

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité :Génie de l'Environnement

Intitulé du mémoire

Contrôle de la qualité bactériologique des eaux en milieu hospitalier

Présenté par :

M^{lle} DJOUDI Amel

M^{me} KADEM Meriem

Encadreur :

BENABBOU Amina

Co_encadreur :

Pr. BADIS Abdelmalek

Année universitaire 2017/2018

ملخص

اجرينا مراقبة بكتيرية للمياه المخصصة للاستهلاك البشري في أربعة مستشفيات في منطقة الجزائر. لهذا ، قمنا أولاً بترشيح غشائي ، يليه تعداد متبوع بتحديد هوية البكتيريا المعزولة.

كشف التحليل الميكروبي لأنواع المختلفة للمياه عن تجاوز حدود القبول التي أوصت بها القوانين الجزائرية.

تم تحقيق حساسية سلالات من 27 معزولة من المياه للمضادات الحيوية والمطهرات عن طريق طريقة نشر آجار.

وكانت الميكروبات المعزولة الرئيسية: *Pseudomonas*, *Klebsiella pneumoniae* ,

, *Burkholderia cepacia* , *aeruginosa* لخطر عدوى المستشفيات الكبرى.

كانت جميع المطهرات فعالة في شكلها النقي ، ومع ذلك ، كانت جميع السلالات التي تم اختبارها مقاومة عند تعقيمها من التخفيفات < 10%.

كلمات مفتاحية: المياه ، والتحكم البكتريولوجي ، والمضادات الحيوية ، والمطهرات ، والتهابات المستشفيات ، مستشفى ، الجزائر

Résumé :

Nous avons mené un contrôle bactériologique des eaux destinés à la consommation humaine, au niveau de quatre hôpitaux de la région d'Alger. Pour cela, nous avons procédé d'abord une filtration sur membrane, puis un dénombrement suivi d'une identification des bactéries isolés.

L'analyse microbienne des différents types d'eau a révélé un dépassement des limites d'acceptabilité préconisées par la réglementation Algérienne.

La sensibilité des 27 souches isolées de l'eau vis-à-vis des antibiotiques et des produits désinfectants, a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose. Les principaux micro-organismes isolés étaient : *Klebsiella pneumoniae* , *Pseudomonas aeruginosa* et *Burkholderia cepacia* qui présentent un risque d'infection nosocomial majeur.

Tous les produits désinfectants étaient efficaces à l'état pur, cependant, tous les souches testés ont été résistants lorsque le désinfectant à partir des dilutions >10%.

Mots clés : Eaux, contrôle bactériologique, Antibiotiques, Désinfectant, Infections

Nosocomiales, Hôpital, Alger

Abstrat :

We conducted bacteriological monitoring of water intended for human consumption at four hospitals in the Algiers region. For this, we first carried out membrane filtration, followed by enumeration followed by identification of the isolated bacteria.

The microbial analysis of the different types of water revealed an exceeding of the limits of acceptability recommended by Algerian regulations.

The sensitivity of the 27 isolated strains of water to antibiotics and disinfectants was achieved by the agar diffusion method. The main microorganisms isolated were: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*, which present a risk of major nosocomial infection.

All disinfectants were effective in pure form, however, all strains tested were resistant when disinfectant from dilutions > 10%.

Keywords: Water, bacteriological control, Antibiotics, Disinfectant, Nosocomial Infections, Hospital, Algiers

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail.

الحمد لله

Nous remercions chaleureusement, notre promotrice, Madame Benabou Amina pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses précieux conseils, pour son assistance bien matérielle que morale, pour son aide et son soutien, sa gentillesse, , , , tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

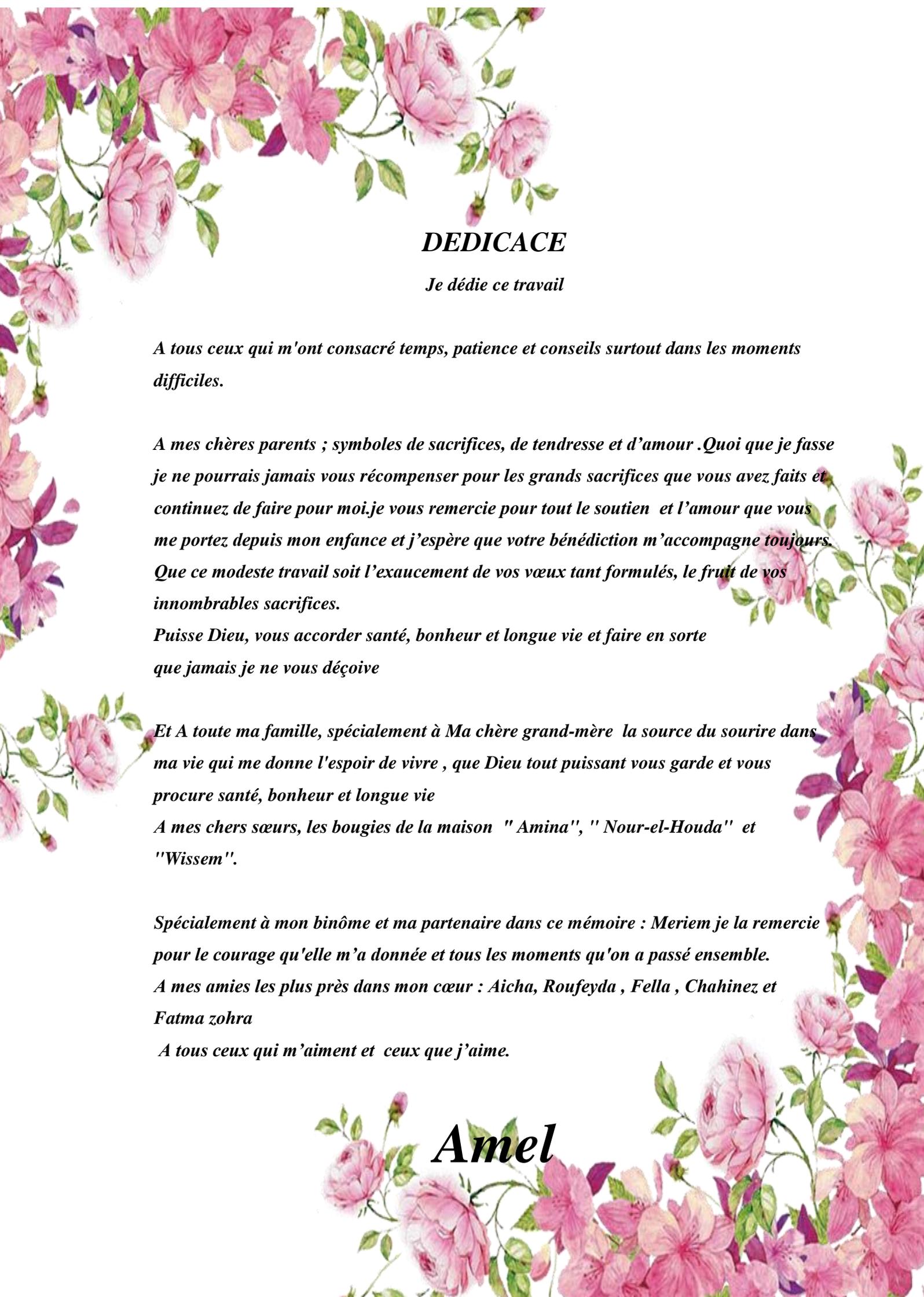
Nous remercions également, Monsieur le co-promoteur «Badis Abdelmalek», professeur en Microbiologie de l'environnement à l'Université de Saad dahleb Blida, , pour sa rigueur scientifique, et son aide au cours de ces 3 années.

Mes remerciements s'adressent également A tout le personnel du laboratoire de bactériologie des eaux des aliments et de l'environnement, pour leur collaboration, leur esprit d'équipe, leur professionnalisme, leur sympathie et leurs conseils, notamment :

Dr ALAMIR Hannane, Mme BelkaderChafika, Mr kiasFarid ,M^{lle} OUDINA Hadjer , DR BOUHERRAOUA Amina ,Mme SAIBI Nadjat, Dr ZEGAI Idriss, Mr HAFERSSAS Yacine, Mme Fatima Zohra , Mme Nora,

Nous tenons particulièrement à remercier Dr Ait Amir médecin épidémiologiste.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail. Nous les remercions du fond du cœur.



DEDICACE

Je dédie ce travail

A tous ceux qui m'ont consacré temps, patience et conseils surtout dans les moments difficiles.

A mes chères parents ; symboles de sacrifices, de tendresse et d'amour .Quoi que je fasse je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi. je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive

Et A toute ma famille, spécialement à Ma chère grand-mère la source du sourire dans ma vie qui me donne l'espoir de vivre , que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie

A mes chers sœurs, les bougies de la maison " Amina", " Nour-el-Houda" et "Wissem".

Spécialement à mon binôme et ma partenaire dans ce mémoire : Meriem je la remercie pour le courage qu'elle m'a donnée et tous les moments qu'on a passé ensemble.

A mes amies les plus près dans mon cœur : Aicha, Roufeyda , Fella , Chahinez et Fatma zohra

A tous ceux qui m'aiment et ceux que j'aime.

Amel



DEDICACE

Je dédie ce travail

A tous ceux qui m'ont consacré temps, patience et conseils surtout dans les moments difficiles.

A mes chères parents ; symboles de sacrifices, de tendresse et d'amour .Quoi que je fasse je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi. je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive

A Ma belle-famille spécialement a ma belle-mère .

A mon cher Mari ma moitié, l'homme de valeur, mon mentor, mon soutien et mon équilibre, qui je le trouve toujours à mes côtés, qui m'a toujours encouragé et qui a été compréhensif et patient.

A mon fils ADEM, qui a donné un sens à ma vie, que ce travail soit pour toi un exemple à suivre.

Et A toute ma famille ,Mon unique petit frère Abd El Djilil

*A mes chers sœurs, les bougies de la maison " Chourouk ", " Milade ", "Souad "
Et "Fatma zahra ".*

Spécialement à mon binôme et ma partenaire dans ce mémoire : Amel , je la remercie pour le courage qu'elle ma donnée et tout les moments qu'on a passé ensemble.

A mes amies les plus près dans mon cœur : yasmine ,Adila , Salma , mawia et joher

A touer ceux qui m'aiment et ceux que j'aime.

Meriem

TABLES DES MATIERES

DEDICACE

REMERCIEMENTS

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction1

Partie I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER.....1

1.1.Risques infectieux liés à l'environnement Hospitalier.....1

1.2.La surveillance microbiologique de l'environnement1

1.3.L'eau dans les établissements de santé.....2

1.4.Dangers et risques liés à l'utilisation de l'eau dans les établissements de santé..4

1.5. Les infections nosocomiales (IN)6

CHAPITRE 2 : CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU A L'HOPITAL...8

3.1.Les bactéries indicatrices de contamination fécale.....8

3.2.Bactéries spécifiques.....9

CHAPITRE 3 : RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES.....11

4.1. Définition de la résistance aux antibiotiques.....11

4.2.Les antibiotiques11

PartieII : MATERIELS ET METHODES

Matériels :

- 1. Matériels non biologiques12**
- 2. Matériels biologiques13**

Méthodes :

- 1. Echantillonnage et prélèvement d'eaux14**
- 2. Transport et Conservation des échantillons au laboratoire.....14**
- 3. Analyse Bactériologique14**
- 4. Identification biochimique21**
- 5. Conservation de souches isolées25**
- 6. Etude de l'efficacité des désinfectants à usage hospitalier sur la croissance des
de références25**
- 7. Antibiogramme de souches isolées27**

Partie III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

- 1. Analyse bactériologique de l'eau des établissements de santé28**
- 2. Identification biochimique des souches isolées de l'eau utilisée à l'hôpital.39**
- 3. Etude du profil de résistance aux antibiotiques des souches isolées.....41**
- 4. Evaluation de l'efficacité des produits désinfectants sur des souches de
références46**

CONCLUSION.....50

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

LISTE DES ABREVIATIONS

OMS : Organisation Mondiale de la sante

IN : Infections Nosocomiale

ECDC : European Center For Disease

PED : pays en voie de développement

USA :Etats Unis d'Amérique

WHO : WORLD HealthOrganization

CLIN : Comite de lutte Contre Infections Nosocomiales

IPA : Institut Pasteur D'ALGER

CMI : Concentration Minérale inhibitrice

ETP :Ertapeneme

C :Chloranphenicol

CN :Gentamicine

AK :Amikacine

IPM :Imipenem

CTX :Cefotaxine

F :Furanes

CIP :Ciprofloxacine

CAZ :Ceftazidine

AMC :Amoxiciline .Ac.clavulanique

KF : Cefalotine

NA : Ac.nalidixique

FOX :Cefoxitine

KZ : Cefazoline

ATM :Aztreonem

AMP :Ampicilline

CT :colistine

SXT :Trimethoprim + sulfamethozale

TOB :Tobramycine

PRL :Piperacilline

TIC :Ticarcilline

NET :Netilmicine

TE :Tetracycline

CRO : Ceftriaxone

P :penicilline

E :Erythromycine

INTRODUCTION

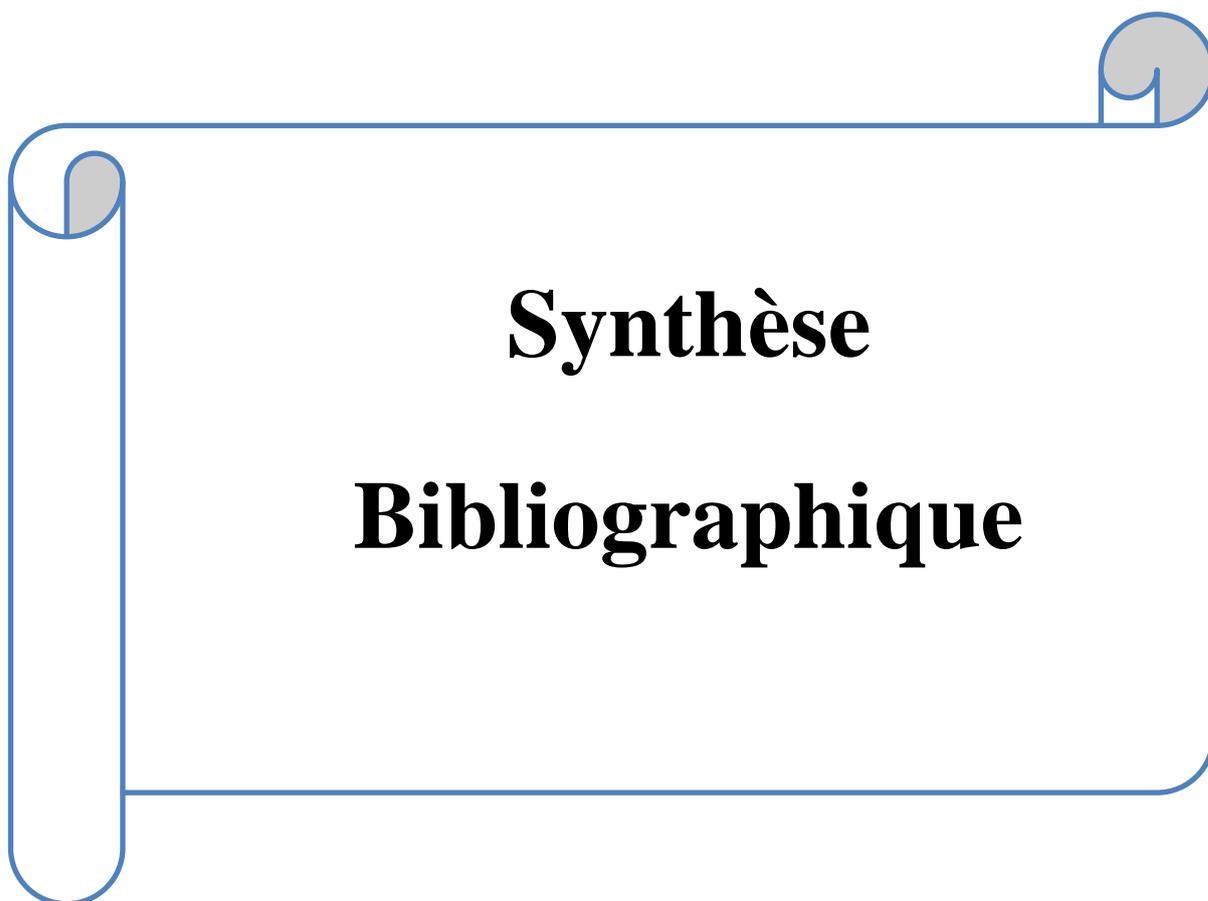
«L'eau, c'est la vie» ; cette affirmation prend un sens tout particulier à l'hôpital où ce fluide est un élément essentiel de l'hygiène, pour chaque malade, l'hôpital consomme chaque jour environ un mètre cube d'eau, soit autant que quatre individus dans la vie courante. La distribution d'une importante quantité d'eau de bonne qualité sera donc nécessaire en permanence ; les patients sont fragiles et la flore microbienne dont l'eau peut être le vecteur représente pour eux un risque potentiel [1]

A l'échelle mondiale, 4% de décès et 5,7% de la charge de morbidité sont causées par des maladies infectieuses d'origine hydrique [2]. La lutte contre ces maladies liées à l'eau d'alimentation reste un enjeu majeur dans les pays en voie de développement, où les diarrhées sont la 2^e cause de mortalité infantile. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) affirme régulièrement que la qualité bactériologique de l'eau reste la première préoccupation de santé publique à l'échelle mondiale. C'est pourquoi la maîtrise de la qualité de l'eau, fait l'objet d'une attention toute particulière dans la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de soins.

La découverte et l'utilisation clinique de la pénicilline au début des années 40, nous a longtemps permis de considérer les antibiotiques comme étant les armes puissantes qui sauraient éradiquer toute maladie infectieuse d'origine bactérienne. Toutefois, La résistance aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses, le rendant ainsi difficile et parfois impossible.

Cette résistance pourrait être due à l'utilisation massive et systématique des antibiotiques, que ce soit dans le domaine médical ou agroalimentaire. Elle est devenue une menace à l'échelle planétaire, prise très au sérieux par les autorités sanitaires qui, comme l'OMS, commencent à multiplier les mises en gardes et les plans d'action, les bactéries peuvent aussi acquérir une résistance de plus en plus importante aux désinfectants, à chaque fois qu'ils sont utilisés avec le même produit et avec la même concentration [3-4].

Le défi auquel nous sommes confrontés aujourd'hui est de ralentir l'apparition de la résistance. C'est dans ce contexte que ce mémoire a été réalisé, nous avons pour objectif l'évaluation de la contamination des eaux utilisées en milieu hospitalier, ainsi que l'étude de la résistance des souches isolés aux antibiotiques. et l'efficacité des désinfectants utilisée.



Synthèse

Bibliographique

CHAPITRE 1

L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER

1.6. Risques infectieux liés à l'environnement Hospitalier:

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des micro-organismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux [5-6]

Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et, au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins et techniques pratiqués.

Les microorganismes présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés (bactéries, levures, champignons filamenteux, virus et parasites) et peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes qui ne manifestent leur virulence que sur un organisme dont les défenses immunitaires sont affaiblies, qu'aux espèces habituellement pathogènes pour l'homme.

1.7. La surveillance microbiologique de l'environnement :

Dans les établissements de santé la surveillance microbiologique de l'environnement (eaux, air et surfaces) est un des éléments de la maîtrise des risques sanitaires d'origine environnementale, c'est le sujet qui s'intègre dans l'actualité de la prévention des infections nosocomiales avec l'impact médiatique lié aux épidémies récentes d'infections.

Pourtant, en dehors de quelques situations bien Documentées, la place réelle de l'environnement comme source d'infection nosocomiale est encore mal appréhendée et beaucoup de connaissances restent à acquérir dans ce domaine. Ces incertitudes imposent la mise en oeuvre d'une maîtrise de l'environnement bien ciblée sur des actions ayant démontré leur pertinence et leur impact sur la diminution des infections nosocomiales. Les contrôles microbiologiques de l'environnement sont un des outils de mesure qui permettent d'évaluer une situation de départ et l'efficacité de mesures correctives. Ils doivent être mis en oeuvre de façon pertinente et obéir à des objectifs très précis tout en évitant une inflation d'analyses inutiles, consommatrices de temps et de moyens financiers.

[7

1.3. L'eau dans les établissements de sante

1.3.1. Généralités:

L'eau intervenant dans l'établissement de santé dans de nombreux actes (consommation, toilette des patients, désinfection du matériel, soins...) et constituant un réservoir pour de nombreux microorganismes qui sont généralement pathogènes et sont considérés comme des facteurs de risque susceptibles de nuire à la santé du corps soignant et des patients hospitalisés particulièrement les patients fragilisés ou immunodéprimés [4]

1.3.2. Eaux ne subissant aucun traitement au sein de l'établissement de santé :

Il s'agit des eaux destinées à des usages alimentaires, sanitaires et de soins, provenant du réseau d'adduction publique ou d'un réservoir à l'intérieure, et n'ayant subi aucun traitement au sein de l'établissement de santé [1]

➤ Eaux à usage alimentaire

Au point d'usage Elle est définie comme celle étant consommée ou utilisée directement par toute personne au sein de l'établissement...Ces eaux sont destinées à des usages alimentaires, soins, l'hygiène, et sanitaires, Elles comprennent également les eaux mises à disposition des patients.

- Cadre de la réglementation Algérienne:

Elle doit satisfaire au minimum aux prescriptions définies dans le journal officiel de la république ALGERIENNE N° 13 (7 Jomada El Oula 1435 /9 mars 2014) relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine par le Décret exécutif n°14-96 du 2 Jomada El Oula 1435 correspondant au 4 mars 2014. En respect de la réglementation le contrôle bactériologique de l'eau repose sur la recherche des bactéries citées dans le tableau suivant:

Tableau 1.1 : Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine avec valeurs limites en Algérie.

	Paramètres	Unités	Valeurs limites
Paramètres Microbiologiques	E.Coli	n/100ml	0
	Entérocoques	n/100ml	0
	Bactéries Sulfito-Réductrices y compris les spores	n/20ml	0

n : nombre de colonies UFC /L

Une surveillance régulière de la qualité de l'eau doit être respectée par les responsables des établissements de santé. Selon « l'instruction N°6 du 17 FEV 2016 relative à l'application des directives nationales concernant l'hygiène de l'environnement dans les établissements de santé publics et privés ». Qui Précise “ la mise à disposition d'une eau de qualité, en quantité et en continu avec un contrôle rigoureux et régulier » ;

- Cadre de la réglementation Européen

La directive européenne 98/83/CE du 3 novembre 1998, relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine constitue le cadre réglementaire européen en matière d'eau potable. Cette directive s'appuie sur les recommandations de l'OMS : Organisation Mondiale de la santé (deuxième édition, 1993-1997) qui propose des valeurs guides. Elle s'applique à l'ensemble des eaux destinées à la consommation humaine, à l'exception des eaux minérales naturelles et des eaux médicinales. Elle concerne notamment les eaux fournies par un réseau de distribution public ou privé et les eaux conditionnées.

- Cadre de la réglementation Française

Sont définies par les articles R. 1321-1 à R. 1321-5 du code de la santé publique et fixées par l'arrêté du 11 janvier 2007 du ministère de la Santé et des Sports, relatif aux limites et référence de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine.

Tableau 1.2 : Limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine (annexe I.I.A de l'arrêté du 11 janvier 2007)

Germes	Concentration
E.Coli	Absence dans 100ml
Entérocoques	Absence dans 100ml

Tableau 1.3 : Références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine (Annexe I.II.A de l'arrêté du 11 janvier 2007)

Germes	Concentration
Bactéries sulfite-réductrices	Absence dans 100ml
Bactéries Coliformes	Absence dans 100ml
Germes revivifiables à 22C° et 37C°	Numération

1.3.3. Eaux spécifiques traitées au sein de l'établissement de santé :

➤ L'eau pour la dilution des solutions concentrées pour hémodialyse

L'eau pour hémodialyse est codifiée par la Pharmacopée Européenne. Son intitulé exact est : "eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse ", cette eau se caractérise par son utilisation massive et sa préparation extemporanée.

Chaque dialyse dure entre 5 et 8 heures : avec un débit moyen minimal de un demi-litre par minute, l'utilisation d'eau pour un patient, sous dialyse deux fois par semaine, est approximativement de 25 000 litres au minimum par an (alors qu'il n'en consommera pour un usage alimentaire que 530 litres/an (consommation quotidienne de 1,5 L/jour).

Le liquide de dialyse est constitué de 3% de concentré de dialysat et de 97% d'eau.

Le processus d'épuration s'effectue majoritairement par diffusion des déchets du métabolisme et des électrolytes du sang vers le liquide de dialyse. Cette diffusion se produit également en sens inverse, ce qui fait courir au malade un risque toxique et/ou infectieux aigu ou chronique dont la sévérité et la rapidité de survenue sont fonction de la nature et de l'importance quantitative de l'impureté dans le dialysat [9]

La qualité des eaux utilisées en dialyse est essentielle pour le traitement des patients insuffisants rénaux. Ainsi, au cours des années, ont été mis en évidence les risques à certaines bactéries. [10]

Cette eau est notamment utilisée pour la boisson et pour les préparations alimentaires non cuites, destinées aux malades immunodéprimés.

1.4. Dangers et risques liés à l'utilisation de l'eau dans les établissements de santé

1.4.1. Risque infectieux:

Les micro-organismes responsables d'infections (bactéries, virus, parasites...) peuvent être saprophytes, opportunistes ou pathogènes selon les cas.

Le degré de gravité des manifestations pathologiques liées à l'eau est très variable: il va de gastro-entérites plus ou moins graves et des parasitoses (risque fécal en général), à des atteintes cutanées ou pulmonaires parfois fatales.

➤ **Les infections à tropisme digestif**

Les pathologies digestives qu'ils sont susceptibles de provoquer sont avant tout communautaires et très rarement nosocomiales. C'est le cas des gastro-entérites et des diarrhées dues à des virus, certaines bactéries sont plus spécifiques au milieu hospitalier : *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas* ou *Clostridium difficile* car elles s'attaquent à des sujets immunodéprimés.

➤ **Les infections respiratoires**

Les infections respiratoires liées à l'inhalation d'aérosols contaminés sont dues le plus souvent à des bactéries gram négatif comme, par exemple *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter*. Elles sont plus particulièrement susceptibles d'affecter des patients immunodéprimés ou des patients dont les parois des cellules épithéliales bronchiques ont été altérées.[11]

➤ **Les infections cutanéomuqueuses**

Ces infections liées à un contact direct avec de l'eau contaminée, peuvent conduire à des septicémies en particulier en chirurgie à cœur ouvert. Les germes en cause sont typiquement hydriques *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*. [11]

➤ **Les infections ostéoarticulaires**

L'inoculation de *Mycobacterium xenopi* au contact de l'os par le biais de matériel de chirurgie endoscopique rincé avec de l'eau en contenant, a provoqué des infections osseuses invalidantes. [11]

1.5. Les infections nosocomiales (IN) :

L'eau de boisson doit pouvoir être consommée sans risque, Même de l'eau de qualité conforme aux critères reconnus peut transporter des micro-organismes potentiellement pathogènes.

2.5.1. Définition

Le Center for Disease Control (Atlanta, Etats-Unis) a défini en 1988 la notion d'infection nosocomiale de la manière suivante:

« toute maladie provoquée par des micro-organismes, contractée dans un établissement de soins par tout patient après son admission, soit pour hospitalisation, soit pour y recevoir des soins ambulatoires, que les symptômes apparaissent lors du séjour à l'hôpital ou après, que l'infection soit reconnaissable aux plans clinique et microbiologique, données sérologiques comprises, ou encore les deux à la fois. Ces caractéristiques concernent aussi les personnels hospitaliers en raison de leurs activités. »

2.5.2. Infections Nosocomiale dans le monde

Les IN constituent actuellement un problème majeur de santé publique, aucune institution ou pays n'est épargné .Sur la base de données dans de nombreux pays, le nombre est estimé en centaines de millions de patients chaque année à travers le monde, causant des pertes humaines, prolongation de l'hospitalisation des patients et augmentation du coût de traitement et de la prise en charge des patients. [Vaubourdolle, 2007].

Un rapport de OMS, rapporte que 4,5% des patients nouvellement admis dans un hôpital, dans les pays industrialisés, seront touchés par une IN [WHO, 2011].

L'European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) estime ainsi que 4 131 000 patients en Europe ont développé une IN en 2008, pour un total de 4 544 100 épisodes infectieux [Klevens et al.,2002]

Aux Etats Unis d'Amérique (USA), 1,7 million de patients ont été touchés en 2002.

Dans les pays en voie de développement (PED), la prévalence des IN est plus élevée, et est de l'ordre de 10 à 15% des patients hospitalisées [WHO, 2011]

De nombreuses enquêtes de prévalence menées dans les hôpitaux de plusieurs pays du monde ont montré que le nombre d'infections nosocomiales est très élevé et alarmant.

Une de ces études, coordonnée par le réseau NosoMed, et menée dans 27 hôpitaux de 5 pays (Algérie, Egypte, Italie, Maroc et Tunisie), a montré que la prévalence des infections nosocomiales dans la région méditerranéenne était de 10,5 % [13]

2.5.3. Infection Nosocomiales en Algérie

Signalons qu'en Algérie très peu de données sur l'ampleur nationale des infections nosocomiales sont disponibles, à l'exception de quelques études locales, à l'échelle de certains établissements de soins. Les infections nosocomiales restent ainsi un problème méconnu et non perçu comme une priorité. Malgré la disponibilité de différents matériels de stérilisations et d'hygiènes dans les établissements de santé.

L'architecture réglementaire repose en effet sur l'arrêté ministériel n°12 du 28 mars 1998 portant création du comité national d'hygiène hospitalière, malgré l'existence de ces textes réglementaires, les programmes de surveillances des infections nosocomiales ne sont pas structurés et coordonnés autour d'un programme national.

Les actions engagées par quelques services hospitaliers ont permis de réduire la prévalence des infections nosocomiales. En 2008 au CHU de Tizi Ouzou, elle était de 7,4% contre plus de 12% en 2004. Le comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) avec ses démembrements au niveau des services hospitaliers y est pour beaucoup dans cette performance, même si beaucoup reste à faire dans le domaine. [14]

CHAPITRE 2

CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU A L'HOPITAL

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes soit, ce qui est souvent plus aisé, celles qui les accompagnent et qui sont en plus grand nombre souvent présentes dans l'intestin des mammifères et sont par leur présence indicatrices d'une contamination fécale et donc des maladies associées à la contamination fécale. On peut noter que l'absence de contamination fécale ne laisse en rien présager l'absence d'espèce potentiellement pathogène. [15]

3.1. Les bactéries indicatrices de contamination fécale:

Permettent d'apprécier, avec plus ou moins de sûreté ou de précocité, le risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des micro-organismes pathogènes. [15]

3.1.1. Les coliformes (indice de contamination fécale récente) :

La définition adoptée par l'Organisation internationale de standardisation (ISO). *Le terme « coliforme »* correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C.

➤ *coliformes fécaux*

Le groupe des coliformes fécaux comprend entre autres les espèces suivantes : *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Moellerella wisconsensis*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*.

➤ *Escherichia. coli*

E. coli correspond à des coliformes thermo-tolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane à 44°C, L'espèce la plus fréquemment associée aux coliformes fécaux, ce sont des bacille gram négatif en forme de bâtonnet, mobiles par flagelles péritriches ou immobiles, non sporulés, aérobies ou anaérobies facultatifs [15]

3.1.2. Les Entérocoques (indices de contamination fécale récente)

Les Entérocoques sont des [cocci Gram positif](#), se présentant habituellement sous forme de chaînettes. (On parle maintenant recherche des entérocoques intestinaux) [15]

Ce sont des pathogènes opportunistes causant des septicémies, infections urinaires, ou abdominales d'origine intestinale, ils sont la cause de plus de 10 % des [infections nosocomiales](#), trouvés essentiellement dans l'intestin humaines et animales, et passent dans l'environnement. [16]

3.1.3. Les bactéries sulfito-réductrices (indice de contamination fécale ancienne)

Micro-organismes anaérobies formant des spores et sulfito-réducteurs, appartenant à la famille des Bacillacées et au genre Clostridium, les spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (clostridia) sont largement répandues dans l'environnement. Elles sont présentes dans les matières fécales humaines et animales, ainsi que dans les eaux usées et le sol, à la différence des *Escherichia coli* et des autres organismes coliformes, les spores survivent dans l'eau pendant longtemps, car elles sont plus résistantes que les formes végétatives à l'action des facteurs chimiques et physiques. Elles peuvent ainsi fournir des indications sur une pollution éloignée ou intermittente. Elles peuvent même être résistantes à la chloration dans les proportions habituellement utilisées pour le traitement des eaux, et sont donc ainsi utiles pour les besoins des contrôles.

3.2. Bactéries spécifiques

3.2.1. Staphylococcus aureus

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, se présentent comme des [coques](#) en amas (grappes de raisin), immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, à catalase positive et oxydase négative. [Mee-Marquet et *al.*, 2004].

L'homme est le principal réservoir naturel de *Staphylococcus*, il présente un portage sain, principalement au niveau des cavités nasales [Wylie et *al.*, 2005].

➤ Pouvoir pathogène

Le *S. aureus* est l'un des principaux pathogènes associés aux infections nosocomiales. Il est l'agent le plus fréquemment impliqué dans les bactériémies, responsable de nombreuses infections de site chirurgical et d'un nombre considérable de pneumonies nosocomiales [Marie-Claude, 2012].

3.2.2. Pseudomonas Aeruginosa

C'est un bacille à Gram négatif, asporulé et acapsulé, réduisant les nitrates en nitrites. Il possède deux pigments caractéristiques : la pyoverdine et la pyocyanine [Avril *et al.*, 1992]. En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* est retrouvée dans l'eau, dans les solutions aseptiques et sur les instruments, les sondes, ou encore dans les canalisations, les lavabos [Wolfgang, Kulasekara *et al.* 2003].

➤ Pouvoir pathogène

P. aeruginosa est doté d'un véritable arsenal de facteurs de virulence [Richard, 2005]. reconnue comme un pathogène nosocomial majeur chez les patients affaiblis [Mandell, 2005 ; Mesaros *et al.*, 2007]. Elle est à l'origine de 16 % des cas de pneumonies hospitalières et de 12 % des infections urinaires nosocomiales [Berthelot *et al.*, 2005][Adjidé *et al.*, 2006]

3.2.3. Salmonelles :

Ce sont des bacilles à Gram négatif mobiles [Korsak 2004].Se présentent sous la forme de petits bâtonnets, aéro- anaérobies facultatifs, acapsulées et asporulées [Kabir, 2010].

Ce sont aussi des bactéries du tube digestif des vertébrés.elles peuvent survivre plusieurs mois dans l'environnement lorsque les conditions du milieu sont favorables (température et humidité) [Danyluk *et al.*, 2008; Pedersen *et al.*, 2008]

CHAPITRE 3

RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques.

Cette situation apparait particulièrement préoccupante en milieu hospitalier où le nombre de bactéries résistantes est en augmentation continue. Nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances. [17]

4.1. Définition de la résistance aux antibiotiques:

Une souche est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée de cet antibiotique [Bambeke et Tulkens,2008].

IL existe deux types de résistance:

➤ **Résistance naturelle :**

C'est une caractéristique propre à une espèce bactérienne, due aux propriétés intrinsèque physiologique, biochimique ou structurale de la bactérie qui sont indépendants de tout contact avec un antibiotique [Guérin, 2010 ; Scott, 2009 ; Poly, 2005].

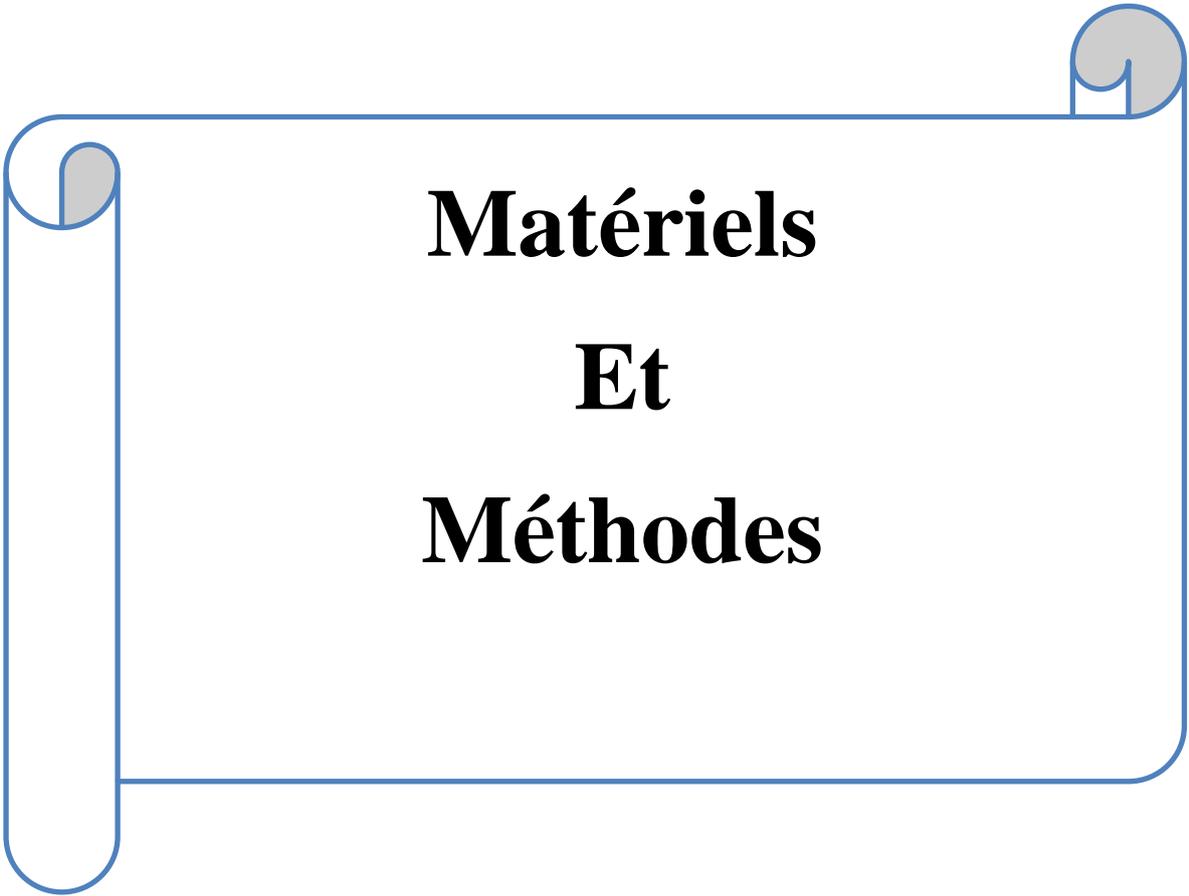
➤ **Résistance acquise :**

Elle est due à des modifications génétiques acquises par mutation spontanée de gènes chromosomiques ou par transfert d'éléments mobile [poly, 2005].

4.3. Les antibiotiques

Ce sont des substances naturelles élaborées par des micro-organismes ou synthétiques qui sont capables en faible dose d'inhiber la multiplication (action bactériostatique) ou de tuer d'autres micro-organismes (action bactéricide).

Les antibiotiques sont classés selon plusieurs critères: l'origine, nature chimique, mode et modalité d'action et spectre d'action mais la classification selon le mode d'action est la plus utilisée (voir ANNEXE 8) [Bambeke et Tulkens,2008].



Matériels
Et
Méthodes

Introduction :

Notre étude a été réalisée sur une durée de 3 mois, allant du 04 mars au 20 juin 2018.

Le travail a été fait en collaboration avec 4 Hôpitaux de la région d'Alger.

La fréquence, les points et le type de prélèvements ont été définis selon les exigences des établissements visités.

A la fin de chaque analyse les résultats sont remis au bureau d'hygiène de l'hôpital concerné.

Au total 101 échantillons d'eaux ont été analysés au niveau du laboratoire de bactériologie des eaux des aliments et de l'environnement de l'institut Pasteur d'Algérie (IPA).

❖ MATÉRIELS

1. Non biologiques

➤ Les milieux de cultures utilisées

Des milieux de cultures utilisées et leurs compositions sont cités en Annexe I

➤ Les milieux d'identification

- Milieu TSI
- Eau peptonée exemple d'indole (EPI)
- Les galeries Api 20E, Api20NE

➤ Antibiotiques

- Disques imprégnés d'antibiotiques
- Bandelettes E-tests

➤ Réactifs et solutions

- L'eau physiologique
- bouillon au tryptophane
- L'eau distillée
- Réactif de Kovacs
- Réactif de TDA
- Réactif de VP1, VP2
- L'huile de vaseline
- Nitrate réductase 1, Nitrate réductase 2
- Colorants (violet de gentiane, lugol, fuchsine)
- Huile d'immersion

➤ **Appareillages**

- Rampe de filtration
- Agitateur
- Etuve réglée à 37°C
- Densitomètre
- Bec bunsen
- Incubateurs biologique (37 °C) (44C°) (30C°)
- Bain-marie
- Microscope
- pompe

➤ **Matériels de manipulation**

- Pipettes pasteur stériles
- Filtres à membrane 0.45µm
- Pince
- Portoirs
- pipettes graduées (5ml, 1ml)
- pro-pipette
- Boîtes de Pétri
- Tubes à essai stériles
- lames
- Pied à coulisse
- Applicateur d'antibiotiques

2. **Biologiques**

➤ **Souches de référence**

Trois souches de références, et deux souches de l'institut pasteur ont été utilisées dans notre étude, pour le contrôle de qualité lors des tests de sensibilité aux antibiotiques et aux désinfectants, Les souches de références utilisées :

- **L'ATCC (American Type Culture Collection) 25922 Escherichia coli.**
- **L'ATCC 25923 Staphylococcus aureus**
- **L'ATCC 27835 Pseudomonas aeruginosa**

❖ METHODE

1. Echantillonnage et prélèvement d'eaux :

Les prélèvements d'eaux ont été réalisés selon la Norme « **NF EN ISO 19458** », dans des flacons en verre stériles de capacité 500 ml. Sans flamber ni désinfecter le robinet avant d'effectuer le prélèvement et cela pour évaluer la qualité de l'eau telle qu'elle est consommée ou utilisée (au point d'usage).

2. Transport et Conservation des échantillons au laboratoire :

Transporter Les échantillons prélevés au laboratoire dans une glacière maintenue à +4°C, accompagnés d'une fiche de renseignement dûment remplie. Il est recommandé de commencer l'analyse après le prélèvement dans un délai maximum de 24 heures.

Après la prise d'essai, placer le reste du prélèvement non utilisé au réfrigérateur, comme le stipule la Norme « **NF EN ISO 5667-3 (juin 2004)** »

3. Analyse Bactériologique :

3.1. Technique de filtration sur membrane

Elle consiste à filtrer une quantité d'eau à travers une membrane en polycarbonate de porosité 0,45 µm:

- Préparer et assembler le dispositif de filtration (voir ANNEXE 2) connecté la pompe à vide à la rampe de filtration avec le tube en silicone. Stériliser l'entonnoir gradué et la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen.
- Refroidir l'entonnoir et la membrane poreuse tout de suite avec l'eau à analyser si on en dispose en quantité suffisante ou avec de l'eau distillée stérile.
- A l'aide d'une pince stérile, Placer de façon aseptique le filtre entre la membrane poreuse et l'entonnoir.
- Remplir l'entonnoir avec le volume d'eau à analyser et ouvrir le robinet. Lorsqu'elle est totalement filtrée, fermer le robinet.
- Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince stérile sur la surface du milieu approprié.

Les méthodes de références utilisés pour la recherche et le dénombrement des bactéries Sont citées on Annexe 3

3.2. Recherche et dénombrement des indices de contamination fécale Récente :

3.2.1. Dénombrement des coliformes Totaux

Le milieu TTC + Tergitola été utilisé pour rechercher et dénombrer les coliformes totaux et fécaux (*Escherichia coli*).

Après 24h d'incubation à 37C°, dénombrer les colonies caractéristiques qui se présentent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentés en jaune orangé ou en jaune (lactose positives).

Repiquer de façon aléatoire 5 à 10 colonies à des fins de confirmation basée sur le test à l'oxydase d'une part et la production d'indole d'autre part.



Figure 2.1 : Aspect caractéristique des coliformes sur tergitole

➤ Test à l'oxydase :

L'oxydase à la forme de disque (de la marque BD BBL DrySlide) .Une colonie y est déposée avec une pipette pasteur stérile, S'il y a apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes, la bactérie est oxydase+, c'est rien n'apparaît, cela signifie que la bactérie est oxydase-

➤ **Test à l'indole.**

On transfère chaque colonie caractéristique séparément dans un tube contenant de bouillon au tryptophane, Puis on incube ce dernier à 44 °C pendant 24 heures.

On recherche la production d'indole en ajoutant 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs. La présence d'un anneau rouge à la surface du bouillon traduit la production d'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu.

➤ Expressions des résultats On fait un dénombrement :

- Est considérée comme bactérie coliforme, toute colonie caractéristique (jaune), dépourvue de l'enzyme oxydase et non productrice d'indole.
- Est considéré comme bactérie *Escherichia coli*, toute colonie caractéristique (jaune orangé), dépourvue de l'enzyme oxydase, mais productrice d'indole à 44°C.

3.2.2. Dénombrement des Entérocoques intestinaux :

Placer la membrane sur une boîte de milieu de Slanetz . Incuber pendant 48 heures à 37 °C.

Compter alors toutes les colonies rouges brique, violettes ou roses visibles sur la boîte (réduction du TTC).

➤ **Etape Confirmative :**

Transférer la membrane sur milieu BEA (Bile Esculine AGAR)

Lecture après quelques heures, les colonies caractéristiques prennent alors une coloration noire traduisant ainsi l'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu.

➤ **Expression des résultats.**

Compter le nombre de colonies et le rapporter à 100ml d'eau à analyser

3.3.Recherche et dénombrement des bactéries spécifiques :

3.3.1. Pseudomonas Aeruginosa :

Transférer la membrane à la surface d'une plaque de gélose au Cétrémide .Cette dernière sera incubée 37°C pendant 48 heures.

➤ **Lecture et interprétation**

Après la période d'incubation les colonies pigmentées en bleu vert donc productrices de pyocyanine..

On recherche le caractère oxydatif : *les Pseudomonas. Aeruginosa sont Oxydase positif (OX+), Une* identification par la suite avec galerie API .

➤ **Expression des résultats.**

Compter le nombre total de colonies de *Pseudomonas aeruginosa* , présent dans le volume d'eau à analyser 100 ml.

3.3.2. Salmonelles :

Pour la recherche des salmonelles filtrer un volume de 500 ml de l'échantillon à analyser.

➤ *Préenrichissement*

Retirer la membrane puis la tremper dans un flacon d'eau peptonée tamponnée (225ml), bien mélanger ce dernier , puis l'incuber à 37°C pendant 24 heures.

➤ *Enrichissement*

Après incubation, en transférant 1ml du milieu de pré-enrichissement sur bouillon SFB/SC(simplement concentré) avec l'ajout d'un additif (disque SFB) , Bien mélanger , puis incuber ce dernier à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, procéder à l'isolement sur milieu Hektoen.

Incuber à 37°C pendant 24 heures.

➤ *Lecture et interprétations :*

On repique 5 colonies caractéristiques (colonies vertes à centres noir (lactose négatif)), sur TSI (Triple Sugar Agar), incubé à 37°C pendant 24h.

A partir de TSI on passe par une GN pour purifiée la souche puis on procède a une galerie API.

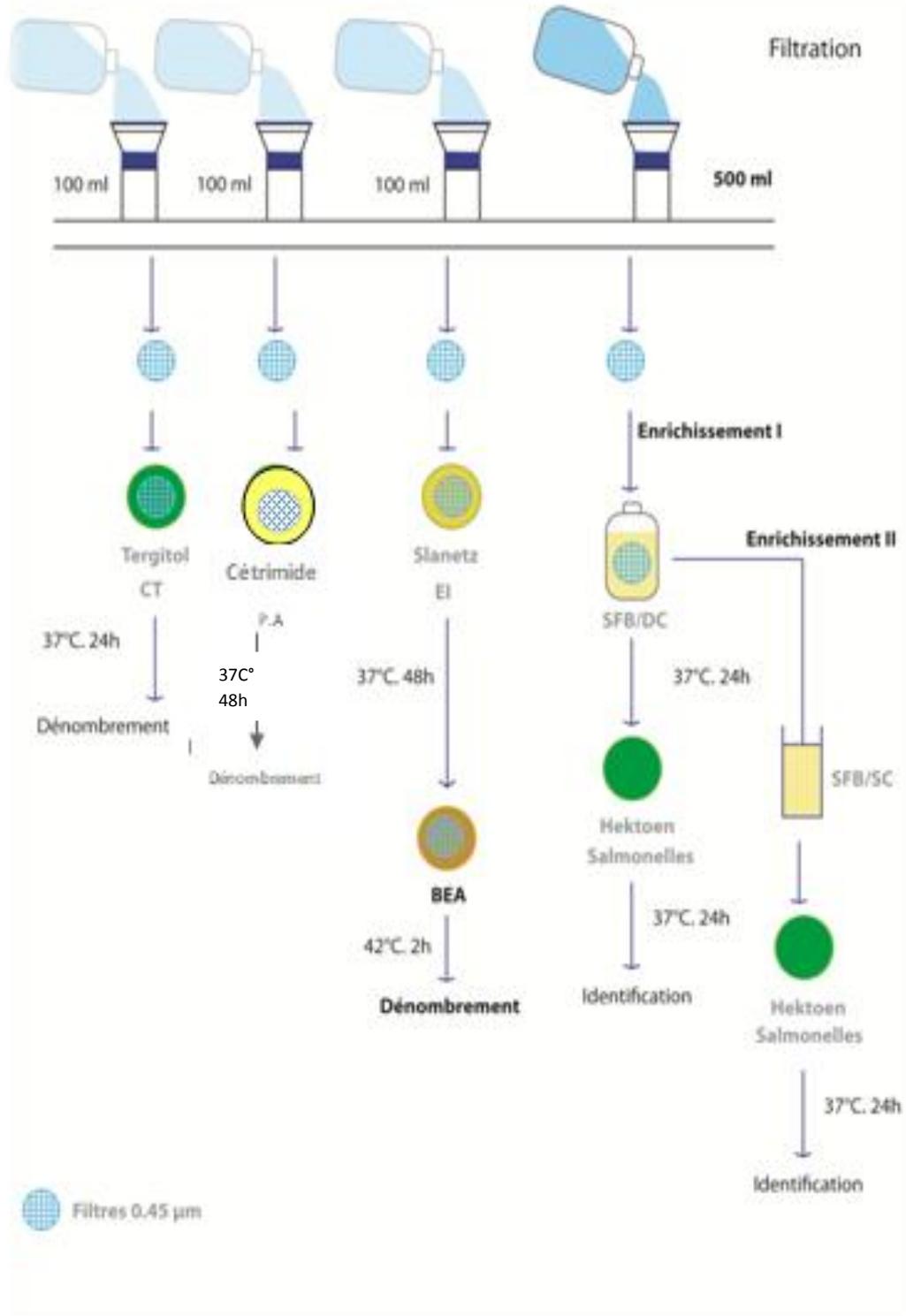


Figure 2.2 : contrôle bactériologique de l'eau par méthode de filtration sur membrane

3.3.3. *Staphylococcus aureus* :

La membrane filtrante incubée pendant 48 heures à 37° C sur une gélose Chapman.

➤ **Lecture et interprétation**

Après la période d'incubation, les *Staphylococcus aureus*, apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en soit en jaune (fermentation du mannitol) ou en blanc.

Prendre 3 à 5 colonies, une demi colonie servira au test à la catalase, l'autre demi sera triturer dans un tube contenant du bouillon BHIB, à incuber à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Test à la catalase.**

Placer séparément deux gouttes d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 20 volumes sur une lame de microscope. Prélever une demi-colonie avec pipette Pasteur et l'émulsionner doucement dans une des deux gouttes.

Observer immédiatement s'il y a apparition (catalase positive) ou absence (catalase négative) de bulles d'oxygène.

➤ **Test à la coagulase libre.**

Après incubation du bouillon BHIB, ajouter stérilement 0,1 ml de cette culture à 0,3 ml de plasma de lapin contenu dans un tube stérile à hémolyse, et incuber de nouveau à 37°C pendant 2 à 6 heures. Examiner la coagulation du plasma de lapin sinon ré-incuber et examiner de nouveau à 24 heures, Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide.

3.4. Recherche et dénombrement des Spores de bactéries Anaérobies Sulfito-réductrices

Afin de procéder au dénombrement transférer 20 ml de l'échantillon à analyser dans 4 tubes stérile (5ml par tube), qui serrent par la suite soumis à un chauffage à 80°C pendant 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies sulfito-réductrices présentes. Une fois refroidis sous l'eau de robinet, ajouter la gélose VF , et Laisser solidifier sur la pailleasse ,puis incuber à 37C°, la Lecture se fait à 16 ,24et 48heures. Dénombrer toutes les colonies caractéristiques qui sont de couleur blanche entourées d'une auréole noire.

Anaérobies Sufito-réducteurs (ASR)

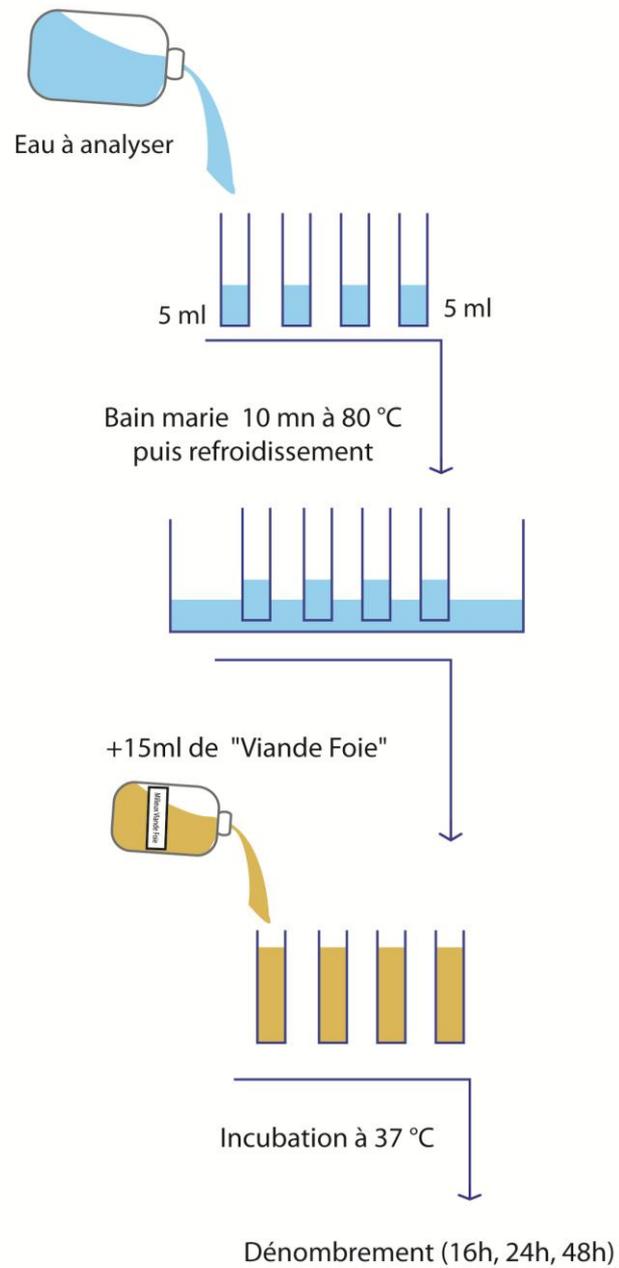


Figure 2.3 : recherche et dénombrement des bactéries Anaérobie-Sulfite-Réductrices par Méthode d'incorporation en gélose en tubes

4. identification biochimique

Caractérisation biochimiques des souches isolées :

Plusieurs tests biochimiques ont été utilisés pour caractérisés la collection des souches obtenues et a fin de confirmés l'identification des isolats.

Après incubation on procède à :

4.1. Identification du genre basé sur l'aspect Morphologique des colonies (coloration de Gram)

Elle permet de classer les bactéries selon la composition de leur paroi en Gram+ ou Gram- et selon leur morphologie en bacilles ou cocci. Elle consiste à :

➤ Réalisation du frottis

On dépose une goutte de la suspension bactérienne à étudier au milieu de la lame à l'aide d'une pipette stérile, ensuite on procède à l'étalement de cette goutte en faisant des rotations, puis à la fixation du frottis en passant la lame sur la flamme du bec Bunsen jusqu'à séchage.

➤ Coloration

- On plonge la lame pendant 1 minute dans du **violet de gentiane** (colorant basique). Puis on rince à l'eau du robinet.
- On inonde au **lugol** (solution iodo-iodurée), on laisse agir 30 secondes. Puis on rince à l'eau du robinet. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
- Onverse l'alcool sur la lame inclinée (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration, puis On rince sous un filet d'eau. Les bactéries décolorées sont des bactéries à Gram-. Celles qui ne sont pas décolorées sont des bactéries à Gram+.
- on inonde la lame avec de **la Fuchsine**, on laisse agir 1 minute. Puis on rince à l'eau du robinet on Laisse la lame à sécher, bactéries Gram- sont colorées en rose.

➤ **examens Microscopiques**

On met une goutte d'huile à immersion sur la lame. On fait la lecture à grossissement $\times 100$.

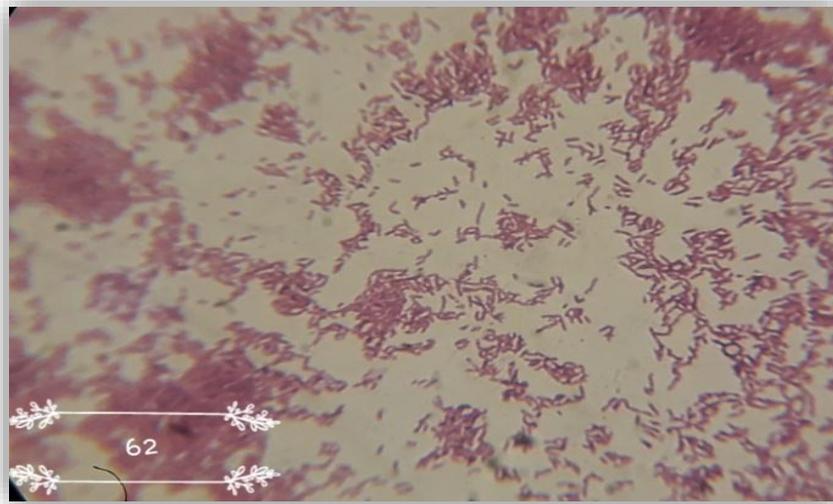


Figure2.4: Bactérie Comamonas testosteroni observé au microscope optique X1000

4.2. Identification basé sur tests biochimique (galerie API)

✚ Identification des Entérobactéries avec la galerie API 20 E :

Elle est réalisée par le système de galerie Api 20E qui a été standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif, comprenant 21 tests biochimique miniaturisé.

La galerie Api 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

La codification de ces réactions en un profil numérique permet d'identifier le genre en se référant à un catalogue analytique ou à un logiciel d'identification.

5. Ensemencement sur GNi (gélose nutritive inclinée)

Avec une pipette pasteur chargée de suspension. On réalise des stries sur toute la longueur de la pente en commençant au fond du tube ; en remontant. On incube les tubes à 37°C pendant 24h.

➤ Préparation de l'inoculum :

Dans un tube d'eau distillée on prépare une suspension d'opacité de 0.5 Mc Farland à partir d'une culture pure.

➤ Préparation de la galerie :

On met de l'eau distillée sur le fond de la boîte pour humidification, ensuite on place la galerie, on inscrit la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. Recouvrir la boîte avec son couvercle.

➤ Ensemencement de la galerie :

La suspension bactérienne est introduite à l'aide d'une pipette pasteur stérile de la manière suivante :

- Les tubes qui sont marqués par des caractères ni soulignés ni encadrés (ONPG, TDA, ION, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, AMY, ARA, OX) seul le tube est rempli.
- Créer une anaérobiose dans les tests (ADH, LCD, ODC, URE, H₂S) en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- Les tubes marqués par des caractères encadrés (**CIT, VP, GEL**) les tubes et cupules sont remplis.

La boîte est refermée et incubée à 37°C pendant 24 heures.

➤ Lecture de la galerie :

La lecture se base sur la détermination de la positivité /négativité de chaque test

Indentification Non Entérobactéries avec la galerie API 20NE :

On suit les Mêmes étapes que la galerie 20E pour la préparation.

➤ **Ensemencement de la galerie :**

- On Rempli uniquement les tubes des tests (et non les cupules) **NO3** à **PNPG** avec la suspension bactérienne.
- dans les tests **GLU**, **ADH**, **URE** on remplit leur cupule avec d'huile de vaseline.
- Transférer 4 gouttes de la suspension précédente, dans une ampoule Medium Et on Rempli les micro-cupules des tests GLU avec.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 30° C.

➤ **Lecture de la galerie :**

Une première lecture à 24h et une deuxième après 48h à l'aide du tableau galerie 20NE.



Figure2.5 : Galerie API 20 E Après incubation à 30C°

5. Conservation de souches isolées :

La conservation d'une souche bactérienne a pour but d'effectuer des études complémentaires (études de réactions particulières vis à vis d'antibiotiques ...)

Le tube de conservation est étiqueté (numéro et le nom de la souche, la date) puis ensemencer par piqure central à l'aide d'une pipette pasteur stérile bien chargée d'une culture bactérienne pure et conservé à la température ambiante.

6. Etude de l'efficacité des désinfectants à usage hospitalier sur la croissance des de références :

Pour réaliser cette partie de notre étude ,nous avons testé la sensibilité de souches bactérienne pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme vis-à-vis 5 produit utiliser dans la plupart des établissement de santé algérienne .

➤ Les désinfectants étudiés (voir photo ANNEXE 2)

-SURFANIOS de la marque ANIOS : un détergent-désinfectantsol et surfaces

-SURFA'SAFE de la marque ANIOS : une mousse détergente-désinfectante surfaces

-Eau de javel de la marque NASSAH

-DERMANIOS SCRUB CG savon antiseptique

-ANIOS GEL désinfectant pour friction hydroalcoolique

➤ On commence par la préparation des suspensions de 5 souches (a 0.3 Mc Ferland) :

- Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
- Staphylococcus aureus ATCC 25923
- Escherichia coli ATCC 25922
- Bacillus
- Candida

➤ On Dessine 9 carreaux, en y inscrivant les différentes dilutions sur les boites carrées (45 ml du milieu MH), et Témoin +et Témoin

➤ Les dilutions :

- 100% : la solution à étudier pure
- 50% : 5ml solution + 5ml eau TSE
- 25% : 2.5ml solution + 7.5ml eau TSE
- 10% : 1ml solution + 9 ml TSE
- 5% : 0.5ml solution + 9.5 ml TSE
- 1% : 0.1 ml solution + 9.9 ml TSE
- Témoin + : eau de javel pure
- Témoin - : eau distillée stérile

Figure2. : Préparation des boîtes MH pour les tests de sensibilité des désinfectants



- à l'aide d'un écouvillon on ensemence chaque boîte avec la suspension bactérienne de la souche correspondante.
- on Imbibe chaque disque avec la dilution correspondante et les disposés dans les boîtes
- Après Incubation à 37° C pendant 24h, On Mesure les diamètres de zones d'inhibition.
-

7. Antibiogramme de souches isolées

L'antibiogramme a pour but de déterminer la sensibilité ou la résistance d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques. Il est réalisé par la méthode diffusion des disques, Ces disques pré- imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose MH . L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration.

La réalisation de l'antibiogramme implique de suivre un protocole standard **selon CLSI** afin que les résultats obtenus soient valide et exploitable.

➤ Préparation de l'inoculum :

On prépare une suspension bactérienne d'une densité de 0,5Mac Farland dans 10 ml d'eau physiologique stérile de 0,9% à partir d'une culture pure âgée de 18 h.

➤ Ensemencement :

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension, L'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube. On ensemence chaque boîte de haut en bas en stries serrées, en tournant de 90°

➤ Application des disques d'antibiotiques :

A l'aide d'un applicateur ou d'une pince, déposer les disques d'antibiotiques sur milieu MH coulé dans des boîtes carrées en pressant avec la pince sur chaque disque .Les disques d'antibiotiques doivent être espacé de 24mm centre à centre. La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolés figure (voir ANNEXE 4)

8. Conditions d'incubation :

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie (voir ANNEXE 5)

9. Lecture et interprétation :

À l'aide d'un pied à coulisse, les diamètres des zones d'inhibition sont Mesurés avec précision. Et on compare les résultats obtenus aux valeurs critiques (Annexe VI).

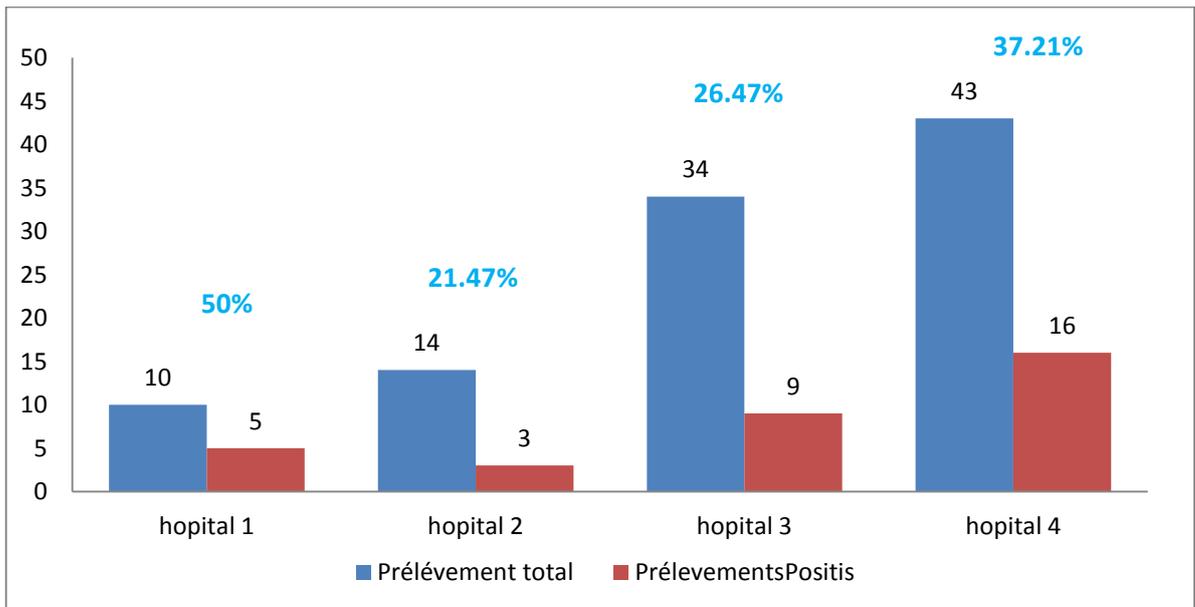
On Classe les bactéries dans l'une des catégories Résistant (R), sensibles (S) ou Intermédiaire(I).



Résultats
et
Discussions

1. Analyse bactériologique de l'eau des établissements de santé :

Figure3.1 : Répartition des prélèvements positifs par rapport au nombre total de prélèvements pour chaque hôpital



La répartition des prélèvements positifs pour chaque l'hôpital montre un nombre important des cas positifs pour l'hôpital 3 et l'hôpital 4, cette importance peut être due au nombre de prélèvement élevées pour ces 2 hopitaux, qui est lui-même important.

Pour comparer entre les différents pourcentages obtenus, le calcul du χ^2 a donné une valeur supérieure à 1,87 qui est la valeur seuil d'un χ^2 à 3 degrés de liberté avec un risque ($\alpha = 0,05$).

Ce qui implique que la différence entre les pourcentages pour les quatre hôpitaux est non significative (figure 2), elle est donc due probablement à la fluctuation de l'échantillonnage.

Tableau 3.1 : résultats des analyses bactériologiques des échantillons analysés

nature et origine des échantillons	coliforme totaux	coliforme fécaux	EI	ASR	pseudo	autre	conclusion
cuisine Hôpital 1	1 UFC/100ML	0	0	0	0	14 eupriavid	QBS
Cuisine H1	0UFC/100ML	0	0	30UFC/20ML	0	160 comamo	QBS
toilette H1	1 UFC/100ML	0	0	30UFC/20ML	0		QBS
salle de soins H1	0	0	0	15UFC/20ML	0		QBS
toilette chambre malade Hôpital 2	0	0	0	0	0	4 aeromona	QBS
toilette maxillo-faciale H2	0	0	0	30 UFC/20ML	0		QBS
toilette maxillo-faciale H2	0	0	0	60 UFC/20ML	0		QBS
sanitaire chirurgie générale H2	0	0	0	30 UFC/20ML	0	>300 aerom	MQB
toilette chirurgie général H2	0	0	0	UFC/20ML	0	40 aeromon	QBS
laboratoire unité biochimieH2	0	0	0	30 UFC/20ML	0		QBS
laboratoire unité virologieH2	0	0	0	30 UFC/20ML	0	1c aeromon	QBS
toilette maternitéH2	0	0	0	0	0	18c aeromo	MQB
salle de soins maternitéH2	0	0	0	60 UFC/20ML	0		QBS
salle de stérilisation bloc d'accouche	0	0	0	60 UFC/20ML	0		QBS
cuisine hôpital H2	0	0	0	30 UFC/20ML	0		QBS
cuisine hôpital H2	3 UFC/100ML	0	0	0	0	3c aeromon	MQB
RESERVE D'EAU	0	0	0	2	1	12 pseudom	QBS
RESERVE D'EAU H2	0	0	0	4 UFC/20ML	0	> 300 aerom	MQB
salle de soins pédiatrie H2	0	0	0	0	0	25 pseudom	QBS
la station eau distillé Hôpital 3	0	0	0	0	0	>300 acinet	MQB
cuisine H3	0	0	0	0	0	7 acinetoba	QBS
ChirurgieH3	0	0	0	0	0		QBS
Bloc H3	120 UFC/100ML	0	0	0	0		MQB
Bloc H3	0	0	0	0	0	20 acinetob	QBS
Buanderie H3	12 UFC/100ML	0	0	0	0		QBS
cuisine Hopital4	>300	0	0	0	0		MQB
bloc d'accouchement H4	>300	0	0	0	0	klebsiellapr	MQB
maternité (salle de soins) H4	0	0	0	0	0	200 c aerom	MQB
P.U salle de soins H4	0	0	0	0	0	200 c como	QBS
salle de stérilisation H4	0	0	0	0	0	16	QBS
service pédiatrie H4	0	0	0	30 UFC/20ML	0		QBS
Néonatalogie H4	0	0	0	30 UFC/20ML	0		QBS
la cuisineH4	160 UFC/100ML	0	0	0	0	enterobacte	MQB
salle de macroscopies H4	0	0	0	0	0	pseudo .A	MQB
bloc opératoire (ORL) H4	0	0	0	0	0	30 aeromon	MQB
la cuisine (ORL) H4	8 UFC/100ML	0	0	0	0	pontoeassp /t	QBS
unité chirurgie H4	0	0	0	0	0	>300 pseudom	MQB
salle de soins H4	200 UFC/100ML	0	0	0	0	enterobacter	MQB
cuisine H4	23 UFC/100ML	0	0	0	0	23 enterobac	MQB
salle de soins H4	0	0	0	0	0	200c burkhol	MQB
Maternité h4	0	0	0	0	0	40 c burkhol	QBS
(cuisine) H4	0	0	0	0	0	>300 burkhol	MQB
Néonatalogies H4	0	0	0	0	0	1 80c burkhold	MQB
néonatalogie H4	7	0	0	0	0	>300 burkhol	MQB
P.U(ORL) H4	0	0	0	0	0	burkholderiac	MQB

Tableau 3.2 : résultats de l'analyse bactériologique des échantillons d'eaux

		Nombre de prélèvements Positifs par rapport aux bactéries recherchées							
	Service	Nombre de prélèvements	coliforme totaux	coliforme fécaux	Entérocoques Intestinaux	ASR	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	salmonelle
Hôpital 1	Diabétologie	10				3			
Hôpital 2	Gynécologie	3				1			
	Maxillo-faciale	3				2			
	Chirurgie générale	3				1			
	Laboratoire d'analyse	5				2			
	Maternité	4				2			
	Cuisine	3	1						
	Reserve d'eau	2				2	1		
	La buanderie	2							
	Pédiatrie	2							
	Néonatalogie	7				2			
La pharmacie centrale	1								
Hôpital 3	Hémodialyse	3							
	Pneumo	2							
	Cuisine	1							
	bloc	3	2						
	La buanderie	1	1						
	Laboratoire d'analyse	2							
Reserve d'eau	2								
Hôpital 4	Reserve d'eau	2							
	Cuisine	3	1						
	Buanderie	1							
	Réanimation	1	1						
	Bloc	2	1						
	Maternité	2							
	Exploitation fonctionnel	2							
	ORL	8	2						
	Chirurgie	6							
	Médecine	6	1						
	Maternité	3	1						
	Gynécologie	3							
Néonatalogie	3	1				1			
Total	32	101	12			16	2		

Le tableau ci-dessus montre que :

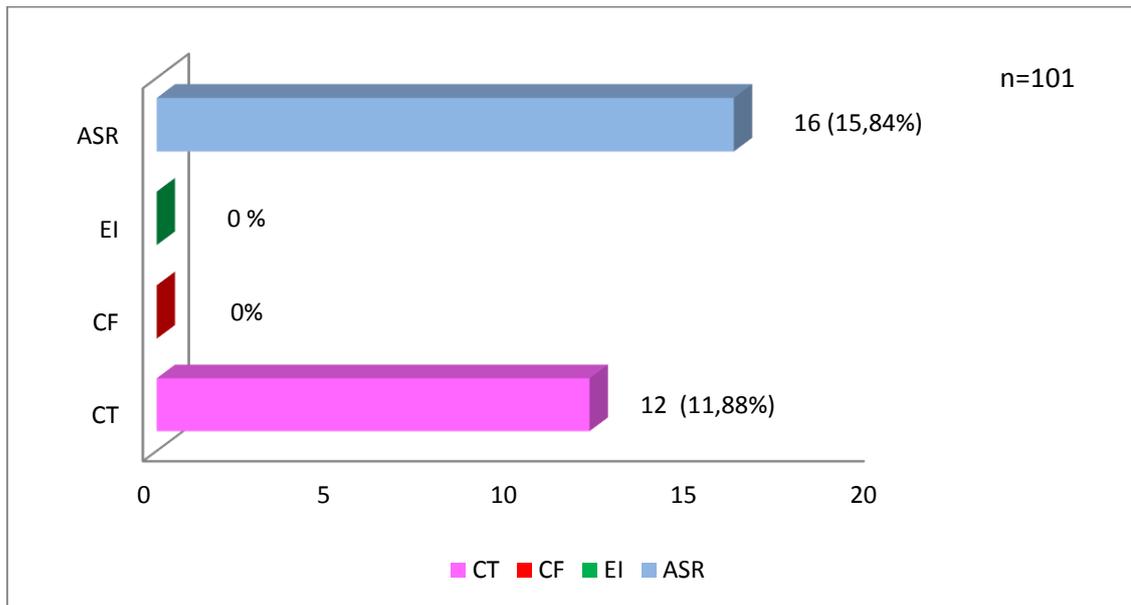
Pour l'hôpital N°1 nous notant la présence des ASR pour trois échantillons sur dix analysés.

De même pour l'hôpital N°2, on remarque la présence des ASR dans la majorité des services (7/11 : Gynécologie, Maxillo-faciale, Chirurgie général, Maternité, Néonatalogie, laboratoire d'analyses) avec des valeurs largement supérieures aux limites d'acceptabilités préconisées par le journal officiel algérien(0 UFC/20ml) [18] Les ASR sont retrouvés aussi avec *Pseudomonas Aeuruginosa* au niveau de la réserve d'eau, des coliformes totaux sont présents par au niveau de la cuisine centrale.

Pour l'hôpital N°3, le bloc opératoire et la buanderie présentent une contamination par les Coliformes totaux

De même pour l'hôpital N°4 on remarque une contamination par les coliformes totaux dans 7 services sur 13 avec des valeurs qui dépassent celles préconisées par la réglementation Algérienne [18]

Figure 3.2 : Répartition des bactéries indices de contamination dans les échantillons d'eaux analysées



Le tableau ci-dessus (tableau 3.2) montre l'absence d'une contamination fécale récente (*E.coli* et Entérocoques intestinaux) ainsi que des salmonelles et des *Staphylococcus aureus* dans la totalité des échantillons analysés.

Par contre on note (la figure 3.2) une prédominance des ASR (Anaérobies-sulfito-réducteurs) (15.84%) indice de contamination fécale ancienne et des Coliformes Totaux (11.88%) indice de contamination organique [15]

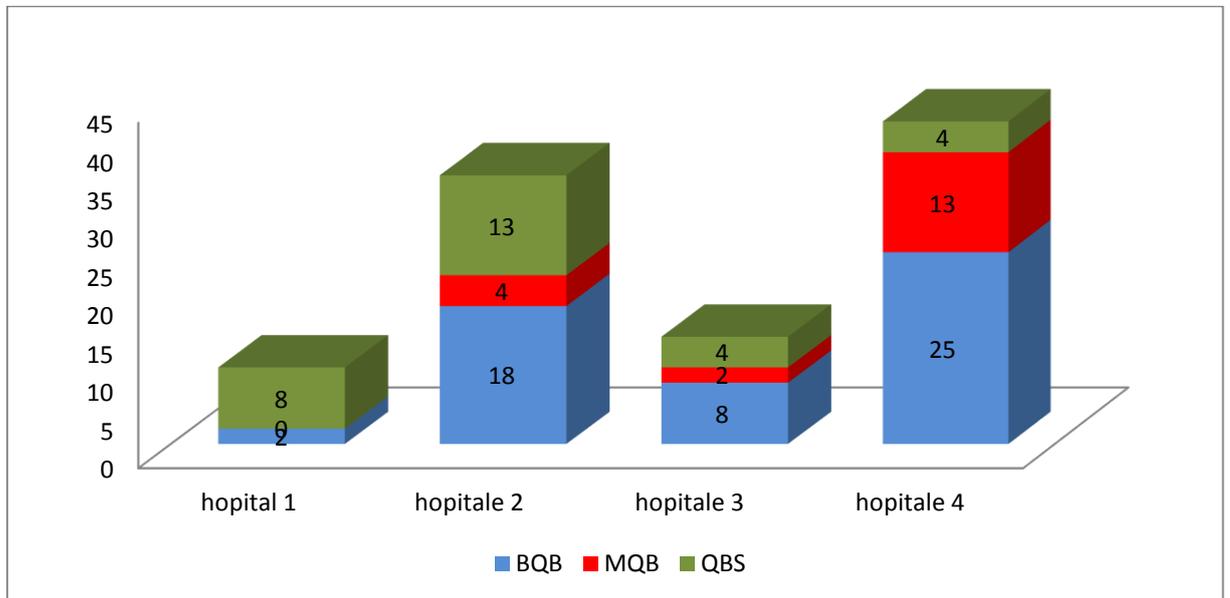
Nos résultats montrent que l'eau destinée à la consommation humaine dans les 4 établissements de santé, ne répond ni aux exigences de la réglementation Algérienne [15], ni aux recommandations de l'OMS et de différentes organisations internationales de la santé [15]. Les résultats de notre étude concordent en partie avec ceux d'une étude marocaine similaire réalisée dans un hôpital à Fes-Maroc [Bekkari H. et al.2016], eux aussi retrouvent les coliformes totaux avec des concentrations très élevées (tableau3.1).

Cela peut être lié :

- A une contamination des réservoirs d'eau comme pour l'hôpital2, ou bien une mauvaise chloration de l'eau de réseau de distribution.
- Ou à la formation de biofilms à l'intérieur des canalisations d'eau comme pour l'hôpital4 ou l'entartrage des canalisations étaient visible a l'œil nu.

La présence de points de stagnation de l'eau (robinet, brise-jets ...) et le manque d'hygiène et de maintenance sont également la cause de la dégradation de la qualité bactériologique de l'eau [19]

Figure3.3 : Evaluation de la qualité bactériologique des eaux pour chaque hôpital



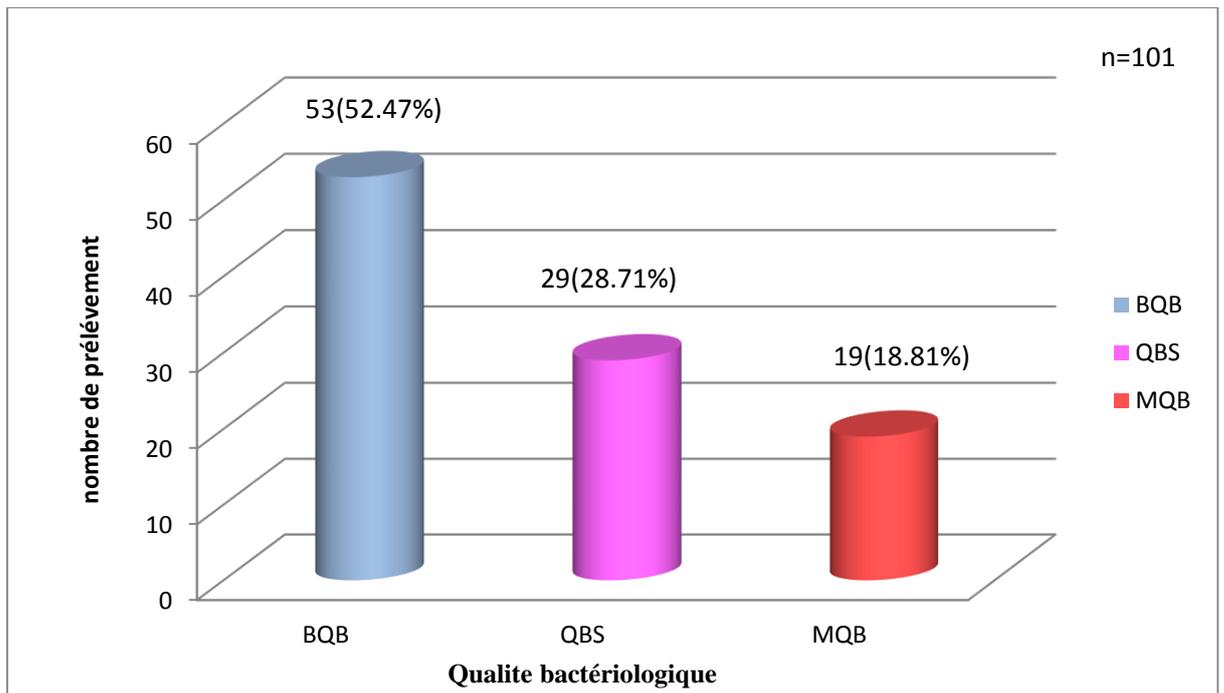
La figure ci- dessus nous montre :

Pour l'hôpital 1 : 08 prélèvements sur 10 (8/10) sont des QBS, les 2 prélèvements qui restent sont de BQB.

Pour l'hôpital 2 : l'eau de bonne qualité prédomine avec 18prélèvements, dont 13 prélèvements sont de qualité bactériologique suspecte et 4 sont de mauvaise qualité bactériologique.

Pour l'Hôpital 3 : on note la prédominance de l'eau de bonne qualité bactériologique, avec 08 sur 14 (8/14).2 prélèvements sont de MQB et 4 QBS.

De même Pour l'hôpital 4 : on remarque la prédominance de l'eau de bonne qualité bactériologique, 13 prélèvements sont de mauvaise qualité bactériologiques, avec 25 prélèvements sur 42 (25/42) sont de qualité bactériologique suspecte.

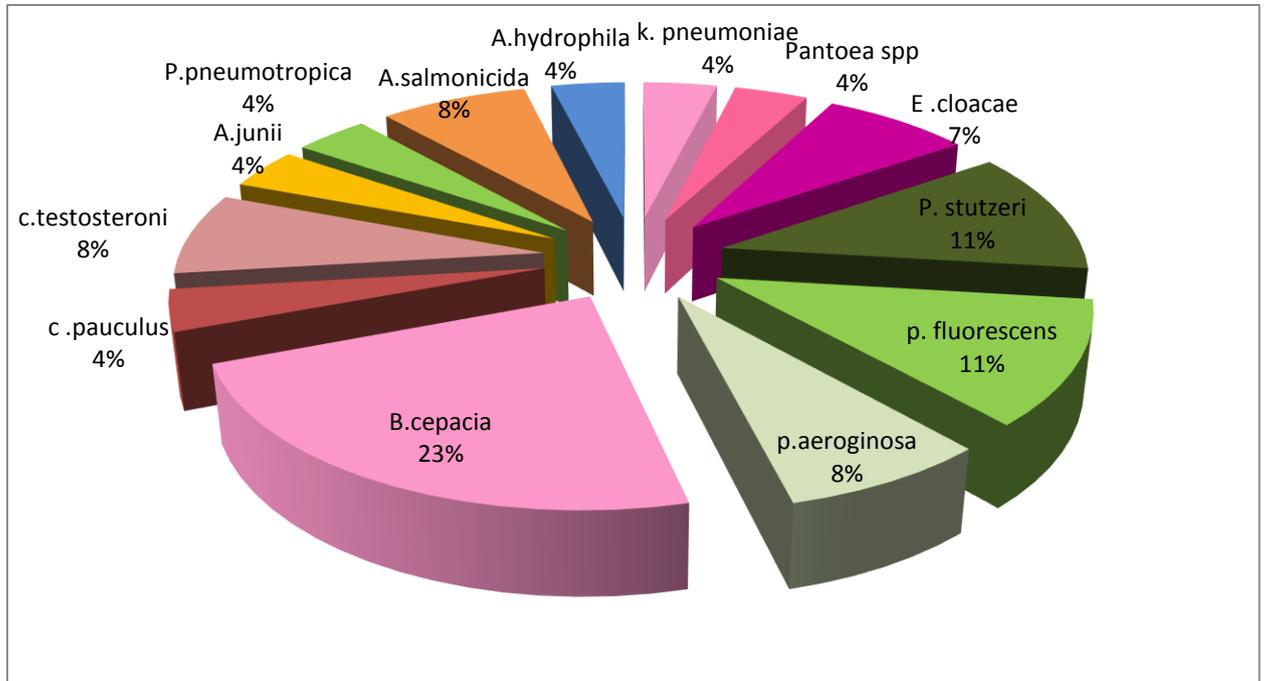
Figure3.4 : qualité bactériologique des eaux analysées

La figure montre que Sur les 101 échantillons d'eau analysé, et 53 sont de bonne qualité bactériologique (52.47%), le reste des échantillons est soit de qualité bactériologique suspecte (28.71%) ou de mauvaise qualité bactériologique (18.81%).

Notons que pratiquement la moitié des échantillons analysée est nos conformes aux exigences de la réglementation algérienne ce qui est inquiétante car n'oublie pas qu'il s'agit de prélèvements d'eau effectuée au milieu hospitalier

2. Identification biochimique des souches isolées de l'eau utilisée à l'hôpital :

Figure3.5 : Fréquence des germes isolés des eaux en milieu hospitalier



L'identification biochimique des bactéries isolées dans les 4 hôpitaux a révélé une prédominance de *Burkholderiacepacia* avec 23%, suivie de *Pseudomonas stutzeri* et *Pseudomonas fluorescens* avec 11% pour chacun. *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que *Comamonastestosteroni* ont été retrouvées à une fréquence de 8% et *Enterobactercloacae* à celle 7%.

Klebsiellapneumoniae, *Pantoeaspp*, *Cupriaviduspauculus*, *Acinetobacterjunii*, *Aeromonashydrophila* et *Pasteurella* sont les moins présents avec un pourcentage de 4%.

Nos résultats concordent avec ceux d'une étude réalisée par [Bekkari H. et al, 2016]

[28] sur l'eau potable dans un hôpital à Fes-Maroc, qui a montré aussi la présence de bactéries pathogènes opportunistes telles que : *Aeromonassalmonicida* avec un pourcentage de 19% suivie d'*Acinetobactersp* et de *Pasteurella* avec un pourcentage de 5%. Valeur pas très différentes que celles que nous avons trouvées.

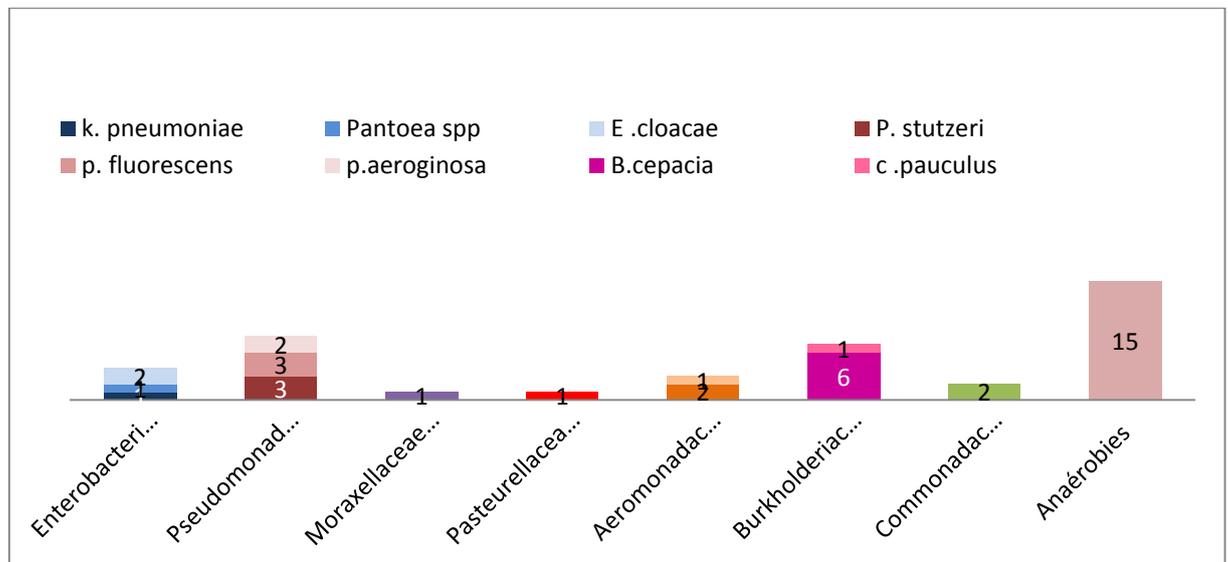
De même une étude effectuée en 2013 sur des eaux potables de plusieurs hôpitaux en Inde, a montré la présence de : 21 souches d'*Acinetobacterjunii*, 7 souches du genre *Aeromonas*, une souche du genre *Pantoea* et une du genre *Cupriavidus* [15].

Aussi En Hongrie, une étude Similaires effectuée en milieu hospitalier [16] à montrer la présence *Acinetobacter* et de *pseudomonas aeruginosa*.

Ces bactéries sont pour la plupart des pathogènes opportunistes. est sont également isolés des surfaces et de l'environnement du milieu hospitalier, ils pourraient ainsi contaminer l'eau et être responsables d'infection nosocomiales graves [20]

La fréquence des germes isolés varie d'un service à l'autre et pourrait être favorisée par la présence de biofilms et l'adaptation des souches à diverses conditions (résistance) [21]. Beaucaire G. et coll. [22], avaient noté que plusieurs infections nosocomiales d'origine hydrique ont été consécutives à la détection de biofilms formés par les microorganismes dans le réseau de distribution et dans les robinets des points d'usage de l'hôpital.

Figure3.6 : Répartition globale de bactéries isolées de l'eau selon les Famille



On plus des indices de contamination recherchées, un total de 27 souches bactériennes à gram négatif ont été isolées (tableau 1). Nous notant une prédominance des bactéries anaérobies sulfite réductrices avec 15 prélèvements positifs. (figure 3.6)

Nous avons réussi à isoler :

- 4 souches appartenant à la famille des Enterobacteriaceae : 2 *Enterobacter Cloacae*, 1 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Pantoea* spp.
- 8 souches appartenant à la famille des pseudomonadaceae : 3 *Pseudomonas stutzeri*, 3 *Pseudomonas fluorescens*, 2 *Pseudomonas aeruginosa*.

- une souche appartenant a la famille des moraxellaceae :*Acinetobacterjunii* .
- une souche appartenant a la famille des pasteurellaceae :*pasteurella pneumoniae* .
- 3 souches appartenant a la famille des Aeromonadaceae : 2 *Aeromonassalmonicida* ,1 *Aeromonashydrophila* .
- 7 souches appartenant a la famille des Burkholderiaceae : 6 *Burkholderiacepacia* . 1 *cupriaviduspauculus* .
- 2 souches appartenant a la famille des comamonadaceae : 2 *comamonastestosteroni*.

3. Etude du profil de résistance aux antibiotiques des souches isolées :

Comme nous l'avons mentionnée précédemment chaque souche a été soumise à un antibiogramme afin de déterminer la sensibilité aux différents antibiotiques ; la mesure des diamètres des antibiotiques testés est comparée aux diamètres critiques recommandés par le CLSI (voir ANNEXE6). Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

a. *Aeromonas* :

Tableau 3.3 Résultats de l'antibiogramme des souches d'*Aeromonas*

	<i>A.salmonicidaspp</i>	<i>A.salmonicidaspp</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.salmonicida</i>
AMP	S	R	S	R
ETP	S	S	S	S
KZ	R	R	S	R
FOX	S	R	S	S
CAZ	S	R	R	S
CTX	S	S	S	S
ATM	S	R	R	S
IPM	S	S	S	S
NA	S	S	S	S
CIP	S	S	S	S
CN	S	S	S	S
AK	S	S	S	S
C	S	S	S	S
SXT	S	S	S	S
F	S	S	S	S
LEV	S	S	S	S
TE	S	S	S	S

La présence des *Aeromonas* dans le milieu hospitalier est généralement liée à plusieurs types d'infections, en particulier les gastro-entérites et les infections des plaies [23].

Parmi les 4 souches d'*Aeromonas* isolées, 2 se sont montrées résistantes à la ceftazidime (CAZ) qui est une céphalosporine de 3^{ème} génération. Cette résistance est probablement due à la production par la souche d'une céphalosporinase ou d'une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE). Pour mettre en évidence ces 2 enzymes il aurait fallu effectuer des tests complémentaires. Nos résultats concordent en partie avec une étude Marocaine [Bekkari et al., 2016] sur les bactéries isolées de l'eau utilisée en milieu hospitalier.

b. *Pseudomonas* :

Tableau 3.4 Résultats de l'antibiogramme des souches de Pseudomonas

Antibiotique	<i>P.Stutzeri</i> n=3	<i>p.fluerescens</i> n=2	<i>P.fluorescens</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.cepacia</i> n=4	B.C	B.C	<i>Cupriaviduspuculus</i>
CAZ	S	S	S	s	S	S	S	S
CTX	S	S	S	s	S	S		S
ATM	S	S	S	s	S	S	R	S
IPM	S	S	S	s	S	S	S	S
TIC	S	S	R	R	S	R	R	S
CIP	S	S	S	s	S	S	S	S
CN	S	S	S	s	S	S	S	S
AK	S	S	S	S	S	S	S	S
TOB	S	S	S	S	S	S	S	S
CT	S	S	S	s	S	S	S	S
LEV	S	S	S	s	S	S	S	S
PRL	S	S	S	s	S	S	R	S
NET	S	S	S	s	S	S	S	S

Le *Pseudomonas* est l'un des principaux agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales [Lister *et al.*, 2009], avec un réservoir essentiellement hospitalier et une capacité d'acquérir et de cumuler facilement plusieurs mécanismes de résistance.

Les résultats ci-dessus ne montrent aucune résistance des souches de *Pseudomonas* aux antibiotiques testés. Sauf pour une souche de *P.aeruginosa* et une souche de *P.fluorescens* qui se sont montrées résistantes à la ticarcylone (TIC).

Ces résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par d'autres auteurs **SEFRAOUI Imane (2014)**, **Mesli (2010)**, **Sefraoui (2011)** et **Rabhi (2012)**. Où le taux de résistance de *P. aeruginosa* aux différentes classes d'antibiotiques est élevé.

Les résultats de l'antibiogramme des souches des *Burkholderia* ont montré : que la souche de *Cupriavidus pauculus* était sensible à la totalité des antibiotiques testés, par contre les 6 souches de *Burkholderia cepacia* étaient toutes résistantes à la Ticarciline (TIC). Cette résistance est une résistance naturelle (Le Bourgeois *et al.* 2005), nos résultats sont différents de ceux obtenus par d'autres études où les *Burkholderia cepacia* sont multi résistantes.

c. *Comamonas testosteroni* :

Tableau 3.5 Résultats de l'antibiogramme des souches des comamonastesteroni

	<i>C.testosteroni</i>	<i>C.testosteroni</i>
CAZ	S	S
CIP	S	S
CN	S	S
IPM	S	S
NET	S	S
ATM	S	S
CTX	S	S
CT	R	S
LEV	S	S
PRL	S	R
TIC	S	S
AK	S	S
TOB	S	S

Les 2 souches isolées sont sensibles à tous les antibiotiques testés sauf à la colistine (CT) pour l'une et à la piperacilline(PRL) pour l'autre.

Remarque : la colistine est l'antibiotique de dernier recours comme il sera expliqué plus bas.

d. Entérobactéries :

Tableau 3.6 : Résultats de l'antibiogramme des souches d'entérobactéries

Antibiotique	<i>k.pneumoniae</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>E. c loacae</i>	<i>Pantoea .spp</i>
AMP	R	S	R	R
KZ	S	R	R	R
KF	R	R	R	R
FOX	S	R	R	R
CAZ	S	S	R	R
CTX	S	S	R	R
ATM	S	S	R	S
IPM	S	S	S	S
ETP	S	S	S	S
NA	R	S	S	S
CIP	S	S	S	S
CN	S	S	S	S
AK	S	S	R	S
CT	R	R	S	R
SXT	S	S	S	S
C	S	S	S	S
F	S	S	S	S

Parmi les 4 souches d'entérobactéries isolées, la souche de *Pantoea.spp* et l'une des souches d'*Enterobactercloacae* présentent, comme pour les souches d'aeromonas étudiées, un phénotype de résistance à la ceftazidime (CAZ) qui est une céphalosporine de 3^{ème} génération.

Par contre on remarque que ses souches sont sensibles aux aminosides (gentamycine et amikacine), qui sont de premiers choix dans le traitement des infections nosocomiales à *Klebsiella.spp* et *Enterobacterspp.* . Sauf pour une des souches d'*Enterobactercloacae* qui est résistante. Nos résultats concordent en partie avec ceux de Sekhri.A en 2011, qui rapporte des résistances pour la gentamycine et pour l'amikacine [24].

Pour la souche de *Klebsiellapneumoniae* isolée on note des résistances pour :

l'ampiciline(AMP), l'acide nalidixique(NA), la cefalotine(KF) et à la colistine (CT). La résistance des souches de *Kiebsiellapneumoniae* aux ampicilines, est une résistance naturelle [Jarlier et Nordmann, 2000].

Par contre on note la résistance de 3 souches sur les 4 isolées à la colistine (CT). Ce qui devrait être alarmant car la colistine est un antibiotique prescrit pour le traitement des infections humaines sévère liées à des bactéries résistantes à toutes les autres options thérapeutiques avec l'émergence des entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC). L'émergence et la dissémination de la résistance plasmidique sont extrêmement inquiétants, compromettant le dernier rempart sur la route vers la totorésistance aux antibiotiques. (Journal des Anti-infectieux Vol 18 , issue 4, december 2016 ,page 139-159)[25]

Acinetobacter

On note que la souche d'Acinetobacter junii est résistante à la totalité des antibiotiques testés.

e. **La souche Pasteurella**

La souche que nous avons réussi à isoler est résistante à tous les antibiotiques testés à l'exception de la levofloxacine (LEV), qui est une résistance naturelle.

La détection des phénotypes de résistances par les bactéries est sensible afin d'autres l'échec thérapeutique et pour le choix d'un traitement adéquat, l'antibiothérapie doit être appuyée sur les résultats de l'antibiogramme .

Ces résistances devraient attirer l'attention des autorités concernées car bientôt nous ne trouverons plus d'antibiotiques pour soigner les infections bactériennes vu l'émergence partout dans le monde de souches multi-résistantes.

4. Evaluation de l'efficacité des produits désinfectants sur des souches de références :

Les résultats des tests de l'évaluation de l'efficacité des produits désinfectants utilisés dans les quatre hôpitaux où nous avons effectué notre prélèvement, montre qu'il y a une différence d'efficacité d'un désinfectant à l'autre et d'un genre bactérien à l'autre. Comme les montrent les tableaux ci-dessous. (Ce tests sont communément appelé pouvoir bactéricide)

Tableau 4.1 : Résultats de pouvoir bactéricide du Produit Surf^o Anios

Produit à analyser : sufrAnios						
Souches tests	Dilution de désinfectant					
	100%	50%	25%	10%	5%	1%
Staphylococcus aureus ATTC 25.923 Φ mm	23 s	21 s	19 s	17 s	18 s	12 s
Escherichia coli ATTC 25.922 Φ mm	12 s	16 S	15 S	16 s	10R	10 R
Pseudomonas aeruginosa ATTC27.853 Φ mm	22 S	19 S	17 S	15 S	9 R	7 R
Candida albicans Φ mm	28 S	24 S	23 S	19 S	18 S	14 S

Tableau4.2 : Résultats de pouvoir bactéricide du produits surfa 'safe

Produit à analyser :surf ^o safe						
Souches tests	Dilution de désinfectant					
	100%	50%	25%	10%	5%	1%
Staphylococcus aureus ATTC 25.923 Φ mm	15 s	14 s	14 s	13 s	13 s	13 S
Escherichia coli ATTC 25.922 Φ mm	9 R	8 R	6 R	<6 R	<6 R	<6 R
Pseudomonas aeruginosa ATTC27.853 Φ mm	<6 R	<6 R	<6 R	<6 R	<6 R	<6 R
Candida albicans Φ mm	35 S	30 S	26 S	24 S	19 S	17 S

Les deux premiers désinfectants testés **Surfanios** et **Surfa'safe** de la marque Anios appartiennent à la classe des ammoniums quaternaires, ont agi contre la bactérie à gram+ (staphylococcus aureus) et champignons (candida albicans), pour le produit surfa'safe il n'a marqué aucune sensibilité vis-à-vis les bactéries à gram- E.coliet Pseudomonasaeruginosa , par contre le produit Surfaniosc'est montré sensible sauf pour les dilutions supérieurs ou égale à 5 %

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **TENNSTEDT(2008)** qui a conclu que les ammoniums quaternaires sont très actifs (S) face aux bacilles Gram positif alors que leur action est nettement moins importante vis-à-vis des bacilles Gram négatif.

Tableau4.3 : Résultats de pouvoir bactéricide du Produit ANIOSGEL

Produit à analyser : ANIOSGEL						
Souches tests	Dilution de gel désinfectant					
	100%	50%	25%	10%	5%	1%
Staphylococcus aureus ATTC 25.923 Φ mm	15S	<6 R	<6	<6	<6	<6 R
Escherichia coli ATTC 25.922 Φ mm	25S	<6 R	<6	<6	<6	<6 R
Pseudomonas aeruginosa ATTC27.853 Φ mm	20S	<6	<6	<6	<6	<6 R
Candida albicans Φ mm	18S	<6	<6	<6	<6	<6

Le Gel désinfectant **ANIOSGEL** à montrer son efficacité contre les bactéries a gram + et a gram- quand il est utilisé à pur (100%), ce qui concorde avec le Spectre d'activité des désinfectants. Dilué il est inefficace [26] (voir tableau ANNEXE 8)

Tableau4.4 : Résultats de pouvoir bactéricide du Produit Dermanios scrub CG (savon antiseptique)

Produit à analyser : Dermanios scrub CG						
Souches tests	Dilution de désinfectant					
	100%	50%	25%	10%	5%	1%
Staphylococcus aureus ATTC 25.923 Φ mm	25	22.5	21	18	<6	<6 R
Escherichia coli ATTC 25.922 Φ mm	26	25	23	17	<6	<6 R
Pseudomonas aeruginosa ATTC27.853 Φ mm	18	16	14	<6	<6	<6 R
Candida albicans Φ mm	25	22.5	17	11.5	<6	<6

Le produit **Dermanios Scrub CG** aussi de la marque ANIOS , à base de digluconate de chlorhexidine, a présenté une efficacité contre toutes les souches testées à partir des dilutions. Sauf pour les dilutions supérieure ou égale à 10% .Ces résultats concordent avec le spectre d'activité de sa famille [26]

Tableau 4.5: Résultats de pouvoir bactéricide de l'eau de javel NASSAH

Produit à analyser : NASSAH						
Souches tests	Dilution de désinfectant					
	100%	50%	25%	10%	5%	1%
Staphylococcus aureus ATTC 25.923 Φ mm	18 s	22 s	17 s	14 s	11 I	<6 R
Escherichia coli ATTC 25.922 Φ mm	45 S	26 S	15 S	9 R	8 R	<6 R
Pseudomonas aeruginosa ATTC27.853 Φ mm	45 S	39 S	22 S	8 R	7 R	<6 R
Candida albicans Φ mm	28 S	17 S	15 S	13 S	11 I	10 R

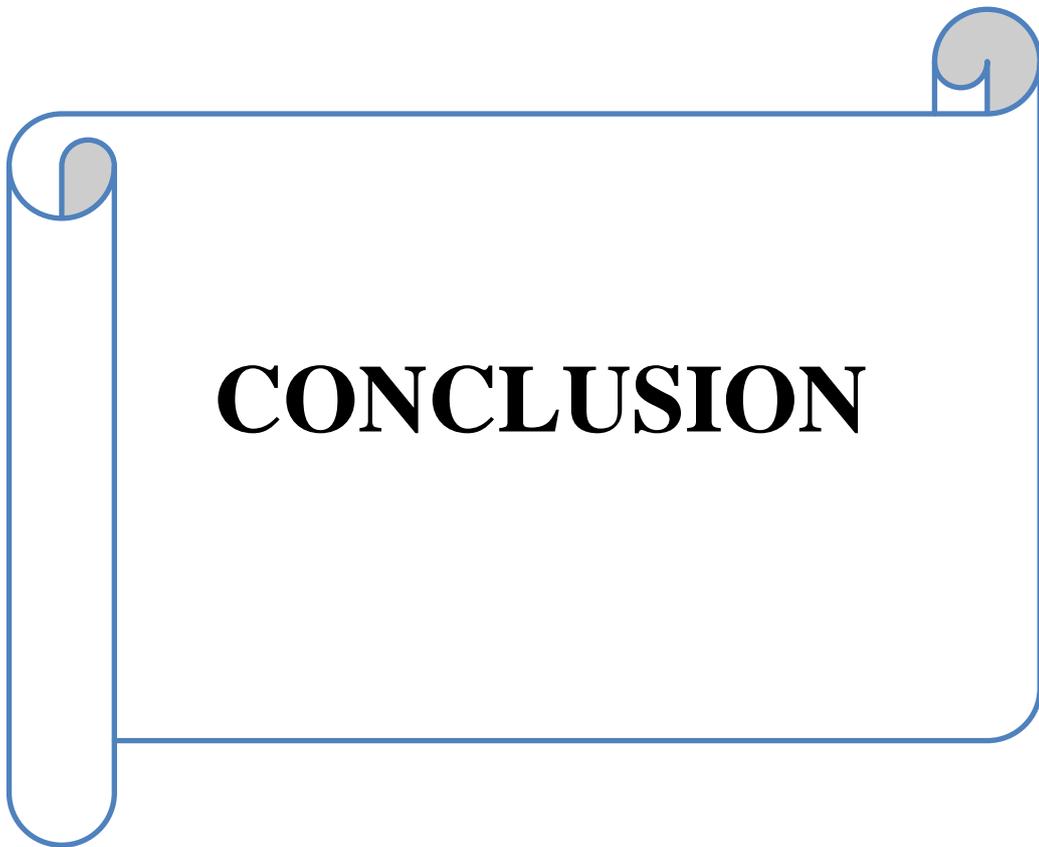
Le désinfectant **Eau de Javel NASSAH** appartient à la classe des halogénés (dérivés chlorés).

À l'état pur, il est efficace sur toutes les souches testées, Cependant il s'est montré résistant lorsque la dilution du désinfectant est supérieure ou égale à 10% (voir tableau)

La sensibilité des bactéries vis-à-vis de ce produit était élevée.

Les résultats ci-dessus, sont en accord avec les études faites par Rouillon et al[27]

Selon **MOUNIER et al(2009)**, les dérivés chlorés agissent comme Oxydants, ils dénaturent les protéines, inactivent les acides nucléiques et ont aussi une action sporicide.



Les analyses bactériologiques des eaux en milieu hospitaliers ont montré un niveau de contamination qui dépasse les limites d'acceptabilités.

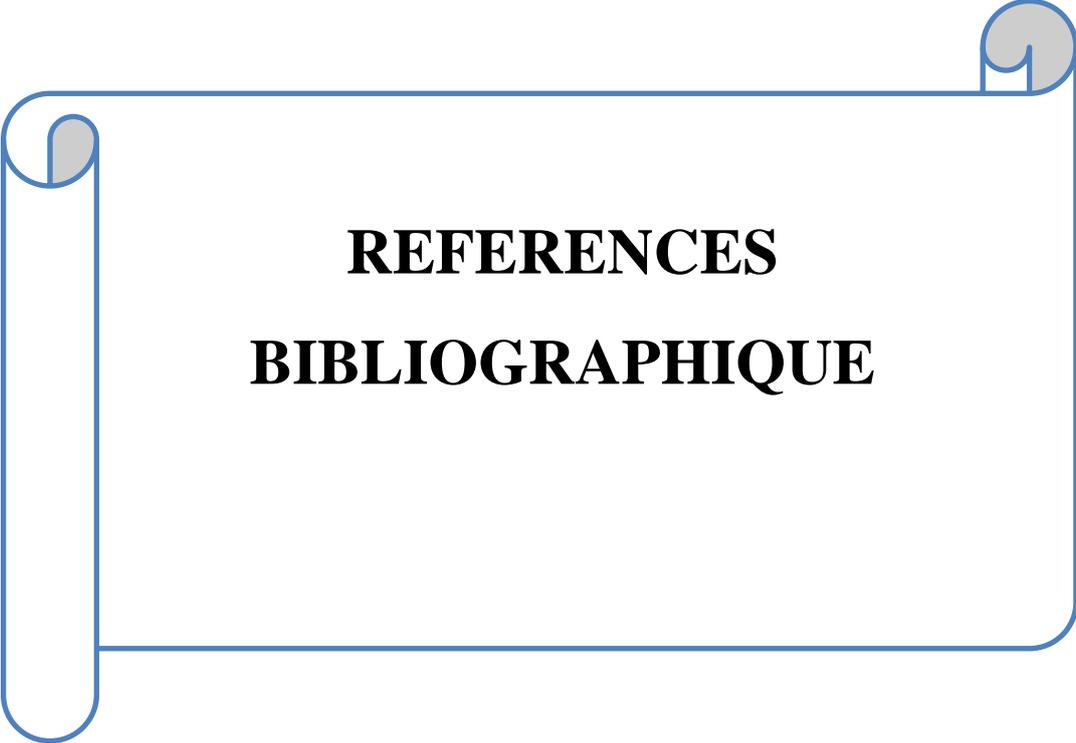
Les 101 prélèvements ont révélé une présence des Coliformes Totaux (indices de contamination fécale récente) avec la prédominance des anaérobies sulfite réducteurs ASR, dans la majorité des services hospitaliers ce qui ne répond pas aux exigences de la réglementation Algérienne.

L'identification des bactéries isolées a révélé la présence des bactéries d'origines hydrique, environnementale, humaine telles que, *Klebsiellapneumoniae*, *Aeromonassalmonicida*, *pseudomonasaeruginosa*, *Pasteurella*, *Acinitobacter*, *Aeromonashydrophila*, *Enteobactercloacae*, *Comamonastestosteroni* et *Burkholderiacepacia*.... Le taux d'isolement de ces bactéries varie entre les hôpitaux et les services, ce qui constitue un risque potentiel pour les patients hospitalisés et le corps soignant.

Le pouvoir bactéricide des 5 produit désinfectants utiliser par les hôpitaux concernées a montré que qu'ils sont inefficaces sur les majorités des souches lorsqu'ils sont employés à l'état dilué. Il est donc essentiel de respecter scrupuleusement les conditions d'utilisation des produits (concentrations et mode d'emploi) afin d'éviter l'émergence de souches résistantes.

La plupart des souches testées ont montré une résistance à la majorité des antibiotiques de la famille des β -lactamines. Ce qui devriez être préoccupant pour les autorités concernées. Comme pour tous les pays au monde nous assistants a l'émergence des bactéries multi-résistantes.

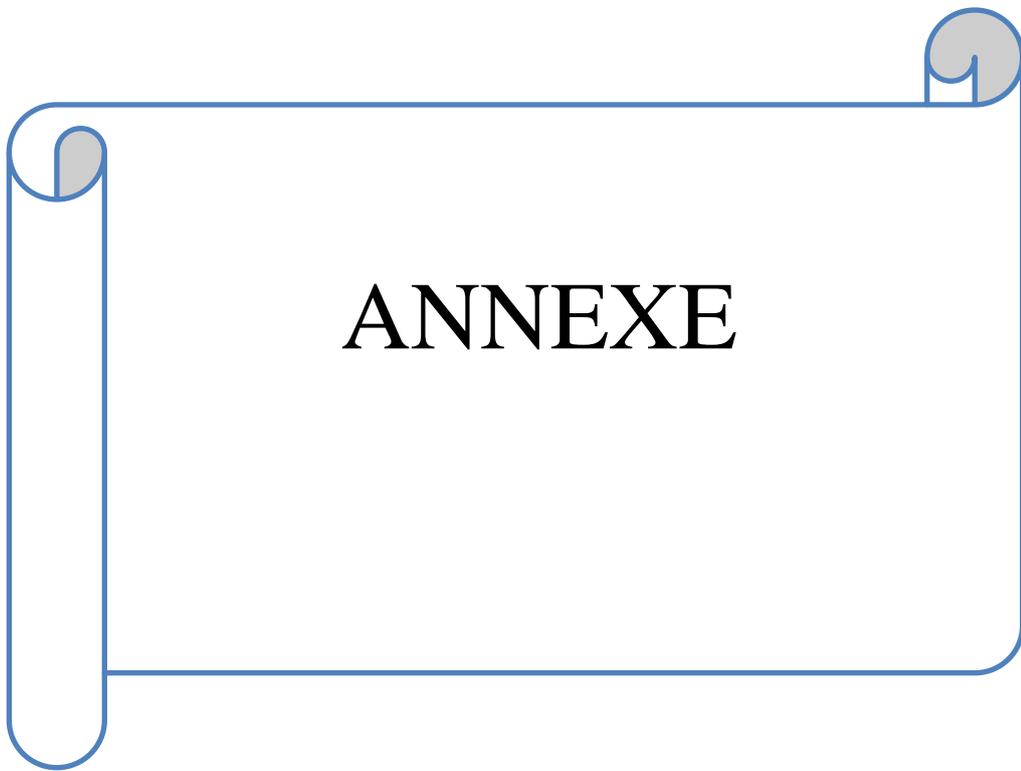
La surveillance microbiologique de l'eau utilisée à l'hôpital est extrêmement importante afin de réduire au minimum l'exposition des patients immunodéprimés à une eau contaminée et prévenir les infections par conséquent des agents pathogènes multi résistants.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

1. 1. professeur Philippe HARTEMANN_ guide technique La qualité de l'eau dans les établissements de santé L'eau dans les établissements de santé_ édition2005.
2. Golberg A., Linshiz G., Kravets I., Stawski N., Hillson N J., Yarmush M L., Marks R S., Konry T., *DropletMicrofluidics for BacteriaDetection*. 9 (2014) 86341.
3. Rolain J. M., Canton R., and Cornaglia G., *ClinicalMicrobiology and Infection* (2012).
4. Meunier O., Meistermann C., Schwebel A., *Pathologie Biologie*. 57 (2009) 252-257.
5. (Weber DJ, Rutala WA. Environmental issues and nosocomial infections. In :Wenzel RP. Prevention and control of nosocomial infections (3rd ed). Williams & Wilkins, Baltimore, 1997, 491-514).
6. Rutala WA, Weber DJ. Water as a reservoir of nosocomial pathogens. *Infect Control HospEpidemiol* 1997 ; 18: 609-16
7. Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. *Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN_france_2002*.
8. FRENKIAN GP., RAGON A., DONADEY A. Importance de la qualité de l'eau dans le traitement par hémodialyse de l'insuffisance rénale chronique, *RBM*, 25-28).
9. Recommandations pour la production d'eau pour la dialyse des patients insuffisants rénaux Ministère de l'Emploi et de la Solidarité - Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé juin _france 2000.
10. GUIDE TECHNIQUE_ MINISTERE DES SOLIDARITES, DE LA SANTE ET DE LA FAMILLE_ Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins_ Direction Générale de la Santé.
11. OMS : Organisation Mondiale de la santé , Guide pratique_ Prévention des infections nosocomiales_ 2ème édition
12. Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. Amazian,1,2 J. Rossello,3 A. Castella,4 S. Sekkat,5 S. Terzaki,6 L. Dhidah,7 T. Abdelmoumène et les membres du réseau NosoMed_EMHJ _Vol. 16 (2010)_ Eastern Mediterranean Health Journal La Revue de Santé de la Méditerranée orientale
13. 09/06/2018_ YAHIA ARKAT_ Problématique des infections nosocomiales: L'ALGÉRIE PROFONDE _Actualités JOURNÉES EURO-MAGHRÉBINES SUR L'HYGIÈNE HOSPITALIÈRE AU CHU DE TIZI OUZOU Problématique des infections nosocomiales_
14. Rodier J., Legube B., Merlet N., et Coll., 9e édition. Dunod, Paris, (2009): © GettyImages ISBN 978-2-10-054179-9.
15. (Bactériologie Médicale_ Jean Pierre Flandrois)
16. Boukhatem. L. (2013) .Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Microbiologie, Université AboubekerBelkaid Tlemcen .
17. le journal officiel de la république ALGERIENNE N° 13 (7 Jomada El Oula 1435 /9 mars 2014) relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine par le Décret exécutif n°14-96 du 2 Jomada El Oula 1435 correspondant au 4 mars 2014.
18. F.scinazi eau du réseau dans les établissements de santé : maîtrise des risques infectieux hydrique _ Méd Mal Infect 2000 :431-40)

19. ElOualiLalami A., El-Akhal F., Oumokhtar B., *Int J Pharm Bio Sci.* 6(1) (2015) 977-983
20. César de la Fuente-Núñez, Reffuveille F., Fernández L., and EW Hancock R., *Current Opinion in Microbiology.* 16 (2013) 580-589.
21. Beaucaire G., Cattoen C., Levent T., Prélèvements d'environnement dans les établissements de santé : Modes opératoires D:\travail\hygiène\hh128. (2001).
22. Monteil H. Harf-Monteil C., Institut de Bactériologie, Faculté de Médecine, Strasbourg, France, 26(37), 1761-1834.
23. (Sekhri. A. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiellapneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Ben Badis de Constantine. Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences. Année universitaire: 2010-2011)
24. (AYAD AMEL _memoir fin d'étude_ *Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au CHU de Tlemcen_2011*
25. CAPP-INFO, N°46, 2007 _guide de prévention des infections_ décembre 1998 _Volume 24S8)(P.Guerre)
26. Avril JI., Dabernat H., *Bactériologies cliniques*, (2002) 186-270, 2^{ème} édition ellipses.
27. Evaluation de la contamination des eaux utilisées en milieu hospitalier : Effets d'antibiotiques et de désinfectant usuels sur les germes isolés _H. Bekkari1* , H. Touijer1,2 , S. Berrada2 , M. Ettaybi1 , N. Benchemsi4 , S. Maniar5 , A. El Ouali Lalami2,3)_ *Journal. Mater. Environ. Sci.* 7 (1) (2016) 1-8 _ ISSN : 2028-2508



ANNEXE

ANNEXE 1

✓ Milieux de culture de laboratoire (Institut Pasteur d'Algérie)

❖ **Milieu de conservation :**

- Composition Type (g/l)

Extrait de viande	3
Protéose peptone	10
Chlorure de sodium	3
Di sodium phosphate	0.8
Agar	10

Dissoudre 25,8g de l'agar de conservation dans un litre d'eau distillée, autoclave 15min à 121°C, pH=7.

❖ **Eau distillée Eau Physiologique**

Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	100ml

Filtration sur membrane et stérilisation 15min à 121°C, PH=7.

❖ **Eau distillée Eau Physiologique**

- Composition Type (g/l)

Peptone de viande	10
Tryptone	10
Chlorure de sodium	5

- Préparation

Dissoudre 25g de poudre dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C, PH=7.2.

❖ **GELOSE TSI (triple SugarIron) :**

Composition Type (g/l)	
Peptone de viande	15
Proteose peptone	5
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Glucose	1
Saccharose	10
Lactose	10
Citrate de fer ammoniacal	0.3
Chlorure de sodium	5
Sodium Thiosulfate	0.3
Rouge de phénol	0.05
Agar	18

Dissoudre 70.65g dans un litre d'eau distillée ; repartir a raison de 7ml par tube a vis incline ; autoclaver 15 min a 121° C ; Ph =7.4 +/- 0.1.

❖ **BOUILLON TSE :**

Composition TYPE (g/l)	
Tryptone1	
Chlorure de sodium	8.5

Dissoudre 9.5g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min a 121 ° C ; Ph=7.2

❖ **Milieu VF (Viande – Foie) :**

La gélose VF SR est un milieu complet utilise pour le dénombrement des spores de chlostridium sulfite réducteurs dans les produits laitiers et autres produits alimentaires.

Composition Type (g/l)			
	BVF	GVF	VF SR
Base viande foie	29.5	30	30
D glucose	2	2	2
Chlorhydrate De cysteine	0.5	/	/
Amidon	/	/	2
Agar	/	8	20

❖ **Gélose lactose au T.T.C et TERGITOL (base) :**

Milieu solide qui permet la recherche et le dénombrement des coliformes. Il est utilise sur tout pour la colimétrie des eaux par la méthode des membranes filtrantes.

Composition Type (g/l)	
Peptone de viande	10
Extrait de viande	5
Extrait de levure	5
Lactose	20
Bleu de Bromothymol	0.05

Agar	18
-------------	-----------

Dissoudre 58.05g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min a 121°C ;
pH=7.2 .Ajouter éventuellement l'additif TCC Tergitol .

❖ **gélose nutritifs :**

Milieu universels pour la croissance, et la numération des germes peu exigeants dans les
eaux, les boissons et les produits biologique

Composition Type (g/l)

PEPTONE	10
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Agar	18

Dissoudre 39g de la gélose nutritive (GN) dans un litre d'eau distille ; autoclaver 15 min
a 121 °C ; Ph=7.3+/-0.2.

✓ **Réactifs**

❖ **Réactif de KOVACS pour la recherche de l'indole :**

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de l'indole d'origine bactérienne en vue de
l'identification des micro-organismes indole positifs et indole négatifs.

Composition

Para-dimethyl-amino-benzaldehyde

Alcool iso amylique

Acide chlorhydrique

❖ **Réactif de GREISS –ILOS V AY pour la recherche des nitrites :**

Solution réactionnelle pour la mise en évidence des nitrites formés par les bactéries, pour l'identification des micro-organismes réduisant les nitrates.

Composition :

Nitrate réductase I :

Acide -naphtylamine

Acide acétique

Nitrate reductase II :

Alpha –naphtylamine

Acide acétique

ANNEXE 2

Figure : La rompe de Filtration utilisée dans notre travail





Eau d



Surfa' Safe



Derr



Surfan



Anios GEL

ANNEXE 3

Les méthodes de références utilisées pour la recherche et le dénombrement des bactéries

- Norme NF EN ISO 9308 – 1 : Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries Coliformes partie 1. Méthode par filtration sur membrane.
Norme ISO 7899- 2 et Norme NF T 90-416. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux. Partie 2 méthode par filtration sur membrane.
- Norme ISO 7899- 2 et Norme NF T 90-416. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux. Partie 2 méthode par filtration sur membrane
- Norme NF T 90-415. Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de *Clostridium sulfito-réducteurs*. Méthode générale par incorporation en gélose en tubes profonds.
- Norme NF T 90 421. Recherche et dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive dans les eaux destinées à la consommation humaine.

Méthode par filtration.

- Norme NF EN 12780. Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux destinées à la consommation humaine. Méthode par filtration
- Norme NF ISO 7218 : Règles générales pour les examens microbiologiques.
- Norme XP V 08-102 : Règles générales pour le comptage des colonies et l'expression des résultats : cas des dénombrements en milieu solide.
- Norme NF ISO 17025 : Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais.

ANNEXE 4 : Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeantes

Entérobactéries	Pseudomonas	Acinetobacterspp.	Aeromonasspp.
Ampicilline ^a (10µg)	Ticarcilline(5µg)	Ticarcilline (75µg)	Amoxicilline+ ac
Amoxicilline Acide clavulanique (20/10µg)	Ticarcilline acide clavulanique (75/10µg)	Ticarcilline + acide clavulanique(75/10µg)	Clavulanique (20/10µg)
Aztréonam [†] (30µg)	Pipéracilline (100µg)	Pipéracilline(100µg)	Céfazoline (CMI)
Céfalotine(30µg)	Céftazidim (30µg)	Céftazidime(30µg)	Céfoxitine (30µg)
Céfazoline	Aztréonam(10µg)	Imipénème(10µg)	Céfotaxime (30µg)
Céfoxitine	Impipéném (10µg)	Amikacine(30µg)	Céftazidime(30µg)
Céfotaxime	Amikacine (30µg)	Gentamicine(10µg)	Ertapénème (10µg)
Céftazidime (30µg)	Gentamicin (10µg)	Tobramycine(10µg)	Imipénème (10µg)
Imipénème (10µg)	Tobramycine(10µg)	Nétilmicine(CMI élément)	Aztréoname(30µg)
Ertapénème (10µg)	Nétilmicine (30µg)	Ciprofloxacine(5µg)	Gentamicine (10µg)
Amikacine (30µg)	Ciprofloxacine(5µg)	Lévofloxacine (5µg)	Amikacine(30µg)
Gentamicine (10µg)	Lévofloxacine(5µg)	Doxycycline (30µg)	Tétracycline(30µg)
Acide nalidixique(30µg)	Fosfomycine (CMI)	Triméthopri sulfaméthoxazole(1.25/23.75µg)	Ciprofloxacine (5µg)
Ciprofloxacine (5µg)	Colistine (10µg)	Colistine (CMI élément)	Triméthopri+sulfaméthoxazole(1.25/23.75µg)
Colistine (CMI)			Chloramphenicol(30µg)
Chloramphénicol (30µg)			
Furanes(300µg)			
Triméthopri ne+ sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)			
Fosfomycine (200µg)			

ANNEXE 5: Technique d'antibiogramme (diffusion de disques antibiotiques).

Microorganismes	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation
Entérobactéries Pseudomonas Aeruginosa Acinetobacter Spp. Staphylococcus Spp. Enterococcus Spp. Vibrio Cholerae- Vibriospp. Aeromonas Spp. Plesiomonas Spp. Autres Bactéries non exigeantes	Gélose Mueller- Hinton	0.5MF en eau physiologique	18 heures (à prolonger pour OXA et VAN/TEC° 35c° Atmosphère ordinaire

Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les ***Pseudomonas aeruginosa***

ANTIBIOTIQUES	Charge Des	Diamètres Critique (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
	Disques						
Tiracilline + ac clavulanique	75/10 µg	≤15	16-23	≥24	≤128 /2	32/2-64/2	≥16 /2
Ticarcilline	75 µg	≤15	16-23	≥24	≤128	32-64	≤16
Piperacilline	100 µg	≤14	15-20	≥21	≤128	32-64	≤16
Ceftazidime	30 µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Aztreonam	30 µg	≤15	16-21	≥22	≥32	16	≤8
Imipenem	10 µg	≤15	16-18	≥19	≥8	4	≤2
Amikacine	30 µg	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16
Gentamicine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Netilmicine	30 µg	≤12	13-14	≥15	≥32	16	≤8
Tobramycine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Ciprofloxacine	5 µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1
Levofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	4	≤2
Colistine	10 µg	≤10	-	≥11	≥8	4	≤2

LES valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour ***Acinetobacterspp***

ANTIBIOTIQUES	Charge Des	Diamètres Critique (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
	Disques						
Trimethoprime+ sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16	≤4/76	-	≥2/38
Ticarcilline	75 µg	≤15	16-23	≥24	≤128	32-64	≤16
Piperacilline	100 µg	≤14	15-20	≥21	≤128	32-64	≤16
Ceftazidime	30 µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Aztreonam	30 µg	≤15	16-21	≥22	≥32	16	≤8
Imipenem	10 µg	≤15	16-18	≥19	≥8	4	≤2
Amikacine	30 µg	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16
Gentamicine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Netilmicine	30 µg	≤12	13-14	≥15	≥32	16	≤8
Tobramycine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Ciprofloxacine	5 µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1
Levofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	4	≤2
Colistine	10 µg	≤10	-	≥11	≥8	4	≤2
Doxycycline	30 µg	≤9	10-12	≥13	≥16	8	≤4
Trimethoprime + sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38

Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour
Pasteurella spp

Comité de l'antibiogramme de la société française (CA-SFM / EUCAST 2017)

Antibiotique	Concentration critique (mg/l)		Charge du disque (µg)	Diametre critique (mm)	
	S ≤	R ≥		S ≥	R ≤
Penicilline G	0.05	0.05	1 unite	17	17
Ampicilline	1	1	2	-	-
Amoxicilline-acide Clavulanique	1	1	2-1	15	15
Amoxicilline	1	1		-	-
Cefotaxime	0.03	0.03	5	26	26
Ciprofloxacine	0.06	0.06	5	27	27
Levofloxacine	0.06	0.06	5	27	27
Acide nalidixique (depistage)	NA	NA	30	23	-
Doxycycline	1	1		-	-
Tetracycline (depistage)	NA	NA	30	24	24
Trimethoprime-sulfamethoxazole	0.25	0.25	1.25-23.75	23	23

Les valeur critique des diametre des zones d'inhibition et des **CMI** pour **Aeromonasspp** (CLSI)

ANTIBIOTIQUES	Charge Des Disques	Diametres Critique (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Amoxicilline + Ac clavulanique	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≥8/4
Cefazoline	75 µg	≤15	16-23	≥24	≥128	32-64	≤16
Cefotaxime	30 µg	≤22	23-25	≥26	≥4	2	≤1
Ceftazidime	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4
Cefoxitine	30 µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Ertapeneme	10 µg	≤15	16-18	≥19	≥8	4	≤2
Imipenem	30 µg	≤13	14-15	≥16	≥16	8	≤4
Amikacine	10 µg	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16
Gentamicine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Aztreonam	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4
Tetracycline	30 µg	≤11	12-14	≥15	≥16	8	≤4
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1

ANNEXE 7

Tableau 1.4 : classification des antibiotiques selon leur mode d'action [Bambeke et Tulkens,2008].

Rôle	Famille d'antibiotique	Mode d'action
Inhibition de la synthèse de la paroi	β -lactamines	Fixation aux PLP,enzyme « Transpeptidase » impliquées dans l'assemblage du peptidoglycane
	Fosfomycine	Ils agissent sur la pyruvate- N- acétyl –glucosamine-trasférase, enzyme permettant de constituer les précurseurs du peptidoglycane
Altération de la membrane cytoplasmique	Polymyxine	Destruction de la membrane comme un détergent
Inhibition de la synthèse protéique	Phénicoles	Attachement à la sous unité 50S (site A des ribosomes empêchant l'attachement des amino-acyl-ARNt au site A du ribosome
	Aminosides	Attachement à la sous unité 30S provoquant une erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines
	Tetracyclines	Attachement à la sous unité 30S (siteA des ribosomes empêchant l'attachement des amino-acyl-ARNt au site A du ribosome
Action sur l'ADN	Quinolones	Agit sur l'ADN gyrase responsable de l'enroulement en super hélice de l'ADN
Action sur les métabolismes intermédiaires	Sulfamides	Inactivation d'enzymes impliquées dans la synthèse des purines et de certains acides aminés essentiels

ANNEXE 8

Spectre d'activité de quelques désinfectants (Guyader 1996)

Désinfectants	Bactéries		Mycobactéries	Spores	Moisissures	Levures	Virus / Phages
	Gram +	Gram -					
Acide péricétique	+++	+++		++	++	++	++
Alcools	++	++		0	++	++	+
Alcool à 70 °	++	++	0	+	+	++	+
Glutaraldéhyde	+++	+++	++	+	+++	++	++
Ammoniums quat.	+++	+*	0	0	+	+	+
Amphotères	+++	+		0	+	+	0
Biguanidine	++	++		0	(+)	(+)	0
Chlorhexidine	+++	++	+	0	+	+	0
Chlore	+++	+++	++	++	++	++	++
Dérivés mercuriels	++	++	0	0	+	+	
Dérivés phénoliques	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Eau oxygénée	+++	+++		+	+	+	0
Iode	+++	+++	++	++	++	++	++

+++ : très bonne activité 0 : activité nulle
Pseudomonas

* : pas d'action sur

++ : bonne activité ± : activité faible

+ : activité moyenne (+) : activité inconstante

