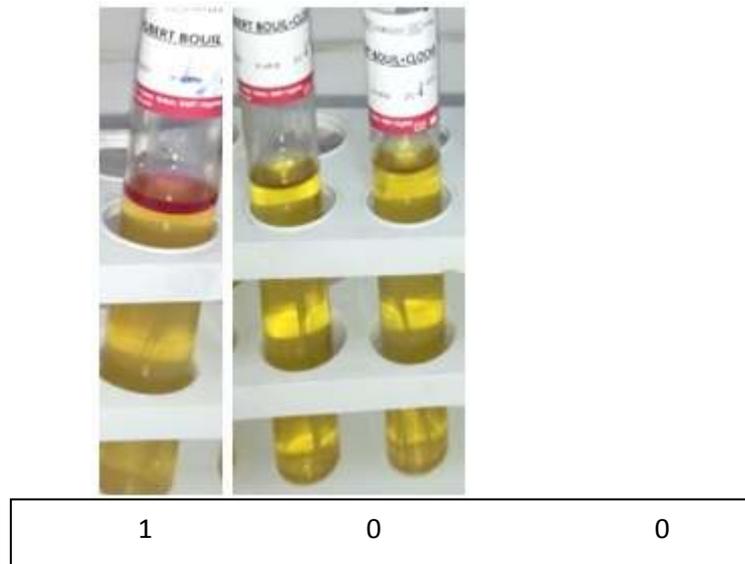
- Apparition d'un anneau rouge + (*Escherichia coli*)
- Dégagement de gaz

**Résultat négatif**

- Apparition d'un anneau rouge -
- Dégagement de gaz +/-

**Figure 15 : Recherche des Coliformes fécaux par la méthode de NPP sur milieu Schubert**

**Illustration :** Noter le nombre des tubes positifs et se référer à la table de NPP



Le nombre caractéristique relatif au dénombrement des coliformes fécaux est donc **100** ce qui correspond sur la table de NPP à **1** Coliformes fécaux.

**Figure 16 : Dénombrement des coliformes fécaux par la méthode de NPP sur le milieu Schubert et recherche d'*Escherichia coli***

A) Test de présomption

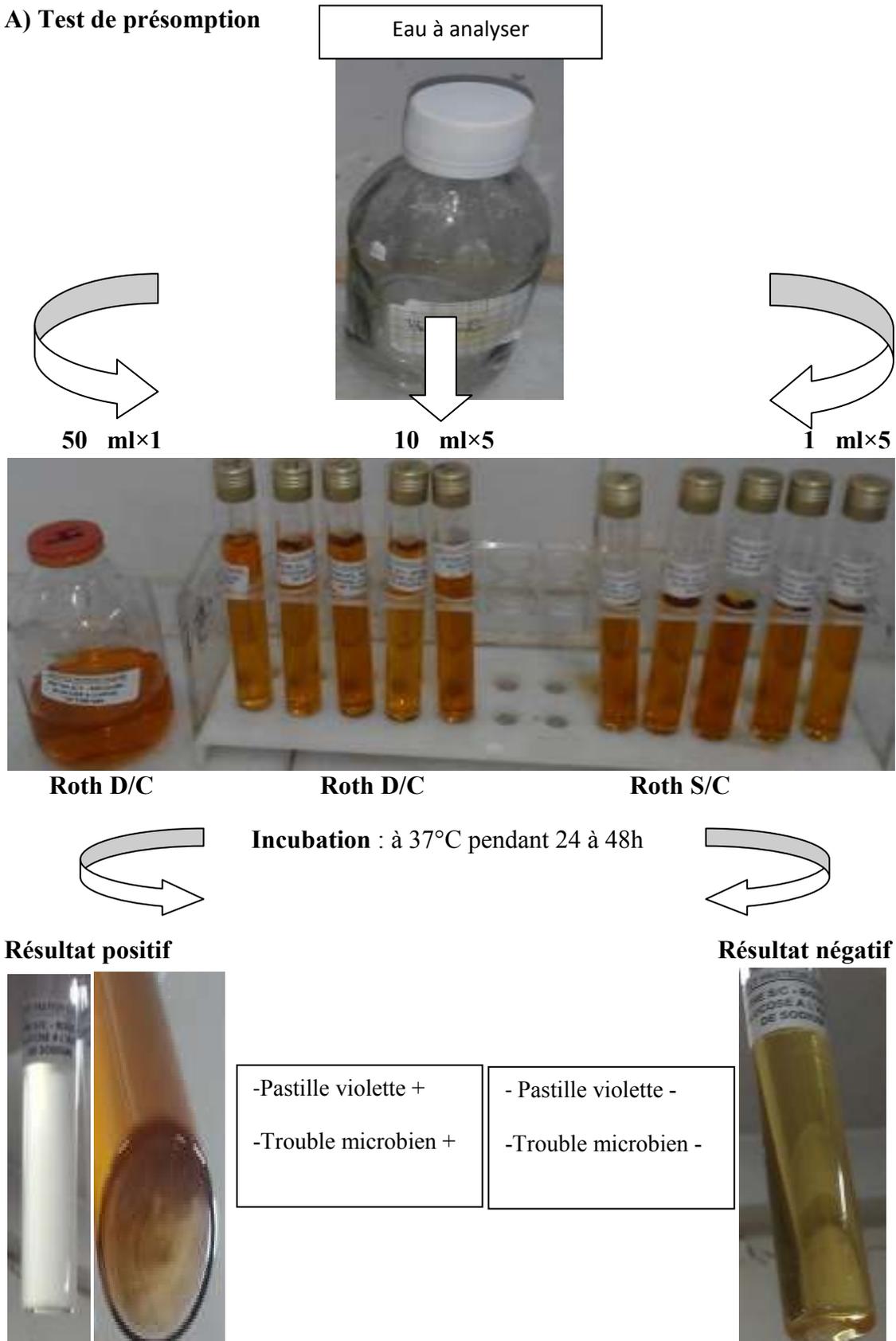
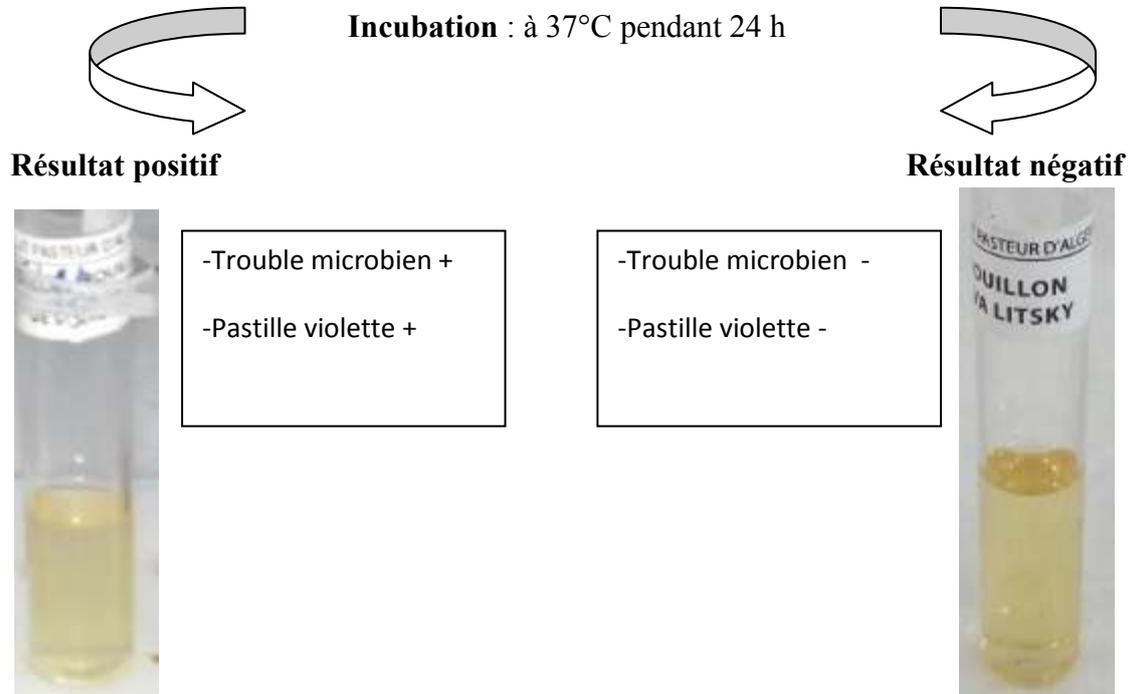


Figure 17 : Recherche des streptocoques fécaux par la méthode de NPP sur milieu Roth

**B) Test de confirmation**

A partir des tubes de milieu Roth positifs, repiquer les tubes de milieu Eva Litsky (5 à 6 gouttes = 1 ml)



**Illustration :** Noter le nombre des tubes positifs et se référer à la table de NPP



1	4	5		
---	---	---	--	--

Le nombre caractéristique relatif au dénombrement des streptocoques fécaux est donc **145** ce qui correspond sur la table de NPP à **43** streptocoques fécaux.

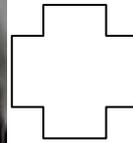
**Figure 18 : Dénombrement des Streptocoques fécaux par la méthode de NPP sur le milieu Eva Litsky**

**Premier enrichissement**

Eau à analyser

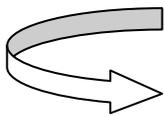


100 ml

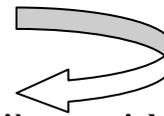


SFB D/C (100 ml)

Additif Sélinite de Sodium



**Incubation : à 37°C pendant 18 à 24h**



**Isolement**



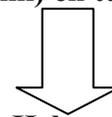
Gélose Hektoen 1



1 ml x 1 SFB (10 ml) en tube

**Incubation : à 37°C pendant 18 à 24h**

**Deuxième isolement (Gélose Hektoen 2)**



**Incubation :  
à 37°C  
pendant 18 à  
24h**

**Lecture finale : Résultat positif (Colonies grises bleues à centre noir)**

TSI ou Galerie API 20<sup>E</sup>...

**Confirmation**

Figure 19 : Recherche des Salmonelles

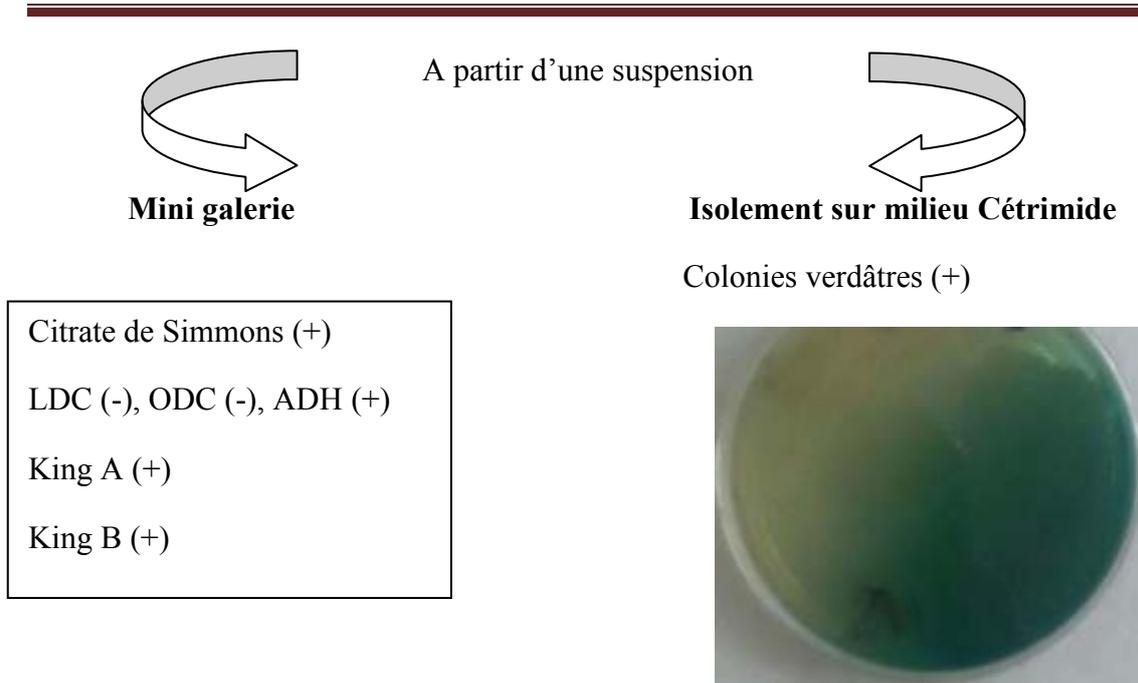


Figure 21 : Recherches des *Pseudomonas aeruginosa*

Eau à analyser

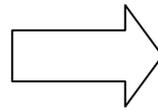


5 ml × 4

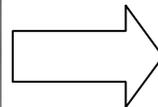


Chauffage à 80°C pendant 10 min

Refroidir immédiatement sous l'eau de robinet (Choc thermique)



Ajout de 18 à 20 ml de gélose VF (Additionner des additifs : Alun de Fer et Sulfite de Sodium) dans chaque tube.



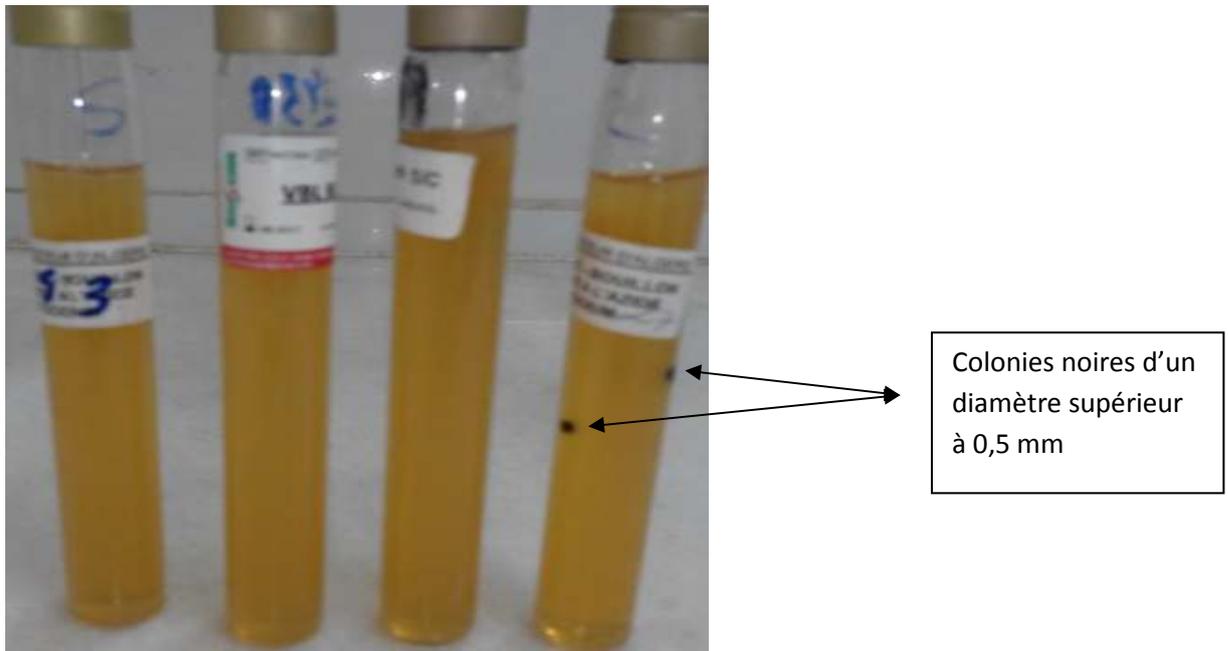
Mélanger, laissez solidifier et **Incuber** : à 37°C pendant 16, 24 à 48h

**Lecture** : Dénombrer toutes les colonies de couleurs noires d'un diamètre supérieur à 0,5 mm sur les 4 tubes.

**Figure 22 : Recherche des Clostridium sulfito-réducteur**

**Illustration :**

Rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser.



**2 spores/20 ml**

**Figure 23 : Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur**

**Premier enrichissement**

Eau à analyser



225 ml



**Eau Peptonnée Alcaline (EPA) 10 fois concentrée (25 ml)**

**Incubation : à 37°C pendant 18 à 24h**

**Premier isolement**

**Deuxième enrichissement**



**Gélose GNAB 1**

**1ml×EPA en tube**

**Incubation : à 37°C pendant 18 à 24h**

**Deuxième isolement (Gélose GNAB 2)**



**Incubation :  
à 37°C  
pendant 18 à  
24h**

**Lecture finale : Résultat positif (Colonies grosses lisses et transparentes)**

**Confirmation**

**KIA, LDC, ODC, ADH ...**

**Figure 24 : Recherches des *Vibrions cholériques***

API 20E	
<i>Chryseomonas luteola</i>	TB Id
T	0,54
ONPG	+
ADH	+
LDC	-
ODC	-
CIT	+
H <sub>2</sub> S	-
URE	-
TDA	-
IND	-
VP	-
GEL	+
GLU	-
MAN	-
INO	-
SOR	-
RHA	-
SAC	-
MEL	-
AMY	-
ARA	-
OX	-



Figure 27 : Logiciel d'identification  
par galerie API 20<sup>E</sup>

Figure 28 : Application des  
disques des antibiotiques

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION DE LA WILAYA DE BLIDA  
 ETABLISSEMENT PUBLIC DE SANTE DU PROXIMITE - OULED YACHIE  
 LABORATOIRE D'HYGIENE DE REFERENCE DE LA WILAYA DE BLIDA  
 TEL/FAX: 00 213 25 21 67, 67

BLIDA LE

ANALYSE DEMANDE PAR :  
 ECHANTILLON N°:  
 DATE DE PRELEVEMENT :  
 PROVENANCE :

RESULTATS DU CONTROLE BACTERIOLOGIQUE	CONCLUSION:
➤ NUMERATION	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: 80%;"> <b>QUALITE BACTERIOLOGIQUE</b> </div>
COLIFORMES TOTAUX : G/ 100 ML COLIFORMES FECAUX : G/ 100 ML STREPTOCOQUE GROUPE D : G/100 ML ANAEROBIE sulfite-réducteur : sp / 20 ML	<b>CHLORE</b> <span style="float: right;">mg/L</span>
<b>SALMONELLES :</b> <b>VIBRIO.CHOLERIQUE:</b>	DANS LES LIMITES QUI AUTORISE UNE ANALYSE BACTERIOLOGIQUE

LE CHIEF DE SERVICE

Figure 30 : Feuille de résultats de contrôle bactériologique

Tableau I : Le cadre réglementaire de l'eau pour l'hémodialyse

Date des normes	Normes relatives à l'eau pour l'hémodialyse
<b>Norme AFNOR NFS 93-310</b>	Définie le système de traitement et de distribution pour dilution des solutions concentrées pour l'HD.
<b>Publication d'un guide par le ministère de l'emploi et de la solidarité en Juin 2000</b>	Recommande l'établissement d'un système d'Assurance Qualité pour garantir un niveau de sécurité sanitaire satisfaisant, quelles que soient les différentes techniques adoptées pour le traitement d'eau.
<b>La circulaire DGS/DH/AFSSAPS N°2000/337 du 20 juin 2000</b>	Relative à la diffusion d'un guide pour la production d'eau pour l'HD des patients d'IR.
<b>La circulaire DGS/SD5D/SD7A-DHOS/E4/01 N°2001/518 du 29 octobre 2001</b>	Relative au renforcement des mesures de la vigilance en matière de la production et du traitement d'eau destinée à l'HD dans le cadre du plan VIGIPIRATE renforcé. Le taux de chlore total dans l'eau pour l'HD doit être inférieur à 0,1 mg/l.
<b>Pharmacopée Européenne 2005 (5<sup>ème</sup> édition)</b>	La qualité du traitement de l'eau doit être contrôlée trimestriellement par des analyses bactériologiques et physico-chimiques (surtout le dosage de Calcium et de l'Aluminium) qui doivent être effectuées par un laboratoire agréé.
<b>La circulaire N° DHOS/E4/AFSSAPS/DGS/2007/52 du 30 Janvier 2007</b>	Relative aux spécifications et à la sécurité sanitaire de la pratique de l'hémofiltration et de l'hémodiafiltration en ligne dans les établissements de santé a été appliquée.
<b>La parution en 2008 de la norme AFNOR NF S93-315</b>	La qualité des fluides pour HD, a marqué un progrès en définissant les critères de qualité microbiologique du dialysat mais sans toutefois prendre en compte l'importance du phénomène de rétrofiltration qui peut atteindre 3 l/h au niveau du dialyseur.
<b>La parution en Mai 2011 d'une norme générale par ISO 23500 sous forme d'un guide</b>	Fournit les recommandations nécessaires pour la production de l'eau pour l'HD et la préparation des liquides de dialyse.

Ragnon, 2004

Tableau V : Les principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action

Familles/ATB	Bactéries affectées	Mécanismes
<b>Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne</b>		
<b>β-lactamines</b>	CGP et CGN et BGP Entérobactéries Spirochettes Germe anaérobies (sauf <i>Bacillus fragilis</i> )	Ils se fixent sur les protéines enzymatique membranaires PLP (Protéine Liant la Pénicilline) et bloquent leur activité enzymatique ce qui entraîne l'inhibition de la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane.
<b>Vancomycine</b>	Bactéries à Gram positif	Ils inhibent la synthèse de la paroi des bactéries à Gram positif en se fixant sur l'extrémité D-Alanine-D-Alanine terminal des peptides et la masque pour inhiber la polymérisation. Ils sont bactéricides de façon lente. (Dufor et Fantin, 2003)
<b>Antibiotiques actifs sur les membranes</b>		
<b>Colistine</b>	BGN	Ils se fixent sur la membrane externe puis sur la membrane cytoplasmique, ce qui provoque la désorganisation de ces structures. Ils sont bactéricides.
<b>Antibiotiques inhibant la synthèse protéique</b>		
<b>Aminosides</b>	CGP et CGN. (Anglaret et Mortier, 2003)	Ils altèrent la traduction de l'ARNm, conduisant à la production de protéines anormales, l'incorporation de ces dernières dans la membrane cytoplasmique entraîne une altération membranaire. (Gaudy et Buxeraud, 2005)
<b>Tétracycline</b>	CGP et BGN Germe à développement intracellulaire. (Chopra et Roberts, 2001 ; yala et <i>al.</i> , 2001)	Ils se fixent de façon irréversible sur la sous unité 30S du ribosome ce qui provoque une interruption de la synthèse protéique. (Gaudy et Buxeraud, 2005)
<b>Macrolides</b>	Bactéries à Gram positif	Ils se fixent sur la sous unité 50S du ribosome et vont inhiber la synthèse protéique nécessaire au développement des bactéries. Ils sont bactéricides à forte doses intracellulaires. (Gaudy et Buxeraud, 2005)
<b>Phénicoles</b>	La plupart des bactéries aérobies et anaérobies Bactéries à développement intracellulaire. (Queneau, 1999)	Ils inhibent la synthèse protéique bactérienne en se fixant sur la sous unité 50S ribosomale empêchant ainsi l'élongation de la synthèse protéique. (Alain, 2000)
<b>Antibiotiques inhibant la synthèse ou la fonction d'ADN</b>		
<b>Quinolone</b>	Bacilles à Gram négatif	Ils inhibent l'ADN gyrase (enzyme intervenant dans la conformation de l'ADN) ce qui bloque la ta réplication et la transcription. (Graham, 2002)

(Bryskier, 1999 ; Gimenez et *al.*, 2000 ; yala et *al.*, 2001 ; Graham, 2002 ; Dufor et Fantin, 2003 ; Gaudy et Buxeraud, 2005)

Tableau VII : Table NPP ou table de Mac Grady

1 X 50 ml	5 X 10 ml	5 X 1 ml	Nombre caractéristique	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0,5	4
0	0	2	2	<0,5	6
0	1	0	1	<0,5	4
0	1	1	2	<0,5	6
0	1	2	3	<0,5	8
0	2	0	2	<0,5	6
0	2	1	3	<0,5	8
0	2	2	4	<0,5	11
0	3	0	3	<0,5	8
0	3	1	5	<0,5	13
0	4	0	5	<0,5	13
1	0	0	1	<0,5	4
1	0	1	3	<0,5	8
1	0	2	4	<0,5	11
1	0	3	6	<0,5	15
1	1	0	3	<0,5	8
1	1	1	5	<0,5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	100
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	100
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	>240		

Tableau IX : Table de lecture de la galerie miniaturisée API 20<sup>E</sup>

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
<b>LDC</b>	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
<b>ODC</b>	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
<b>CIT</b>	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/jaune	Bleu vert/vert
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/Fin liseré
<b>UREE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/immédiat	
			Jaune	Marron foncé
<b>IND</b>	Tryptophane	Production d'indole	IND/2 min, max	
			Jaune	Anneau rouge
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP1+VP2/10 min	
			Incolore	Rosé-rouge
<b>GEL</b>	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>RHA</b>	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MEL</b>	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>ARA</b>	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

Tableau X : Noms, abréviations et charge des disques d'antibiotiques utilisés

Famille d'antibiotique	Antibiotique	Abréviations	Charge du disque (µg)
<b>Beta-lactamines</b>	Pénicilline G	P	10
	Amoxicilline	AX/AMX	25
	Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	30
	Oxacilline	OX	5
	Ampicilline	AM/AMP	10
	Imipénème	IMP	10
	Céfazoline	CZ	30
	Céfotaxime	CTX	30
	Aztréname	AT	30
	Cefixime	CFM	5
	Ceftriaxome	CRO	30
	Piperacilline	PI	100
	Streptomycine	S	10
	Gentamycine	GEN	10
	Cefalexine	CX	30
<b>Aminosides</b>	Kanamycine	K	30
	Tobramycine	TOB	10
	Amikacine	AK	30
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol	C	30
<b>Tetracyclines</b>	Tétracycline	TE	30
	Linomycine	L	2
	Pristanamycine	PT/RP	15
	Doxycycline	DO	30
<b>Polypeptides</b>	Colistine	CL/CT	10
	Bacitracine	B	10
<b>Sulfamides et associations</b>	Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	SXT	25
<b>Quinolones</b>	Ofloxacin	OFX/OF	5
	Acide nalidixique	NA	30
	Norfloxacin	NOR	5
<b>Lincosamides</b>	Clindamycine	DA/CD	2
<b>Macrolides</b>	Erythromycine	E	15
<b>Divers</b>	Metronidazole	MET/MT	5
	Acide fusidique	FA/FC	10
	Vancomycine	VA	30

Tableau XI : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les Entérobactéries

Nom de l'espèce bactérienne	CMI	Concentration de l'antibiotique	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
			Z	I	S	Z	I	S
<b>Stréptococcaceae</b>								
<i>Streptococcus</i>	0,05U	100µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Streptococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Streptococcus</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-17	≥ 18	≥ 22	08	≥ 08
<i>Streptococcus</i>	0,2U	300µg	≥ 08	08-12	≥ 13	≥ 17	08	≥ 08
<i>Streptococcus</i>	0,12U	300µg	≥ 08	08-17	≥ 18	≥ 22	08	≥ 08
<i>Streptococcus</i>	0,12U	300µg	≥ 08	08-17	≥ 18	≥ 22	08	≥ 08
<i>Streptococcus</i>	0,12U	300µg	≥ 08	08-17	≥ 18	≥ 22	08	≥ 08
<i>Streptococcus</i>	0,12U	300µg	≥ 08	08-17	≥ 18	≥ 22	08	≥ 08
<b>Staphylococcaceae</b>								
<i>Staphylococcus</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Staphylococcus</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<b>Enterobacteriaceae</b>								
<i>Enterobacter</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Enterobacter</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<b>Shigellaceae</b>								
<i>Shigella</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Shigella</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<b>Salmonellaceae</b>								
<i>Salmonella</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Salmonella</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<b>Yersiniaceae</b>								
<i>Yersinia</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Yersinia</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<b>Other</b>								
<i>Other</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Other</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Other</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Other</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08
<i>Other</i>	0,05U	300µg	≥ 08	08-16	≥ 17	≥ 22	08	≥ 08

(RASRBA avec la collaboration de l'OMS, 6<sup>ème</sup> édition 2011)

**Tableau XII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa***

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcline	75 µg	≤ 14	—	≥ 15	≥ 128	—	≤ 84	Détecer une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'AZM (voir chapitre tests complémentaires).
Ticarcline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 14	—	≥ 15	≥ 128/2	—	≤ 64/2	
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	—	≥ 18	≥ 128	—	≤ 64	L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises. Cefazidime et Aztréonam : 1g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 – 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Impénème	10 µg	≤ 13	14 – 15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4	En cas de diamètre R ou I, détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires).
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 84	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Fostomycine **	50µg + 50µg G6P	< 14	—	≥ 14	> 32	—	≤ 32	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 <sup>4</sup> – ne pas prendre en compte la présence de colonies dans la zone d'inhibition
Rifampicine **	30 µg	< 14	14 - 18	≥ 19	> 16	16-8	≤ 4	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 <sup>4</sup>
Colistine	10µg	≤ 10	—	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2	

(RASRBA avec la collaboration de l'OMS, 6<sup>ème</sup> édition 2011)

**Tableau XIII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Vibrio cholerae***

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	Interprétation valable pour amoxicilline
Amoxicilline+Ac. clavulanique	20/10µg	—	—	—	—	—	—	Le disque d'AMC doit être appliqué près du disque de CTX : une image de synergie indique la présence d'une BLSE (voir chapitre « Tests complémentaires »).
Céfotaxime	30 µg	—	—	—	—	—	—	
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15 - 18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4	Interprétation valable pour doxycycline
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 8/152	4/76	≤ 2/38	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Colistine	10 UI	—	—	—	—	—	—	Intérêt diagnostique
Furanes *	300 µg	—	—	—	—	—	—	Lecture interprétative
Acide nalidixique	30 µg	—	—	—	—	—	—	Lecture interprétative
Composé vibriostatique 0/129	—	—	—	—	—	—	—	Intérêt diagnostique

(RASRBA avec la collaboration de l'OMS, 6<sup>ème</sup> édition 2011)

Tableau XIV : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Streptococcus sp*

Antibiotiques testés	Signe	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critique (ug/ml)	
			R	I	S	R	S
Lactamines : Pénicilline	P	1µg	--	--	≥20		
Aminosides : Gentamycine	GM	500µg	≤11	12-16	≥17	≥500	≤250
Glycopeptides: Vancomycine	VA	30µg	--	--	≥17	--	≤1
Macrolide : Erythromycine	E	15µg	≤15	16-20	≥21	≥1	≤0.25
Fluoroquinolones : levofloxacin	LEV	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	≤2
Lincosamides: Clindamycine	CM	2µg	≤15	16-18	≥19	≥1	≤0.25
Cyclines: Tétracycline	TE	30µg	≤18	19-22	≥23	≥8	≤2
Phénicoles: Chloramphénicol	C	30µg	≤20	--	≥21	≥8	≤4
Rifampicines: Rifampicine	RA	5µg	≤16	17-18	≥19	≥4	≤1
Sulfamides et associés: Triméthoprime / Sulfaméthoxazole	SXT	1.25/ 23.75µg	≤15	16-18	≥19	≥4/76	≤0.5/ 9.5
Ketolides: Telithromycine		15µg	≤15	16-18	≥19	≥4	≤1
Autres: Fosfomycine	FOS	50µg	≤14	--	≥14	≥32	≤32

Tableau XXII: Profil de résistance de toutes les souches isolées

ATB	Entero							Pseudo			Strepto		Vibrio
	1	2	3	4*	5	6	7	8	9*	10*	11	12	13
P	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R
AX/AMX	R	R	R	I	I	R	R	R	R	I	I	S	R
AMC		R		R			R			R			
OX	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AM/AMP	R	R		S		R	R			R	R	S	
IMP	S	S	S	S	S	S	R		S	S			S
CZ	R	R		R			R	R	S				
CTX		S	R	S	S		S		R				R
AT			S	S	S				I				S
CFM			R	S									
CRO			S	S	S								S
PI	S		S	S	S	S		S	S	S	R	S	S
S			R	S	I				I				S
GEN	S	S	S	S	S	S	S	S			S	S	
CX	R						S	R					
K	S	S	I	I			S	S					
TOB	S	S	S	S			S	S					
AK	S			S		S				I	R	S	
C	S	R	S	S	S	R	S	I	I	S	I	S	I
TE	S	R		R			R	S					
L	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R
RT/RP			S	S	S		R	I	I				I
DO			R	I									
CL/CT	I	I	I	I			S	I					
B			R	I	R				R				R
SXT		S		S	R		R		R				R
OFX/OF	I	S	S	I	S	S	S	S	S	S	I	S	S
NA			S	I	S				I				I
NOR	S	S	S	I									
DA/CD	R	R	R	R	R	R	R	S	R				R
E	I		S	S	S	R			I	R	R	R	I
MET/MT	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
FA/FC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	I	S	R
VA	R	R	R	I	I	R	R	R	R	R	S	S	R

R : Résistante

S : Sensible

I : Intermédiaire

\* : 02 souches isolées avec un profil de résistance identique

1: *Citrobacter freundii*-2: *Citrobacter koseri/amalonaticus*-3: *Serratia rubidaea*-4: *Enterobacter sakazakii*-5: *Leclercia adecarboxylata*-6: *Shigella spp*-7: *E.coli*-8: *Chryseomonas luteola*-9: *Stenotrophomonas maltophilia*-10: *Flavimonas horyzihabitans*-11 et 12: Streptocoques groupe D-13: *Photobacterium damsela*

**Tableau XXIII: tableau indiquant le passage dans les différentes stations d'hémodialyse**

N° d'éch	Site de travail	Test de chlore		C.T	C.F	S.F	S	P.a	ASR	V.C	Qualité de l'eau
		0,1mg/l	0								
1	1		-	0	0	0	Absence	Absence	Absence	Absence	BQB
2	2		-	01	0	0					BQB
3	3		-	0	0	0					BQB
4	4		-	01	0	0					BQB
5	1		-	0	0	0					BQB
6	2		-	0	0	0					BQB
7	3		-	0	0	0					BQB
8	4		-	0	0	0					BQB
9	1		-	0	0	0					BQB
10	2		-	0	0	0					BQB
11	3		-	02	0	0					BQB
12	4		-	>240	0	0					MQB
13	1	+		0	0	0					BQB
14	2	+		>240	0	0					MQB
15	3	+		01	0	0					BQB
16	4		-	05	0	0					BQB
17	1		-	0	0	04					BQB
18	2		-	43	0	43					MQB
19	3		-	01	0	0					BQB
20	4		-	04	01	0					BQB
21	1	+		0	0	0			BQB		
22	2	+		21	0	0			2 sp		MQB
23	3	+		>240	>240	0			MQB		
24	4	+		0	0	0			Absence		BQB
25	1		-	0	0	0					BQB
26	2		-	07	0	04					BQB

## Annexe III

27	3		-	05	0	0					BQB
28	4		-	04	0	0					BQB
Total		07	21	815	241	51	Abs	Abs	2 sp	Abs	

1 : Hopital Frantz Fanon      2 : Clinique Sidi Abdel Kader      3 : Clinique LILIA

4 : Clinique IFRADJ