



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique*

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE : Biologie**

**OPTION: Microbiologie générale**

**Thème**

*Analyse Microbiologique Des Liquides  
D'hémodialyse De L'unité De Dialyse De L'EPH  
Ali Boushaba Khenchela*

**Présenté par :**

**ZEDIRA Hadjer**

**KARKAR Fahima**

**Encadré par :**

**CHORFI K.**

*Soutenu le 31/05/2016*

**Jury de soutenance**

**Président : M<sup>me</sup> BENDJEMANA K.(M.C)Univ. AbbèsLaghrou – Khenchela**

**Encadreur : M<sup>elle</sup> CHORFI K. (M.A.B)Univ. AbbèsLaghrou–Khenchela**

**Examineur : M<sup>elle</sup> YAKHLEF W.(M.A.B)Univ. AbbèsLaghrou–Khenchela**

**Promotion : Mai 2016**

---

**Le travail a été réalisé au niveau de l'Etablissement Public Hospitalier Ahmed Ben Bella de  
la wilaya de Khenchela**



سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّا كُنَّا نُحْسِنُ

بِالْحَقِّ  
الْعِظَمَاءُ

﴿سورة البقرة: من الآية: 31﴾

*Je dédie ce travail*



## *Dédicaces*

*A ALLAH : Louange et Gloire à DIEU le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail*

*À Mes très chers parents*

*À Ma mère, tu as été toujours à mes côtés, merci pour tous tes sacrifices. Que DIEU le tout puissant te protège et te garde en bonne santé.*

*À Mon père qui m'a toujours aidé et soutenu, vous m'avez transmis l'amour de la Science et le savoir*

*À Mes frères : Adnane, Abd elrahmen*

*À Mes sœurs : Zineb, Kawthier, Baraa, Abir, Khawla*

*A ma grande mère*

*Vos prières ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*À tous mes collègues et amis de promotion de master Microbiologie, pour l'atmosphère à la fois critique et amicale qui a régné pendant nos années d'étude.*

*Et spécialement à mon amie Asma, pour moi tu es plus qu'une amie, une sœur, toute ma gratitude et mon amour.*

*À mes collègues de travail Soulef, Halla, Chahera, Fouzia, Hanan, Amel, Hamid bouhleb, Lakhedher, Sabrina, Salim et tous et toutes les médecins*

*A ma chère amie et binôme de travail Fahima qui me donne l'espoir pour avancer dans notre travail.*

*Enfin, à tous ceux qui, par leur présence et leur amitié, ont joué un rôle important pour la Concrétisation de ce travail.*

*Hadjer*

*Je dédie ce travail*



*A ALLAH: Louange et Gloire à DIEU le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail*

*A ma mère: Ma douce et tendre mère, Quoi que je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, C'est bien grâce à toi. Je ne serai jamais devenu la personne que je suis aujourd'hui sans elle. Que dieu te donne longue vie et te protège.*

*A mon père: Qui nous a quittés avant de voir aboutir le fruit de ses prières et de ses sacrifices, merci de m'avoir transmis ta volonté de fer, et la rage de vaincre, ta mémoire restera à jamais gravée dans mon cœur.*

*A mes très chères sœurs: Nadia, Radia, Nassima, Nafissa, Chehrazed et soumia, qui étant à mes coté dans les Meilleurs moments comme dans les mauvais, je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous.*

*A mes très chers frères: Nabil et Nacer Edinne, j'ai beaucoup apprécié l'estime et l'amour fraternel que vous me portez. Que dieu vous préserve.*

*A mes chers neveux et nièces: Iwan, Mohib, Maya, Rinade, Ldya, Rhitel et Adam.*

*Mon mari Hakim...tes sacrifices, ton soutien moral, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.*

*A mes beaux parents nourEddine et Malika et toute ma belle-famille, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur*

*A toutes mes camarades de promotion, surtout khawla, Rania, Khadija et Hayam*

*Et plus particulièrement à khawla latrech, Tu as été pour moi durant ces années passées ensemble plus qu'une amie, une sœur. Toute ma gratitude et ma sympathie.*

*Enfin, je dédie ce travail à mon binôme et amie Hadjer qui m'a encouragé quand j'étais au plus bas de mon moral, qui s'est battue à ma place quand je n'avais plus la force... tout le mérite te revient ma très chère amie.*

*Fahima.*



# Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remercions **ALLAH** qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Madame **Bendjemana K**, Vous nous avez fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

Madame **Yakhlef W**, Vous nous avez fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail et nous avons eu la chance d'être vos étudiantes. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect.

Nous remercions notre promoteur de thèse **M<sup>lle</sup> Chorfi. K** d'avoir accepté d'encadrer notre travail et pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nos remerciements vont aussi au corps professoral et administratif de la Faculté des Science de la nature et de la vie, et sur tous **M<sup>r</sup> Chenaker Hichem** pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de l'E.P.H Ahmed ben bella de la wilaya de Khenchela, Nous remercions **M<sup>r</sup> Remadnia Rachid** (chef de service de laboratoire), **D<sup>r</sup> Benhouria Toufik**, **M<sup>me</sup> Bouttaba houda** et tout le personnel pour nous avoir accueilli au sein de leur laboratoire.

Nous remercions aussi **M<sup>r</sup> Mizane Ismaïl** et **M<sup>r</sup> Harath** et **M<sup>r</sup> Zidane saïd** les chefs service de l'unité d'hémodialyse Ali Boushaba Khenchela pour leur accueil et leur aide.

Nous remercions aussi **M<sup>me</sup> Chorfi R.** responsable des laboratoires pédagogiques de l'université Abbes Laghrour Khenchela pour son accueil et son aide dans le déroulement d'expérimentations et aussi tout le personnel.

Enfin, un immense merci à, nos camarades de promotion, nos amies et nos collègues de travail pour les encouragements et soutiens inaltérables, sans qui ce travail de thèse n'aurait pas été possible.

Merci à tous et à toutes.

# Table des Matières

|   |    |
|---|----|
| Introduction.....   | 1  |
| 1 <sup>ère</sup> Partie : Synthèse bibliographique          |    |
| <b>Chapitre 1</b> : Anatomie et physiologie des reins.....  | 3  |
| I. Appareil urinaire.....                                   | 4  |
| II. Organisation rénale.....                                | 4  |
| II.1. Anatomie macroscopique des reins.....                 | 4  |
| II.2. Anatomie microscopique des reins.....                 | 5  |
| II.2.1. Le néphron.....                                     | 5  |
| II.2.1.1. Le glomérule.....                                 | 6  |
| II.2.1.2. Les tubes rénaux .....                            | 7  |
| II.2.2. La circulation rénale .....                         | 7  |
| II.2.2.1. Réseaux artériel.....                             | 8  |
| II.2.2.2. Réseaux veineux.....                              | 8  |
| II.3. La physiologie rénale.....                            | 8  |
| II.3.1. La filtration glomérulaire.....                     | 8  |
| II.3.2. Le débit de filtration glomérulaire (DFG).....      | 9  |
| II.4. Fonctions des reins .....                             | 9  |
| III. L'insuffisance rénale.....                             | 10 |
| III.1. Généralités .....                                    | 10 |
| III.1.1. L'insuffisance rénale aiguë.....                   | 11 |
| III.1 .2. L'insuffisance rénale chronique.....              | 11 |
| III.2. Etiologie de l'insuffisance rénale chronique.....    | 12 |
| III.3. Physiopathologie.....                                | 12 |
| III.4. Diagnostic biologique.....                           | 13 |
| III.4.1. La créatinine .....                                | 13 |
| III.4.2. La clairance à la créatinine.....                  | 13 |
| III.5. Conséquence de l'insuffisance rénale chronique.....  | 14 |
| III.6. Les traitements de suppléance rénale.....            | 14 |
| III.6.1. Principes généraux de l'épuration extrarénale..... | 15 |
| III.6.2. Dialyse péritonéale.....                           | 16 |
| <b>Chapitre 2</b> :L'hémodialyse.....                       | 17 |
| I. L'hémodialyse.....                                       | 18 |
| I.1. Généralités.....                                       | 18 |
| I.2. Définition.....  | 18 |
| I.3. Matériels d'hémodialyse.....                           | 19 |
| I.3.1. Le dialyseur.....                                    | 19 |
| I.3.2. Le générateur de dialyse.....                        | 19 |
| I.4. Le Dialysat.....                                       | 20 |
| I.5. Les Abords vasculaires pour hémodialyse.....           | 21 |
| I.6. Le circuit sanguin extracorporel.....                  | 21 |
| II. Risque infectieux en hémodialyse .....                  | 22 |
| II.1. Sources d'infection.....                              | 23 |
| II.2 .Les contaminations du dialysat.....                   | 23 |

|   |    |
|---|----|
| II.2.1. Contaminations bactériennes du dialysat .....                                 | 23 |
| II.2.2. Contamination microbiennes.....   | 25 |
| II.2.3. Contamination virales.....  | 25 |
| II.2.4. Le biofilm.....   | 25 |
| II.2.5. Les endotoxines.....  | 26 |
| III. Les Acteurs de la Standardisation de la qualité.....                             | 26 |
| IV. Méthodes d’analyses.....  | 27 |
| IV.1. Technique de filtration sur membrane.....                                       | 27 |
| V. Conséquences potentielles de la contamination microbienne de l’eau de dialyse..... | 28 |

## Partie pratique

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Matériels et Méthodes.....</b>   | <b>29</b> |
| I. Caractéristiques générales du site d’étude.....                              | 30        |
| II. Le recueil des données.....   | 31        |
| III. Echantillonnage .....  | 31        |
| IV. Les paramètres bactériologiques .....                                       | 33        |
| IV.1. Analyse bactériologique des échantillons du Site 1 .....                  | 34        |
| IV.1.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux.....                    | 34        |
| IV.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux ou thermotolérants..... | 34        |
| IV.1.3. Recherche et dénombrement des entérocoques fécaux.....                  | 35        |
| IV.2. Analyse bactériologique des échantillons du Site 2 .....                  | 35        |
| IV.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries viables aérobies.....           | 35        |
| IV.2.2. Recherche des germes pathogènes.....                                    | 36        |
| IV.2.2.1. Isolement des Entérobactéries.....                                    | 36        |
| IV.2.2.1.1. Biodiversité morphologique et métabolique des isolats.....          | 36        |
| IV.2.2.1.2. Purification des souches bactériennes.....                          | 37        |
| IV.2.2.1.3. Etude l’aspect microscopique.....                                   | 37        |
| IV.2.2.1.4. Identification biochimique classique.....                           | 38        |
| IV.2.2.1.4.1. Etude de la dégradation du glucose, saccharose lactose en milieu  | 39        |
| IV.2.2.1.4.2. Utilisation du citrate comme source de carbone                    | 39        |
| IV.2.2.1.4.3. Test du mannitol mobilité.....                                    | 40        |
| IV.2.2.1.4.4. Recherche de l’uréase.....  | 40        |
| IV.2.2.1.4.5. Recherche de l’indole.....  | 40        |
| IV.2.2.1.4.6. Recherche de tryptophane désaminase (TDA).....                    | 41        |
| IV.2.2.1.4.7. Recherche du nitrate réductase.....                               | 41        |
| IV.2.2.1.4.8. Etude des voies fermentatives intermédiaires.....                 | 41        |
| IV.2.2.1.4.9. Recherche des décarboxylases.....                                 | 42        |
| IV.2.2.2. Isolement des Staphylocoques.....                                     | 43        |
| IV.2.2.2.1. Biodiversité morphologique et métabolique des isolats.....          | 43        |
| IV.2.2.3. Recherche des Pseudomonas.....  | 43        |
| IV.2.2.3.1. Biodiversité morphologique des isolats.....                         | 44        |
| IV.2.2.3.2. Mise en évidence de la production de la pyocyanine.....             | 44        |
| IV.2.2.3.3. Identification biochimique classique.....                           | 44        |
| IV.2.2.4. Recherche des levures et des moisissures.....                         | 44        |
| IV.2.2.4.1. Biodiversité morphologique des isolats.....                         | 44        |

|  |           |
|--|-----------|
| V. Détermination des profils de résistance aux antibiotiques.....                    | 45        |
| V.1. L'antibiogramme.....  | 45        |
| <b>Résultat et discussions.....</b>  | <b>47</b> |
| <b>I. Résultats descriptifs.....</b>   | <b>48</b> |
| I.1. Répartition selon le type de dialyse.....                                       | 48        |
| I.2. Répartition selon l'âge.....  | 48        |
| I.3. Répartition selon le sexe.....  | 49        |
| <b>II. Etude bactériologique.....</b>  | <b>49</b> |
| II.1. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale (Site 1).....             | 50        |
| II.1.1. Aspect macroscopique des isolats.....  | 50        |
| II.2. Analyse bactériologique des échantillons du Site 2 .....                       | 51        |
| II.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries viables aérobies.....                | 51        |
| II.2.2. Recherche des germes pathogènes .....  | 51        |
| II.2.2.1. Isolement des Entérobactéries.....   | 52        |
| II.2.2.1.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose Hektoen.....           | 52        |
| II.2.2.1.2. Identification biochimiques sur galeries classique .....                 | 53        |
| II.2.2.2. Isolement des Staphylocoques .....   | 57        |
| II.2.2.2.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose Chapman.....           | 57        |
| II.2.2.3. Recherche des Pseudomonas.....   | 59        |
| II.2.2.3.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose citrimide.....         | 59        |
| II.2.2.3.2. Identification biochimiques classique des isolats.....                   | 60        |
| II.2.2.4. Recherche des levures et des moisissures .....                             | 62        |
| II.2.2.4.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose Sabaureaud.....        | 62        |
| <b>III. Résultats de l'antibiogramme.....</b>  | <b>63</b> |
| III.1. Résultats de l'antibiorésistance des Entérobactéries.....                     | 63        |
| III.1.1. La multirésistance des Entérobactéries aux divers antibiotiques.....        | 65        |
| III.2. Profil de sensibilité des Staphylococcus sp aux différents antibiotiques..... | 67        |
| III.3. Résultats de l'antibiorésistance des Pseudomonas.....                         | 68        |
| Conclusion.....  | 72        |
| Référence bibliographiques.....  | 75        |
| Annexe.....  | 82        |
| Résumé   |           |

# Liste des figures

| <b>Tableau</b> | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|----------------|---|-------------|
| <b>I</b>       | Fonction du rein et troubles associés à l'insuffisance rénale.  | <b>10</b>   |
| <b>II</b>      | Relations entre effets toxiques et concentrations de plusieurs contaminants physicochimiques et bactériologiques de l'eau pour hémodialyse. | <b>21</b>   |
| <b>III</b>     | Micro- organismes et substances fréquemment retrouvés lors de réactions fébriles associées à la dialyse                                     | <b>24</b>   |
| <b>IV</b>      | Standards de la pharmacopée Européenne et de l'american association for the advancement of Medical Instrumentation (AAMI)                   | <b>27</b>   |
| <b>V</b>       | Les principales caractéristiques des prélèvements   | <b>33</b>   |
| <b>VI</b>      | L'aspect des microorganismes sur gélose Hektoen.  | <b>37</b>   |
| <b>VII</b>     | Répartition de la population étudiée selon le type de dialyse   | <b>48</b>   |
| <b>VIII</b>    | Répartition de la population étudiée selon l'Age  | <b>48</b>   |
| <b>IX</b>      | Répartition de la population étudiée selon le sexe  | <b>49</b>   |
| <b>X</b>       | Observation des caractères cultureux et morphologique des bactéries isolées sur gélose Hektoen.   | <b>52</b>   |
| <b>XI</b>      | Résultats biochimiques obtenus après lecture de la galerie classique.   | <b>54</b>   |
| <b>XII</b>     | Les espèces bactériennes identifiées par galerie biochimique classique.   | <b>56</b>   |
| <b>XIII</b>    | Biodiversité morphologique des isolats sur gélose Chapman   | <b>59</b>   |
| <b>XIV</b>     | Résultats des tests biochimiques des différentes espèces isolées.   | <b>61</b>   |
| <b>XV</b>      | Profil de résistance des Entérobactéries aux Antibiotiques  | <b>64</b>   |
| <b>XVI</b>     | La multirésistance des Entérobactéries aux divers antibiotiques   | <b>66</b>   |
| <b>XVII</b>    | Profil de résistance de Staphylococcus sp aux Antibiotiques   | <b>67</b>   |
| <b>XVIII</b>   | Profil de résistance de Pseudomonas aeruginosa aux Antibiotiques  | <b>69</b>   |

# Liste des figures

| <b>Figure</b> | <b>Titre</b>   | <b>Pages</b> |
|---------------|--|--------------|
| <b>01</b>     | <b>L'appareil urinaire</b>   | <b>4</b>     |
| <b>02</b>     | <b>Anatomie macroscopique du rein</b>  | <b>5</b>     |
| <b>03</b>     | <b>Schématisation de la structure d'un glomérule.</b>                                      | <b>6</b>     |
| <b>04</b>     | <b>Circulation Rénale.</b>   | <b>7</b>     |
| <b>05</b>     | <b>Situation anatomique d'un greffon rénal.</b>  | <b>12</b>    |
| <b>06</b>     | <b>Principe de l'hémodialyse</b>   | <b>15</b>    |
| <b>07</b>     | <b>Le circuit sanguin extracorporel</b>  | <b>22</b>    |
| <b>08</b>     | <b>Facteurs impliqués dans la susceptibilité aux infections des patients dialysés</b>      | <b>24</b>    |
| <b>09</b>     | <b>Lecture du milieu Triple Sugar Iron. agar</b>   | <b>39</b>    |
| <b>10</b>     | <b>Lecture de milieu Clark et Lubs</b>   | <b>42</b>    |
| <b>11</b>     | <b>Lecture des décarboxylases</b>  | <b>43</b>    |
| <b>12</b>     | <b>Protocole de réalisation d'un antibiogramme</b>   | <b>46</b>    |
| <b>13</b>     | <b>Répartition des patients selon l'âge.</b>   | <b>49</b>    |
| <b>14</b>     | <b>Répartition de la population étudiée selon le sexe</b>                                  | <b>50</b>    |
| <b>15</b>     | <b>Nombre d'espèces bactériennes identifiées à partir des Entérobactéries</b>              | <b>58</b>    |
| <b>16</b>     | <b>Pourcentage d'isolats des Entérobactéries résistants à divers antibiotiques.</b>        | <b>66</b>    |
| <b>17</b>     | <b>La multirésistance des Entérobactéries aux divers antibiotiques</b>                     | <b>66</b>    |
| <b>18</b>     | <b>Pourcentage d'isolats de Staphylococcus résistants à divers antibiotiques.</b>          | <b>68</b>    |
| <b>19</b>     | <b>Pourcentage d'isolats des Pseudomonas aeruginosa résistants à divers antibiotiques.</b> | <b>70</b>    |

# Liste des photographies

| <b>Photo</b> | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|--------------|---|-------------|
| 01           | Hôpital de Bousshaba Ali et service d'hémodialyse   | 31          |
| 02           | Les échantillons de dialysat pré membrane. (Site 1)   | 32          |
| 03           | Les échantillons de dialysat post membrane (vidange). (Site 2), avant leur rejet vers les égouts.     | 32          |
| 04           | Microscope Trinoculaire   | 38          |
| 05           | Résultat du dénombrement Les coliformes totaux  | 50          |
| 06           | Résultat du dénombrement des Entérocoques Fécaux  | 51          |
| 07           | Résultats du dénombrement des bactéries viables aérobies  | 51          |
| 08           | Aspect macroscopique des souches des Entérobactéries sur gélose Héктоen                               | 52          |
| 09           | Aspect macroscopique des colonies sur milieu Chapman.   | 57          |
| 10           | Résultats de la coloration de Gram des Staphylocoques.  | 57          |
| 11           | Résultat du test catalase.  | 68          |
| 12           | Résultat du test de coagulase libre.  | 68          |
| 13           | Observation des caractères culturaux et morphologique des <i>Pseudomonas</i> sp sur gélose cétrimide. | 69          |
| 14           | Résultats du test de mise en évidence des pigmentations spécifiques                                   | 60          |
| 15           | Résultats de la coloration de gram des <i>Pseudomonas</i> sp  | 60          |
| 16           | les résultats de l'identification biochimique des <i>pseudomonas</i> sp                               | 62          |
| 17           | Résultats de la recherche des levures et des moisissures sur gélose sabouraud chloramphénicol         | 62          |
| 18           | Résultats de l'antibiorésistance des Entérobactéries  | 63          |
| 19           | souches bactériennes multirésistantes productrices de Beta Lactamase à Spectre Etendu (BLSE)          | 66          |
| 20           | Résultat d'antibiogramme des <i>staphylococcus</i> sp sur gélose Mueller Hinton                       | 67          |
| 21           | Résultat d'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 79          |

## Liste d'Annexe :

|                  |  |           |
|------------------|--|-----------|
| <b>Annexe 01</b> | <b>Normes technique en infrastructures et en équipements du centre d'hémodialyse allégé de proximité.</b>      | <b>82</b> |
| <b>Annexe 02</b> | <b>Liste des antibiotiques testés sur les entérobactéries chargés des disques et Classification.</b>           | <b>84</b> |
| <b>Annexe 03</b> | <b>Liste des antibiotiques testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> chargés des disques et Classification.</b> | <b>85</b> |
| <b>Annexe 04</b> | <b>Liste des antibiotiques testés sur <i>Staphylococcus</i> spp chargés des disques et Classification.</b>     | <b>86</b> |
| <b>Annexe 05</b> | <b>Résistances naturelles B-lactamines des espèces de bacilles non exigeants.</b>                              | <b>87</b> |
| <b>Annexe 06</b> | <b>Composition des milieux cultures.</b>   | <b>88</b> |
| <b>Annexe 07</b> | <b>Composition des colorants de gram.</b>  | <b>92</b> |
| <b>Annexe 08</b> | <b>Composition des additifs.</b>   | <b>93</b> |
| <b>Annexe 09</b> | <b>Matériel et réactifs utilisés.</b>  | <b>94</b> |
| <b>Annexe 10</b> | <b>Programme de lecture de Galerie classique.</b>  | <b>95</b> |
| <b>Annexe 11</b> | <b>Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries.</b>                 | <b>96</b> |
| <b>Annexe 12</b> | <b>Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.</b>   | <b>97</b> |
| <b>Annexe 13</b> | <b>Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Staphylococcus</i> spp.</b>       | <b>98</b> |
| <b>Annexe 14</b> | <b>Classe de résistance après lecture d'antibiogramme des Entérobactéries.</b>                                 | <b>99</b> |

# Liste des abréviations

|                  |  |
|------------------|--|
| <b>AAMI</b>      | L'Association for the Advancement of Medical Instrumentation               |
| <b>ADH</b>       | l'arginine dihydrolase   |
| <b>BLSE</b>      | <b>B</b> eta <b>L</b> actamase à <b>S</b> pectre <b>E</b> tendu            |
| <b>CRP</b>       | protéine C-réactive  |
| <b>CVC</b>       | Cathétérisme veineux central   |
| <b>DFG</b>       | débit de filtration glomérulaire   |
| <b>DPA</b>       | La dialyse péritonéale automatisée   |
| <b>DPCA</b>      | La dialyse péritonéale continue ambulatoire                                |
| <b>EER</b>       | l'épuration extra rénale   |
| <b>EPO</b>       | l'érythropoïétine  |
| <b>FAV</b>       | La fistule artério-veineuse  |
| <b>HTA</b>       | l'hypertension artérielle  |
| <b>I</b>         | Intermédiaire  |
| <b>INF</b>       | Interféron   |
| <b>IRA</b>       | L'insuffisance rénale aiguë  |
| <b>IRC</b>       | L'insuffisance rénale chronique  |
| <b>ISO</b>       | International Standard Organisation.                                       |
| <b>LDC</b>       | la lysine décarboxylase  |
| <b>NKF KDOQI</b> | la National Kidney Foundation - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative |
| <b>NS</b>        | non spécifique   |
| <b>ODC</b>       | l'ornithine décarboxylase  |

**pH** Potentiel d'hydrogéné

**R** Résistante

**RM** Rouge de Méthyle

**S** Sensible

**SARM** Staphylococcus aureus résistant à la méricilline

**TDA** Tryptophane désaminase

**TSI** Triple Suger Iron. agar

**TTC** Tergitol-7

**UV** Ultraviolet

**VHB** Virus de l'hépatite B

**VHC** Virus de l'hépatite C

**VIH** Virus de l'immunodéficiencie humaine

**Vit.D** Vitamine D

**VP** VogesProskauer

***Dans la vie il ya trois facteur:***

***Le talent, la chance, le travail.***

***Avec deux de ces facteurs, on  
Peut réussir.***

***Mais l'idéal est de disposer des  
trois.***

***(Bernard Werber)***

A red speech bubble graphic with a white outline, featuring a tail pointing towards the bottom left. The word "Introduction" is centered within the bubble in a black, italicized serif font.

# *Introduction*

### Introduction

Jouant le rôle d'une véritable station d'épuration de nos organismes, les reins sont absolument essentiels pour maintenir l'homéostasie de notre corps. En effet, ils assurent de nombreuses fonctions exocrines et endocrines.(1)

Or, pour de multiples raisons, ces fonctions sont susceptibles de se détériorer et de provoquer une insuffisance rénale. Pire, dans certains cas, l'évolution de la maladie est telle que les reins ne sont plus capables d'exercer leurs fonctions, on parle alors d'insuffisance rénale terminale.

Longtemps silencieuse, l'insuffisance rénale terminale induit pourtant des lésions anatomiques irréversibles qui, au stade terminal, mettent la vie de la personne en danger. De ce fait elle nécessite un suivi médical important.

A ce stade, des traitements de suppléances sont indispensables pour survivre : ce sont la transplantation ou la dialyse (rénale ou péritonéale).

Les cinquante dernières années ont vu émerger la possibilité de traiter l'insuffisance rénale parvenue au stade terminal par la prise en charge en dialyse chronique, sauvant ainsi les patients d'une mort prématurée jusqu'alors certaine. Comme dans le cas des reins naturels, l'hémodialyse réalise l'épuration du plasma à travers une membrane dialysant, c'est-à-dire une membrane imperméable à l'albumine et aux solutés de plus gros poids moléculaire.

Les liquides de dialyse, obtenus par dilution d'un ou plusieurs concentrés dans de l'eau purifiée, sont utilisés en hémodialyse pour permettre la diffusion des solutés entre le plasma et le dialysat. L'organisme du patient traité par hémodialyse chronique est ainsi exposé à plusieurs centaines de litres de liquide de dialyse par semaine.

La qualité du dialysat a toujours été au centre des préoccupations. Celle-ci est étroitement liée à celle de l'eau utilisée pour sa préparation. Jusqu'à la fin des années 70, il a d'abord été question de qualité physico-chimique que de qualité microbiologique pour le dialysat. En effet, l'eau de ville utilisée au début de la prise en charge par hémodialyse s'est révélée nocive pour les patients. Des normes de qualité concernant la composition du dialysat ont donc été définies et des procédés spécifiques de traitement de l'eau de ville ont été mis en place afin d'obtenir une eau pour hémodialyse de composition adéquate.

Actuellement, bien que l'eau utilisée soit conforme aux normes en vigueur, la qualité du dialysat demeure un enjeu important, En effet, la contamination microbiologique du dialysat est toujours possible pour différentes raisons, indépendamment de la qualité de l'eau utilisé .D' autre part, les procédures de désinfection habituelles se sont parfois révélées inefficaces face aux biofilms. (2)

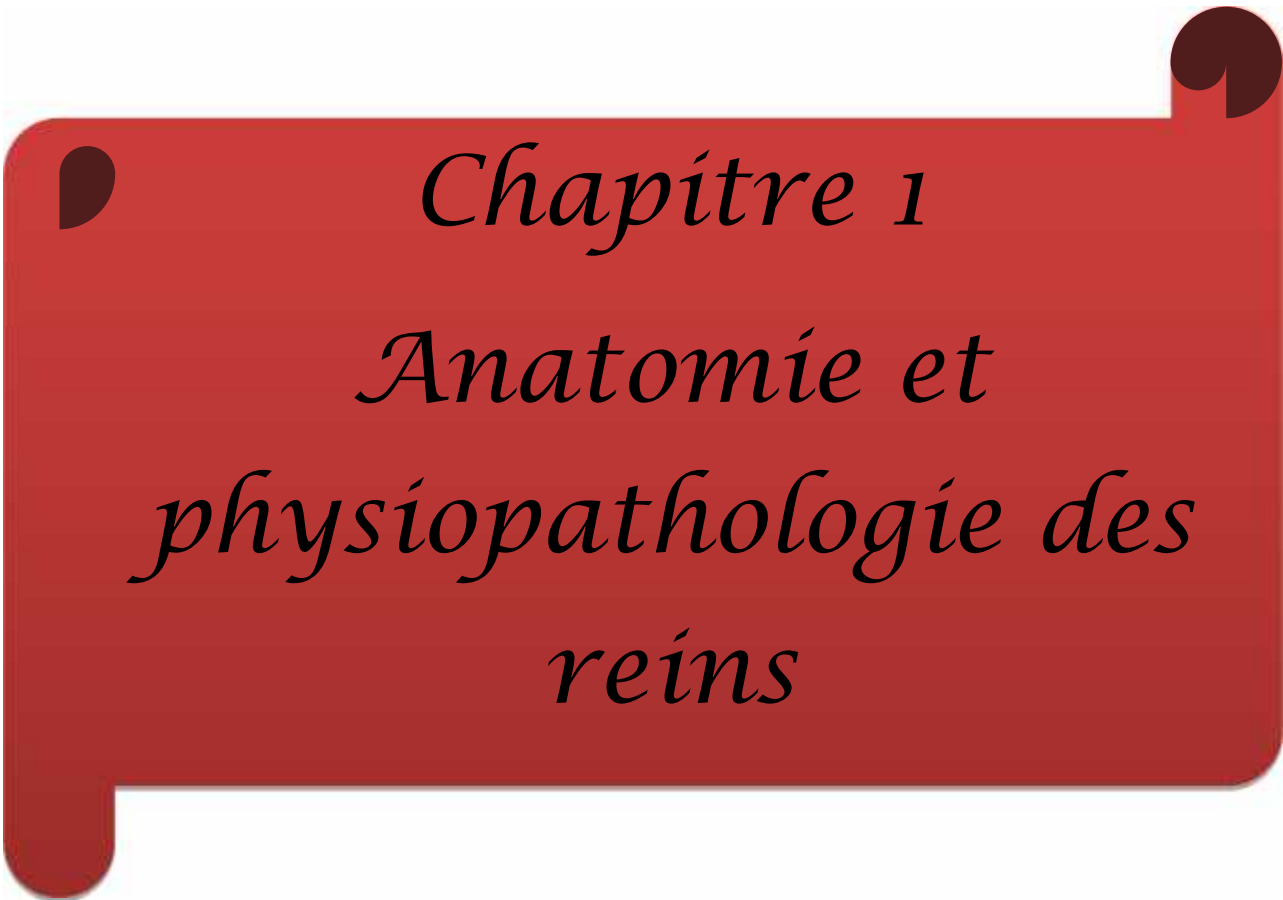
Cette recherche a pour **objectif global** l'évaluation de la qualité bactériologique des liquides de dialyse du service d'hémodialyse et d'insuffisance rénale d'**EPH Boushaba Ali** wilaya de **Khenchela** de contribuer à isoler les bactéries qui provoque la contamination de ce liquide et enfin étudier les principales caractéristiques de ces contaminants et connaître leur profils de résistance aux antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme .

Cette étude va donc nous permettre de préciser les points critiques à surveiller en pratique courante dans une installation d'hémodialyse (système d'épuration de l'eau concentré générateur de dialyse...) pour assurer dans l'intérêt du malade une bonne qualité bactériologique du dialysat.

Nous aborderons tout au long de ce mémoire, les chapitres suivants :

- **Chapitre I : Anatomie et physiopathologie des reins**
- **Chapitre II : l'hémodialyse**
- **Matériels et méthodes**
- **Résultat et discussions**

Enfin une **conclusion générale**.



*Chapitre 1*  
*Anatomie et*  
*physiopathologie des*  
*reins*

## I. Appareil urinaire

L'appareil urinaire est formé entre la deuxième et la troisième semaine de développement embryonnaire son développement est intimement liée à celui de l'appareil génital. Ils sont tous deux d'origine mésodermique et leurs canaux excréteurs débouchent dans une même cavité.

L'appareil urinaire comprend des reins et des canaux excréteurs chargés de conduire les urines jusqu'à la vessie. (1) Ces canaux sont : les calices, le bassinet, l'uretère et la vessie. (3)

Les reins, au nombre de deux, sont situés de part et d'autre de la colonne vertébrale dans la partie supérieure de la fosse lombaire. Chacun d'eux pèse approximativement 150g chez un homme adulte. (4) Chaque rein est surmonté d'une glande surrénale. (5)

Le rein droit est en général situé un peu plus bas que le gauche ; cela est dû à l'importance du lobe droit de foie.

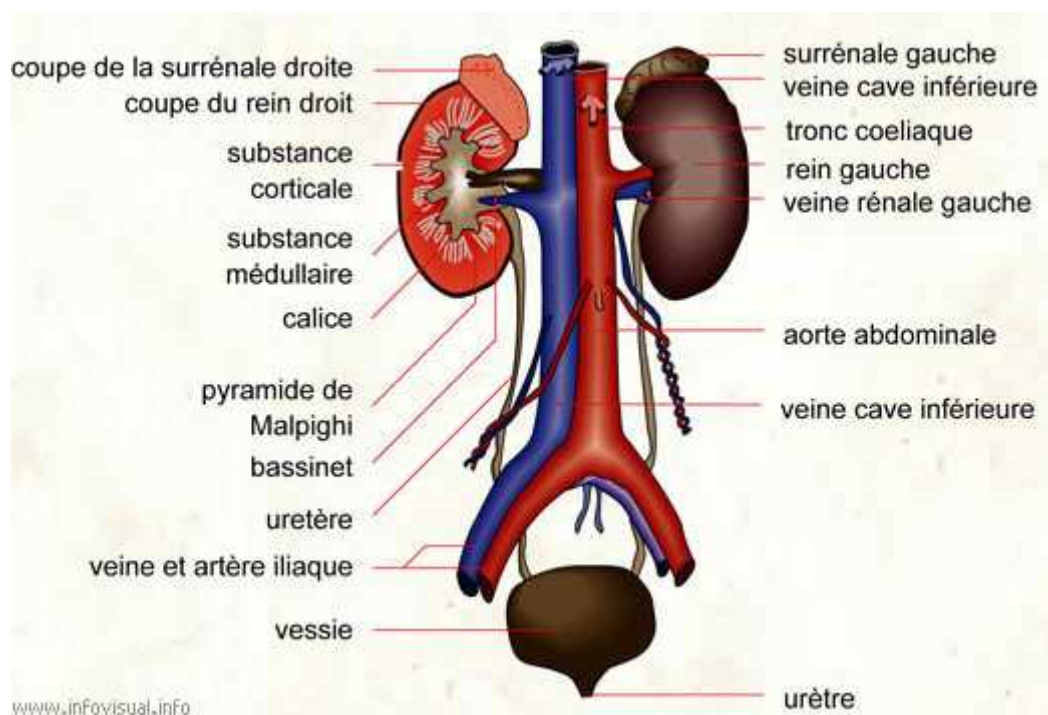


Figure 01 : L'appareil urinaire. (6)

## II. Organisation rénale

Afin de comprendre comment le rein est capable de gérer l'homéostasie du milieu sanguin, il est nécessaire d'expliquer son organisation.

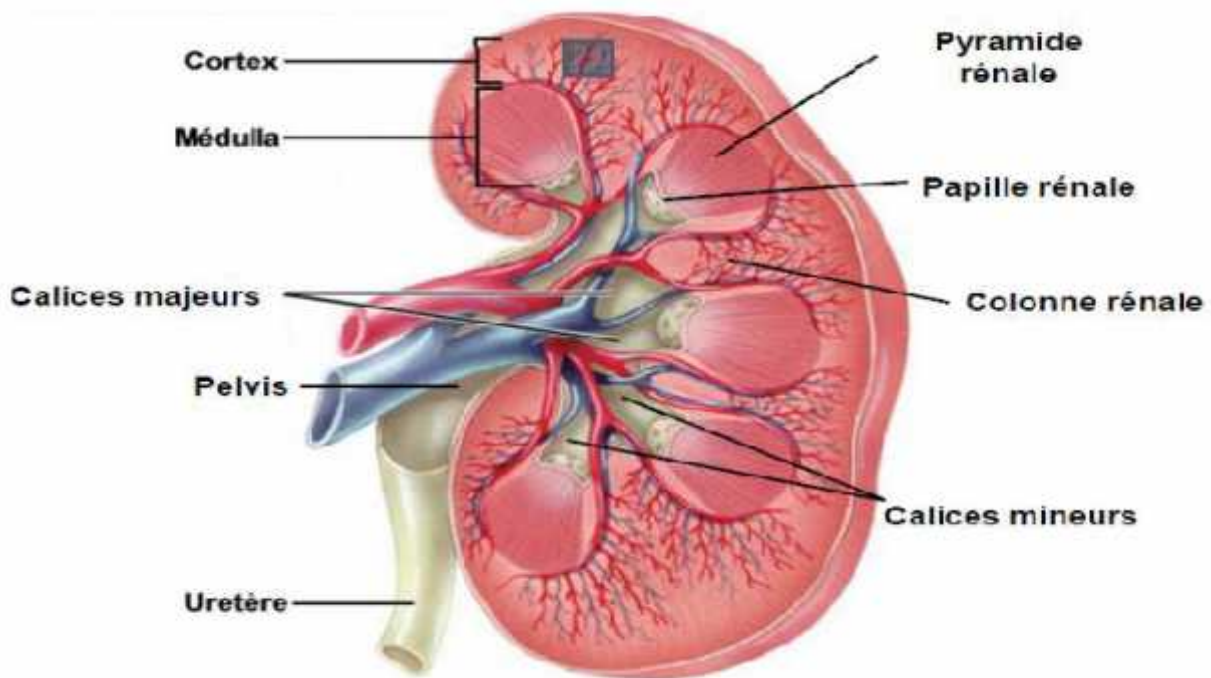
### II.1. Anatomie macroscopique des reins

Le rein a une forme de haricot avec une face externe convexe et une face interne concave. Il mesure environ 12 centimètres de longueur, 6 centimètres de largeur, 3 centimètres d'épaisseur. (7) Sa structure est enrobée d'une capsule fibreuse lisse. (4) Le rein est

entouré de 3 couches, de l'intérieur vers l'extérieur :une capsule fibreuse très résistante - une capsule adipeuse- un fascia rénal de tissu conjonctif dense.Ces trois couches lui assurent :

- Une protection contre les chocs
- Une barrière contre la propagation d'une éventuelle infection de voisinage ;
- Une fixation à la paroi et aux organes.(8)

A l'intérieur de cette capsule, on trouve le parenchyme rénal avec une partie périphérique, le cortex, une partie médiane, la médulla, et une partie centrale, le bassinnet. Dans la médulla, on retrouve un ensemble de structures pyramidales 6 à 10 appelées pyramides de Malpighi et séparées entre elles par du tissu cortical (colonnes de Bertin). Les bases de ces pyramides sont recouvertes par le cortex alors que les sommets, appelés papilles rénales, se projettent vers le centre du rein dans une sorte d'entonnoir, le calice mineur. L'urine produite dans les pyramides se déverse à travers les pores des papilles dans les calices mineurs, elle est ensuite collectée dans le calice majeur puis dans le bassinnet (ou pelvis) le petit calice se réunissant pour former 3 grands calices, qui se réunissent en 3 tiges calicielles lesquelles confluent pour former le bassinnet. (9)



**Figure 02** : Anatomie macroscopique du rein(10)

## II.2.Anatomie microscopique des reins

### II.2.1. Le néphron

Il représente l'unité structurale et fonctionnelle du rein. On en dénombre environ un million par rein. Ce sont des unités qui permettent aux reins d'exercer leurs fonctions (élimination des Déchets, synthèse de substances, maintien de l'équilibre électrolytique et du

volume Sanguin...) d'élaborer l'urine à partir du plasma sanguin, pour l'évacuer dans les voies urinaires. (4)

On note deux types de néphrons :

- **Les néphrons corticaux** (85 %) qui sont situés dans le cortex superficiel et moyen, et qui ont des tubules qui ne pénètrent que très peu dans la médulla.

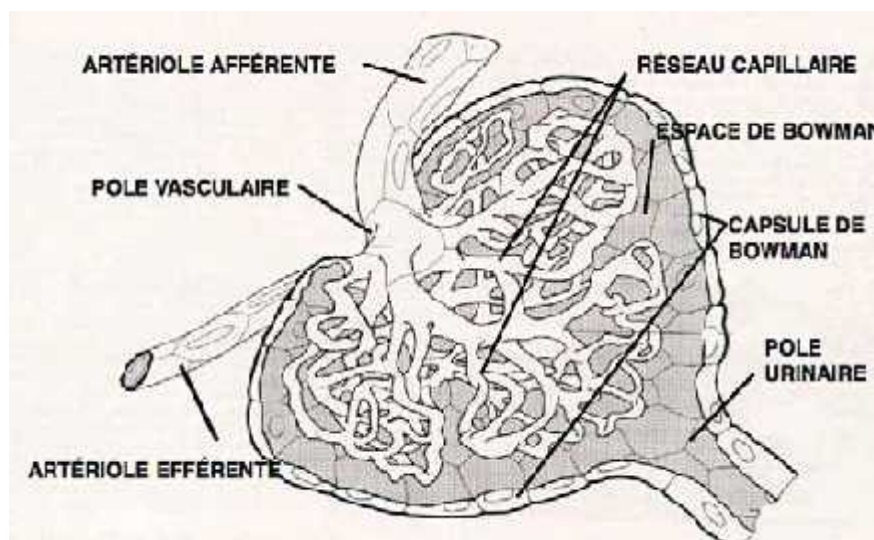
- **Les néphrons juxtamédullaires** (15 %) situés dans le cortex profond et dont les tubules pénètrent profondément dans la médulla. (11)

Chaque néphron se compose d'un corpuscule rénal (glomérule, la capsule de Bowman.) et d'un tube rénal. Le corpuscule rénal, ou corpuscule de Malpighi, est responsable de la filtration du Sang et de la formation de l'urine primitive. Il est formé du glomérule et de la capsule de Bowman.

### II.2.1.1. Le glomérule :

C'est une petite vésicule sphérique mesurant deux à trois cent micromètres de diamètre. On en compte un par néphron et ils sont tous situés dans la partie corticale du rein, 85 % dans le cortex superficiel ou moyen (néphrons corticaux) et 15 % dans le cortex adjacent à la médulla (néphrons juxtamédullaires). (7)

L'artériole afférente pénètre dans le glomérule par son pôle vasculaire puis se divise ensuite en cinq ou six branches puis en une vingtaine d'anses capillaires appelées flocculus. Celles-ci forment ensuite l'artériole efférente qui ressort par le pôle vasculaire. Ce réseau de capillaire est enchâssé dans une capsule à double feuillets (pariétal et viscéral) appelée « capsule de Bowman ». Ces feuillets délimitent la chambre de filtration dans laquelle s'écoule l'urine primitive par le pôle urinaire vers le tube contourné proximal.



**Figure 03 :** Schématisation de la structure d'un glomérule. (12)

### II.2.1.2. Les tubes rénaux

Les tubes rénaux qui permettent d'une part de transporter l'urine du glomérule vers le tube collecteur et d'autre part la réabsorption et la sécrétion de certaines molécules les tubes rénaux sont :

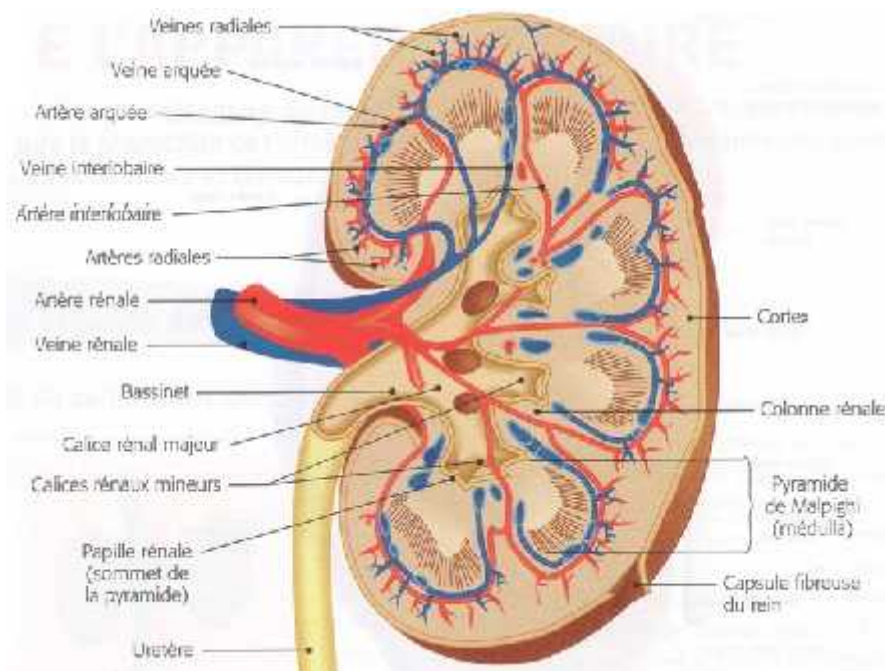
- 1- Le tube proximal
- 2- Le tube intermédiaire
- 3- Le tube distal
- 4- La macule densa(13)

### II.2.2. La circulation rénale

Chez l'homme le débit sanguin rénal est de 600 mL/min/rein. La perfusion des deux reins représente 25% du débit cardiaque au repos. Seulement 20% de ce débit plasmatique rénal est filtré par les floculus glomérulaires(4)

Chaque rein est vascularisé par une artère rénale provenant de l'aorte dans laquelle le sang, chargé de déchets, va être épuré avant de ressortir par la veine rénale qui se projette ensuite dans la veine cave inférieure.

On appelle « hile » la partie concave du rein par laquelle entre l'artère rénale ainsi que les vaisseaux lymphatiques et par laquelle sort la veine rénale et l'uretère qui transporte l'urine jusqu'à la vessie.



**Figure 04 : Circulation Rénale.(14)**

### II.2.2.1. Réseaux artériel

Le rein est richement vascularisé et c'est au niveau des capillaires glomérulaires que s'effectue l'ultrafiltration sanguine. Mais bien avant ces microstructures, l'artère rénale principale vient pénétrer au niveau du hile rénal et se ramifier en plusieurs petites artères interlobaires, qui à leur tour, forment des artérioles afférentes pénétrant dans les glomérules.

La vascularisation d'un néphron est donc assurée par une artériole afférente, qui pénètre dans la capsule de Bowman au pôle vasculaire. Cette artériole se subdivise en capillaires formant le glomérule, et ils s'anastomosent pour former l'artériole efférente. Cette dernière se ramifie en un réseau important de capillaires : les capillaires péri-tubulaires, qui entourent les tubes contournés proximaux et distaux.

### II.2.2.2. Réseaux veineux

Les réseaux de capillaires péri-tubulaires se regroupent en des veinules corticales profondes, qui se connectent soit sur les veines périphériques étoilées, soit sur les veines corticales interlobulaires. Les veines étoilées se jettent dans les veines interlobulaires qui, à leur tour, drainent les veines arquées en profondeur (au niveau médullaire externe).

Les veines arquées se regroupent en une seule veine rénale qui aboutit elle aussi au niveau du hile. (15)

## II.3. La physiologie rénale

### II.3.1. La filtration glomérulaire

C'est la première étape de la formation de l'urine. Elle consiste en une ultrafiltration du plasma et aboutit à la production de l'urine primitive (ultrafiltrat). Cette filtration se produit au niveau des capillaires; elle est passive et se fait selon un gradient de pression, la pression dans les capillaires étant supérieure à la pression de la chambre de filtration. Le sang est donc filtré à travers une membrane de filtration constituée de 3 couches : l'endothélium vasculaire, la membrane basale et l'épithélium viscéral de la capsule de Bowman (constitué de podocytes). Cette membrane est semi-perméable, elle permet le passage de l'eau et des petites molécules mais empêche celui des molécules de poids moléculaire supérieur à 70 kDa comme la plupart des protéines plasmatiques. L'endothélium vasculaire, de part la taille importante de ses pores cytoplasmiques, ne retient que les éléments figurés du sang et ne constitue pas un filtre efficace. On attribue par conséquent la semi-perméabilité de la membrane de filtration à la membrane basale. Cette dernière est constituée de glycoprotéines anioniques (chargées négativement) formant de petites fentes. (11)

La perméabilité dépend donc de la taille et de la charge des molécules : les molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 70 kDa) traversent la membrane de filtration et les molécules chargées positivement la traversent plus facilement que celles chargées négativement.

On obtient alors une urine primitive sans éléments figurés, et sans les plus grosses molécules du plasma telles que la plupart des protéines. Celles qui traversent sont réabsorbées par endocytose au niveau de la paroi du tubule proximal. Les substances liées aux protéines plasmatiques ne peuvent donc pas traverser la membrane de filtration. C'est le cas des acides gras, des hormones stéroïdiennes, de 40 % du calcium...

Ainsi l'ultrafiltrat a quasiment le même pH, la même pression osmotique, la même concentration en sels et en éléments organiques que le plasma déprotéiné. (9)

### II.3.2. Le débit de filtration glomérulaire (DFG)

La fraction de filtration, c'est-à-dire la quantité de plasma qui est filtrée à chaque passage correspond à 20 % du plasma total. Avec un débit plasmatique rénal de 625 mL/minute, on obtient un débit de filtration glomérulaire de 125 mL/min. Cela représente la quantité de plasma filtrée chaque minute. Tous les jours, 180 litres de filtrat traversent la barrière glomérulaire, soit 180 litres d'eau. Le plasma, d'un volume d'environ 3 litres, est donc filtré plus de 50 fois par jour. (7)

### II.4. Fonctions des reins

Les reins sont **indispensables à la vie**. Ils ont trois fonctions principales.

- La première est **l'élimination des toxines**, notamment les toxines dérivées du catabolisme azoté (l'urée, la créatinine, l'acide urique), les toxines exogènes (les médicaments, les toxines), les protéines de petit poids moléculaire (la  $\alpha_2$  microglobuline) et les hormones polypeptidiques (insuline, glucagon).
- Le second rôle des reins est **le maintien de l'homéostasie**. Les reins permettent le maintien de l'équilibre hydro-électrolytique, de l'équilibre acide-base et l'élaboration de l'urine.
- Enfin, les reins ont également **une fonction endocrine** avec synthèse de rénine, d'érythropoïétine et de vitamine D active :

**1. Synthèse d'érythropoïétine** : Cette hormone, qui stimule la maturation des globules rouges au niveau de la moelle osseuse, est synthétisée en grande partie par les reins (20 % par le foie) au niveau du cortex rénal. La synthèse de base est faible, mais largement augmentée en cas d'hypoxie. Il s'en suit un cycle d'autorégulation

**2. Synthèse de rénine** : hormone qui participe à la régulation des volumes extracellulaires et de la pression artérielle (place importante dans le système rénine-angiotensine-aldostérone), la rénine est formée au niveau des artérioles afférentes (16)

3. Fonctions de métabolisme et de catabolisme :fonction de néoglucogénèse jusqu'à 20% en cas de jeûne, sous le contrôle de l'insuline et des catécholamines(17)

4. La **vitamine D** synthétisée par la peau, sous l'influence des rayons ultra-violets, ou apportés par l'alimentation, le cholécalférol (ou vitamine D3) et le calciférol (ou vitamine D2) sont deux formes inactives de la vitamine D.Le foie effectue une première métabolisation du cholécalférol qui est transformé en 25-hydroxy-cholécalférol, toujours inactif. Ce dernier est ensuite métabolisé au niveau des cellules tubulaires rénales en 1-25dihydroxycholécalférol ou calcitriol, métabolite actif de la vitamine D qui permetnotamment l'absorption osseuse et intestinale du calcium

Le rein est un organe particulièrement fragile, car très perfusé du fait de sa fonction de filtration. (16)

**Tableau I :** Fonction du rein et troubles associés à l'insuffisance rénale.

| Fonction                       | Molécule                    | Troubles associés à l'insuffisance rénale   |
|--------------------------------|-----------------------------|---|
| Epuration des déchets          | Urée                        | Nausées, Vomissements   |
|                                | Acide urique                | Lithiases (calculs rénaux), goutte (articulaires)   |
| Homéostasie eau - électrolytes | Potassium                   | Problèmes cardiaque   |
|                                | Phosphore                   | Démangeaisons cutanées (prurit)   |
|                                | Eau / Sodium                | Œdèmes, hypertension artérielle   |
| Fonctions endocrines           | 1'alpha-hydroxylase (vit.D) | Ostéomalacie  |
|                                | Rénine                      | Hypertension artérielle   |
|                                | Erythropoïétine             | Anémie  |
|                                | Rénalase                    | Complications cardiovasculaire (hypertension,hypertrophieet dysfonction ventriculaire gauche) |

### III.L'insuffisance rénale

#### III.1. Généralités

L'insuffisance rénale est définie comme une diminution du pouvoir épurateur des reins et correspond donc à une diminution du nombre de néphrons fonctionnels.

Il faut, cependant, savoir que chaque néphron a un pouvoir d'adaptation tel qu'il peut largement modifier son débit glomérulaire selon la demande. C'est ainsi que lorsqu'un néphron n'est plus fonctionnel, son voisin peut à lui seul entièrement compenser cette déficience. Une diminution de 50% du nombre de néphrons fonctionnels n'aura donc aucune expression biologique. L'exemple le plus caractéristique est celui des individus porteurs d'un rein unique à la suite d'un don d'organe.

Une insuffisance rénale ne deviendra donc biologiquement manifeste que lorsque la massenéphrotique fonctionnelle est réduite de plus de 50%. On définit deux types d'insuffisance rénale :

- L'insuffisance rénale chronique (IRC).
- L'insuffisance rénale aiguë (IRA).

### III.1.1. L'insuffisance rénale aiguë.

L'insuffisance rénale aiguë correspond à un arrêt brutal de la fonction de la plupart des néphrons qui, au départ, fonctionnaient plus ou moins normalement. (18)

### III.1 .2. L'insuffisance rénale chronique.

L'insuffisance rénale chronique est définie par la diminution progressive (sur plusieurs années) et irréversible du débit de filtration glomérulaire. Cette baisse du DFG est consécutive à la réduction du nombre de néphrons fonctionnels. (19)

Cela dit, la capacité de compensation des reins est impressionnante puisqu'il faut que 50 % des néphrons soient détruits avant que n'apparaisse une insuffisance rénale. Dès lors, les fonctions excrétrices et endocrines des reins sont touchées.

Le caractère insidieux de l'insuffisance rénale chronique en fait une maladie redoutable. En effet, elle est asymptomatique aux stades précoces de la maladie, son diagnostic ne peut être alors que biologique. A un stade avancé, les anomalies hydro-électriques et hormonales sont à l'origine des manifestations cliniques et biologiques ; mais à ce niveau, les lésions rénales sont déjà très évoluées. Enfin, au stade terminal, les reins ne sont plus fonctionnels et les seuls traitements possibles sont **la transplantation** ou **la dialyse**. (20)

Il est donc très difficile de connaître la prévalence de l'insuffisance rénale chronique puisqu'elle n'est que rarement décelée aux stades précoces. (20)



**Figure 05 :** Situation anatomique d'un greffon rénal. (21)

Cependant, l'insuffisance rénale chronique ne s'installe que si l'atteinte rénale est bilatérale. Un seul rein est capable d'assurer la totalité des fonctions d'épuration. C'est pourquoi un patient transplanté possède classiquement trois reins : deux reins atrophiés inefficaces et le greffon, qui supporte à lui seul les fonctions rénales (22)

### III.2. Etiologie de l'insuffisance rénale chronique

La majorité des insuffisances rénales chroniques découle d'une néphropathie chronique, qui progresse à long terme vers l'insuffisance rénale terminale. Il peut s'agir de néphropathies :

1. **Néphropathie réno-vasculaire** : causée par l'hypertension artérielle (HTA)
2. **Néphropathie diabétique** : causée par le diabète
3. **Néphropathies glomérulaires** : causée par la glomérulonéphrite chronique.(23)

### III.3. Physiopathologie

L'insuffisance rénale est une maladie insidieuse et silencieuse, évoluant sur plusieurs années. Le premier marqueur « précoce », témoignant de la souffrance rénale, est la micro albuminurie. La maladie évolue progressivement vers une macro protéinurie, due chez le diabétique à des hyperglycémies à répétition, à une hypertension artérielle et à une dyslipidémie concomitante.

Récemment, un facteur génétique a été mis en évidence : une inactivation du gène codant pour la kallibréine (enzyme phare du système kallibréine-kinine) en serait responsable. De cette manière, la kallibréine ne pourrait plus produire les kinines (connues pour leurs effets vasodilatateurs et antithrombotiques).

En temps normal, le système kallibréine-kinine est activé prématurément au cours du diabète dans le but de protéger le rein des risques de l'hyperglycémie. Son inactivation génétique accélérerait l'évolution de la maladie rénale. (24)

### III.4. Diagnostic biologique

L'IRC est une maladie progressive et silencieuse dont le diagnostic à longterm est exclusivement biologique.

Selon la National Kidney Foundation - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF KDOQI), pour être qualifié d'insuffisant rénal, il faut présenter des anomalies structurelles ou fonctionnelles du rein, même pour un débit de filtration glomérulaire (DFG) supérieur à 90 mL/mn/1,73 m<sup>2</sup>, ou avoir un DFG inférieur à 60 mL/mn/1,73 m<sup>2</sup> pendant plus de trois mois. (25) La valeur normale du DFG chez un adulte jeune est de 120 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> de surface corporelle. (22)

Il faut choisir une substance éliminée exclusivement par voie rénale, qui ne soit ni réabsorbée, ni sécrétée par les tubules rénaux et dont la concentration sanguine ne varie pas ou peu d'un jour sur l'autre. (19)

#### III.4.1. La créatinine

La créatinine répond à ces critères, bien qu'elle soit sécrétée par les tubules rénaux et cela d'autant plus lors d'une insuffisance rénale. Cependant, comme nous le verrons plus loin, elle permet tout de même d'avoir une bonne approche du DFG.

C'est une substance endogène provenant du catabolisme musculaire. Étant donné que la masse musculaire d'un individu est relativement constante, la production et l'élimination de la créatinine le sont aussi. De plus, son élimination étant intégralement rénale, seule une modification du DFG influera sur sa concentration sanguine. (26)

Les valeurs normales de créatininémie sont personnes dépendantes. En effet, une personne âgée peu musclée aura une créatininémie basse par rapport à une personne sportive de 30 ans très musclée. Néanmoins, des fourchettes de valeurs ont été déterminées pour un individu de corpulence moyenne :

1. 70 à 115 µmol/L chez l'homme
2. 60 à 95 µmol/L chez la femme (19)

Lors d'une insuffisance rénale, l'élimination de créatinine diminue et par conséquent, la créatininémie augmente et peut atteindre des valeurs supérieures à 1000 µmol/L selon l'évolution. Mais ces valeurs étant insuffisantes à elles seules pour connaître le DFG, on mesure la clairance à la créatinine.

#### III.4.2. La clairance à la créatinine

La clairance rénale d'une substance exprime le volume de plasma que le rein épure totalement de la substance en question par unité de temps.

La créatinine étant éliminée uniquement par voie rénale, sa clairance représente le débit de filtration glomérulaire. (19)

La méthode de mesure de la clairance la plus fiable consiste à recueillir les urines sur 24 heures et de faire dans le même temps un dosage sanguin de créatinine. En effet :

**Clairance créatinine (en mL/min) =  $U \times V / P$**

**U** : La créatininurie,

**P** : Créatininémie

**V** : Le débit urinaire en ml/min(26)

### III.5. Conséquence de l'insuffisance rénale chronique

Il est nécessaire de connaître les conséquences de l'insuffisance rénale chronique pour comprendre les mesures thérapeutiques permettant d'y remédier. Comme on l'a vu, les reins normaux remplissent une triple fonction : excrétion des déchets, régulation du bilan de l'eau et des électrolytes et fonction endocrines. L'insuffisance rénale entraîne donc des anomalies dans ces trois domaines.

#### a. Altération de la balance eau électrolytes

#### b. Altération de l'épuration des déchets

#### c. Altération des fonctions endocrines

L'IRC s'accompagne souvent d'une baisse des défenses immunitaires, donc d'une sensibilité plus grande aux infections. La vaccination précoce contre l'hépatite B est donc fortement recommandée car le risque de contamination par ce virus est augmenté chez les patients en dialyse.(27)

### III.6. Les traitements de suppléance rénale

Quand l'insuffisance rénale chronique arrive au stade terminal, les reins n'assurent plus leurs fonctions, et il va donc être indispensable de suppléer les fonctions rénales défaillantes par un traitement de suppléance. Sinon, s'en suit la mort rénale qui conduit à la mort du patient.

Il existe deux grands traitements de suppléance rénale: **la transplantation rénale** et **la dialyse** c'est à dire l'épuration extra rénale (EER). Ces méthodes constituent une avancée thérapeutique majeure acquise depuis le début des années 60 pour le traitement des patients atteints d'insuffisance rénale chronique au stade terminal. Quarante ans après les travaux initiaux des pionniers de ces méthodes, près d'un million de patients dans le monde sont actuellement en vie grâce aux techniques de dialyse. Celles-ci représentent le premier exemple de la possibilité d'assurer une survie très prolongée (plus de 30 années chez certaines personnes) grâce à des procédés techniques qui peuvent pallier les principales déficiences irréversibles d'un organe vital.

La dialyse est le procédé physique par lequel on élimine du sang du patient urémique les substances toxiques qui s'y accumulent à cause de l'insuffisance rénale et qui sont normalement

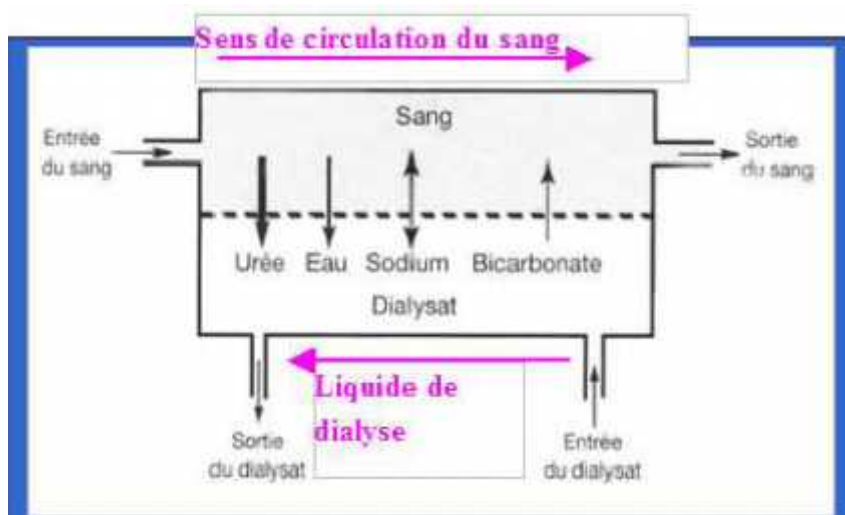
éliminées par le rein. Le concept fondamental sur lequel se base la dialyse est celui de mettre le sang du patient en contact avec une autre solution appelée dialysat dont la composition est bien connue. Cette solution, séparée du sang par une membrane de filtration semi-perméable, est dépourvue des substances que l'on veut entièrement éliminer (urée, créatinine, acide urique, phosphore, ...). Elle contient d'autres substances dont la concentration permet de rééquilibrer leur concentration dans le sang jusqu'aux niveaux voulus (sodium, potassium, calcium, magnésium, ...). Cet échange qui permet le transport des solutés est via deux mécanismes qui sont la diffusion et l'ultrafiltration.

La mise en place d'une épuration extra-rénale repose sur plusieurs critères comme le contexte clinique, l'âge du patient et le bilan biologique. (28)

### III.6.1. Principes généraux de l'épuration extrarénale

Les fonctions rénales d'épuration des déchets et de régulation hydro-électrolytique du milieu intérieur, vitales à l'organisme, peuvent être suppléées chez le patient dépourvu de fonction rénale par un « rein artificiel » ou « dialyseur ».

À l'instar de l'organe, le dialyseur va permettre l'épuration plasmatique à travers une membrane dialysant. Cette membrane semi-perméable, se comportant comme un tamis, va permettre le passage des petites molécules et bloquer celui des molécules de taille ou de masse moléculaire plus élevée. C'est le cas des protéines, qui ne pourront franchir les pores membranaires. Cependant, l'emploi de certaines membranes hautement perméables (pour favoriser l'élimination des toxines urémiques) peut entraîner des pertes d'albumine



**Figure 06 :** Principe de l'hémodialyse. (20)

On juge de la perméabilité des membranes à partir de la masse moléculaire pour laquelle la membrane est considérée comme strictement imperméable; c'est le « Cut-off » ou point de

coupure de la membrane. En pratique, le Cut-off des dialyseurs est de 5 à 20 kDa, celle des néphrons est de 50–60 kDa.(29)

Les échanges, à travers cette membrane, s'effectuent par diffusion et par convection (ultrafiltration).

Le terme « **Hémodialyse** » regroupe l'ensemble des méthodes d'épuration extrarénale restaurant périodiquement l'homéostasie sanguine du patient urémique.

### III.6.2. Dialyse péritonéale

Cette méthode de dialyse est considérée comme plus douce, car elle ne nécessite pas de circulation extracorporelle du sang (ce qui évite le besoin d'un traitement anticoagulant), se servant du péritoine comme membrane filtrante. Le dialysat contenu dans une poche remplit l'abdomen du patient, à l'aide d'un cathéter qui est logé jusque dans le cul de sac de Douglas. Le liquide contenu dans la cavité péritonéale après quelques heures est chargé en toxines et en déchets protéiques. Il contiendra également l'excès d'eau qui n'est plus éliminé et sera donc évacué par le cathéter dans une poche vide. Il faut noter que contrairement à l'hémodialyse, la dialyse péritonéale permet de ralentir le plus souvent la perte de la diurèse.

Les échanges entre le sang du patient et le dialysat sont principalement basés sur l'osmose et la diffusion, grâce à l'hyper osmolarité de la solution de dialyse.

On distingue deux méthodes de dialyse :

-La dialyse péritonéale continue ambulatoire ou DPCA, technique manuelle où le patient doit être autonome pour assurer le remplissage et la vidange du péritoine. Cette technique se fait tout au long de la journée. Après chaque remplissage de l'abdomen, le patient est libre pour quatre à six heures.

-La dialyse péritonéale automatisée ou DPA, au cours de laquelle un appareil s'occupe d'injecter et de drainer les liquides tout au long de la nuit. Le patient ne doit dialyser que la nuit.(30)

A red scroll graphic with a white border, featuring a dark red circular element at the top right corner and a dark red circular element at the bottom left corner. The text is centered on the scroll.

*Chapitre 2*  
*L'hémodialyse*

## I.L'hémodialyse

### I.1. Généralités

L'hémodialyse reste aujourd'hui la technique la plus utilisée dans le monde. C'est une méthode onéreuse puisqu'elle nécessite des appareils de haute performance et des centres appropriés.(31)

C'est un traitement qui permet de suppléer quasi-parfaitement aux fonctions d'épuration rénale même s'il est impossible d'éliminer la totalité des toxines. De plus, les fonctions endocrines ne peuvent être rétablies, d'où la nécessité d'un traitement substitutif d'EPO et de vitamine D.

Il y a différents types de structures peuvent être utilisées pour les patients dialysés :

- Les centres d'hémodialyse comportant un service de réanimation afin de délivrer des soins intensifs en urgence. Ces centres sont réservés pour les patients à risques.
- L'unité de dialyse médicalisée installée dans un établissement de santé. Ici les patients sont stables, ce sont les infirmiers qui procurent les soins mais un médecin est toujours présent.
- L'unité d'autodialyse pour les patients plus autonomes, car ce sont eux qui préparent leur dialyse.
- L'hémodialyse à domicile qui est de moins en moins utilisée, elle permet aux malades de se traiter chez eux.(31)

C'est un traitement contraignant, puisqu'en ce qui concerne l'hémodialyse conventionnelle, il faut compter trois séances d'une durée de trois à six heures par semaine. Il existe aussi l'hémodialyse quotidienne, laquelle dure entre deux heures et deux heures trente, six jours sur sept ; ce mode de traitement permet d'avoir un suivi plus régulier.

La seule contre-indication absolue à l'hémodialyse est l'absence de capital veineux utilisable pour prélever le sang.(32)

### I.2. Définition

L'hémodialyse rénale recouvre l'ensemble des méthodes d'EER qui ont en commun une circulation sanguine extracorporelle, un module d'échange entre le milieu intérieur et le milieu extérieur (hémodialyseur), et une solution électrolytique vectrice des échanges. L'hémodialyse a pour rôle de remplacer la fonction rénale déficiente, soit de manière définitive (hémodialyse chronique), soit de manière transitoire, dans l'attente d'une récupération de la fonction rénale (hémodialyse aiguë), elle assure des fonctions multiples :

- Produire de façon continue une solution électrolytique d'échange « dialysat » et/ou liquide de substitution ;
- Assurer la circulation sanguine extracorporelle ;

- Contrôler, la sécurise le bon déroulement de la séance programmée ;
- De façon plus récente, apporter une dimension nouvelle en assurant un contrôle de qualité par évaluation des performances d'épuration et en permettant un contrôle de la tolérance hémodynamique (33)

L'hémodialyse ne correspond, donc, pas à un traitement curatif mais bien à un traitement palliatif des insuffisances rénales majeures.

### **I.3. Matériels d'hémodialyse**

La mise en œuvre de l'hémodialyse nécessite un matériel spécifique dans un but bien précis à savoir créer deux circulations : la circulation du sang à épurer assistée ou non par une pompe et la circulation du bain de dialyse engendrée par le générateur.

#### **I.3.1. Le dialyseur**

C'est le « rein artificielle », où se produisent les échanges. Il est composé d'une membrane semi-perméable naturelle (cellulose) ou synthétique qui sépare le compartiment sanguin du dialysat. On en retrouve deux types : les dialyseurs à plaques, quasiment plus utilisés, et les dialyseurs à fibres creuses. Ces derniers sont constitués d'un réseau de dix à quinze mille fibres creuses, appelées aussi capillaires, qui représentent en fait la membrane semi-perméable, et qui sont enchâssées dans une gaine rigide. Le sang s'écoule à l'intérieur des capillaires dans un sens tandis que le dialysat traverse à contre-courant et à l'extérieur des fibres. (34)

Les membranes cellulosiques sont moins utilisées que les membranes synthétiques car elles sont beaucoup plus allergisantes. Mais leur objectif principal est identique : se rapprocher au mieux des caractéristiques de perméabilité de la membrane basale glomérulaire. (35)

Le choix de l'hémodialyseur dépend des données du patient (âge, poids, résultats biologiques), de la technique utilisée et des résultats souhaités. Le but de la dialyse est d'obtenir une épuration des molécules en rétention dans le plasma et d'enlever l'eau ingérée par les patients entre deux séances de dialyse. Il faudra donc que le dialyseur réponde à des critères de transfert de masse et de coefficient d'ultrafiltration déterminés. (36)

#### **I.3.2. Le générateur de dialyse**

Le générateur est le véritable « pilote » de la séance de dialyse. Il fabrique le dialysat à partir du concentré de solutés et de l'eau ultra-pure dans un mélangeur, qu'il envoie ensuite dans le dialyseur. Il gère l'ultrafiltration en fonction du poids à perdre et du temps de la séance, il est relié à des instruments de contrôle qui permettent de déceler toute anomalie provenant du circuit sanguin ou du circuit du dialysat. (35)

En effet, le générateur contrôle l'osmolarité du dialysat par conductimétrie, son pH, sa température, son débit à l'aide d'un débitmètre, la pression régnant dans le circuit, la présence

d'air en aval du piège à bulles, il détecte les fuites de sang par photométrie. Si l'un de ces paramètres sort des limites préétablies, la dialyse s'interrompt automatiquement et des alarmes alertent le personnel. Le dialysat usagé est envoyé vers les égouts dans un circuit spécial via une pompe.

#### I.4. Le Dialysat

Il est synthétisé dans un générateur de dialyse à partir d'un concentré de dialysat et d'une eau ultra-pure. L'eau pour hémodialyse, inscrite à la 3<sup>ème</sup> édition de la Pharmacopée Européenne sous la dénomination « **Solutions Concentrees Pour Hemodialyse** » (37) est considérée par la législation comme un médicament.

L'eau de dialyse (120 litres en moyenne par séance de 4h) est obtenue à partir d'eau potable par distillation, par osmose inverse, par échange d'ions ou par tout autre procédé approprié. (38)

En effet, l'eau de ville a une composition trop variable et doit être débarrassée de tout élément potentiellement nocif comme le chlore, le calcium, l'aluminium, les toxines, les bactéries... Pour se faire, le système de traitement de l'eau comprend :

- Un adoucisseur pour capter le calcium et le magnésium grâce à une résine échangeuse d'ions.
- Un filtre à charbon activé pour adsorber les composés organiques, le chlore, les pyrogènes.
- Des filtres, disposés tout au long du système qui retiennent les particules insolubles.
- Un système d'osmose inverse pour ôter la quasi-totalité des substances ionisées et organiques dissoutes.

L'eau ultra-pure est ensuite envoyée dans les générateurs de dialyse afin d'y être mélangée au concentré de dialysat. Des contrôles réguliers de la qualité de l'eau sont réalisés, afin de s'assurer de l'absence de germes microbiens et d'un taux indétectable d'endotoxines, comme définit dans la Pharmacopée.

Le dialysat est préparé extemporanément au cours de la séance de dialyse par dilution du concentré dans l'eau ultra-pure au niveau du mélangeur. Les concentrés utilisés sont généralement tamponnés au bicarbonate et dilués vingt fois dans l'eau. (31)

La composition finale du dialysat en eau et en sels minéraux est relativement proche de celle du liquide extracellulaire ; elle est déterminée de telle sorte que le sang puisse retrouver une composition correcte après la séance

**Tableau II :** Relations entre effets toxiques et concentrations de plusieurs contaminants physicochimiques et bactériologiques de l'eau pour hémodialyse. (39)

| Contaminant       | Effets toxiques   | Concentration toxique |
|-------------------|---|-----------------------|
| Aluminium         | Encéphalopathie du dialysé, ostéopathie, anémie   | 60 µg /l              |
| Calcium-magnésium | Nausée, vomissement ; céphalées flush, myalgietroubles tensionnels  | 88mg/l(calcium)       |
| Chloramines       | Hémolyse, méthémoglobinémie, anémie   | 0,25mg/l              |
| Cuivre            | Nausée, frisson, céphalées, hépathopathie, fièvre   | 0,49mg/l              |
| Fluore            | Ostéoporose ; ostéomalacie  | 1mg/l                 |
| Nitrate           | Hémolyse, hypotension, cyanose, nauséeméthémoglobinémie   | 21mg/l                |
| Sodium            | Hypertension, œdèmes, vomissement, céphalée pulmonaire, tachycardie, insuffisance respiratoire, crise, coma, mort | 300mg/l               |
| Sulfate           | Nausée, vomissement, acidosemétabolique   | 200mg/l               |
| Zinc              | Nausée, vomissement, fièvre, anémie   | 0.2mg/l               |
| Microbiologique   | Frisson, fièvre, nausée, septicémie   | >100UFC/ml            |
| Endotoxines       | Hypotension, cyanose, choc  | >0,25 EU/ml           |

### I.5. Les Abords vasculaires pour hémodialyse

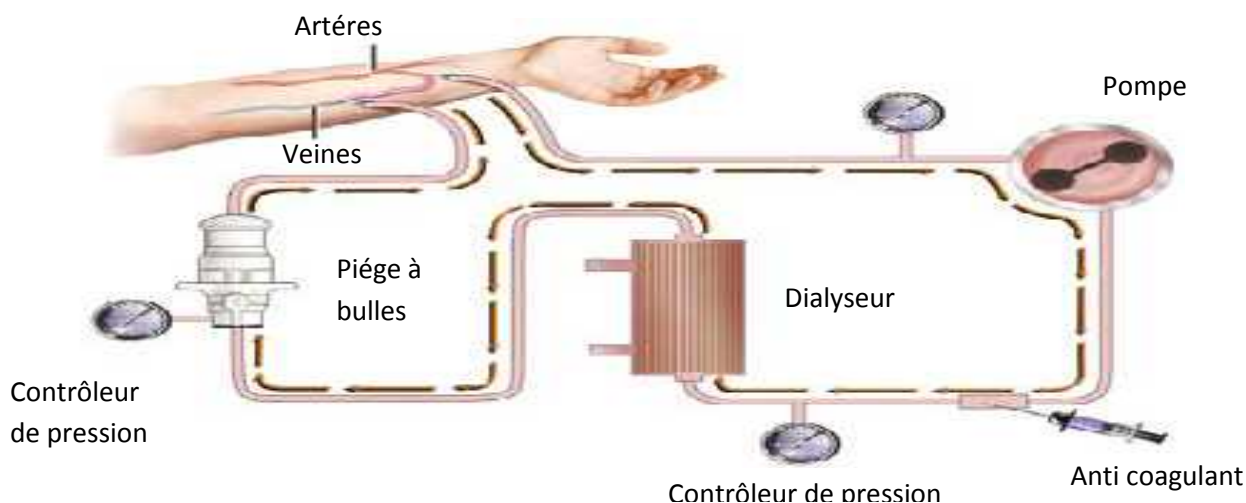
La connexion du patient hémodialysé chronique à la machine de dialyse nécessite un double accès au sang. Cet accès doit procurer un débit important de l'ordre de 350 ml/min. Il doit pouvoir être répété lors de chaque séance de dialyse pendant une longue période de temps. (40)

La ponction artérielle à répétition n'est ni facile ni anodine et il y a en pratique deux grandes solutions : les cathéters centraux insérés dans un gros tronc veineux (veine fémorale ou veine jugulaire interne) et surtout la fistule artério-veineuse qui consiste à artérialiser une veine superficielle en l'anastomosant à une artère, ce qui permet d'avoir dans cette veine un débit important. (41)

### I.6. Le circuit sanguin extracorporel

Une fois ponctionné au niveau de la fistule ou du cathéter, le sang est acheminé par une pompe assurant un débit minimum de 300 ml/min jusqu'au dialyseur. C'est à ce niveau que se produit la filtration : le sang traverse le dialyseur dans le sens inverse du dialysat afin d'optimiser les échanges. Après avoir été épuré, il retourne au niveau de la fistule en passant dans un piège à

bulles afin d'éviter la présence d'air dans le circuit. On note que des contrôles de pression ont lieu à différents points du circuit, principalement avant et après le dialyseur.(42)



**Figure 07 :**Le circuit sanguin extracorporel(43)

La biocompatibilité du circuit est primordiale; en effet, toute activation excessive du complément ou des facteurs de coagulation lorsque le sang entre au contact du circuit ou des membranes de dialyse est un signe de bio-incompatibilité. Dans certains cas, il peut même survenir un choc anaphylactique. Les membranes synthétiques ou cellulosiques substituées utilisées aujourd'hui sont, pour la plupart, biocompatibles, elles n'activent que peu ou pas le complément. De plus, le circuit est héparinisé afin de prévenir la coagulation à l'intérieur de ce dernier.(42)

## II. Risque infectieux en hémodialyse

Les infections chez les patients traités par dialyse sont 100 fois plus fréquentes que dans la population générale. Elles représentent la seconde cause de mortalité. Leur diagnostic précoce est capital ainsi que leur prévention. Les insuffisants rénaux ont de nombreux facteurs de risque prédisposant aux infections, notamment un déficit immunitaire et des portes d'entrées cutanées multiples. Les agents pathogènes les plus fréquemment retrouvés sont les cocci à Gram positif, en majorité des staphylocoques et les bacilles à Gram négatif. Ces infections peuvent mettre en jeu à la fois la survie du patient et celle de la technique de dialyse.(44)

La dysrégulation du système immunitaire, qui apparaît dès le stade débutant de l'insuffisance rénale et se majore par sa progression, s'accroît encore au cours de la dialyse de suppléance sous l'effet de bio-incompatibilité. (45) Cette dysrégulation immunitaire est la conséquence de deux phénomènes : l'immunoactivation et l'immunodéficience. (46)

## II.1.Sources d'infection

Toute séance d'hémodialyse peut exposer le patient au risque infectieux, les sources d'infections les plus fréquentes sont :

- L'abord vasculaire du dialysat
- Une contamination du dialysat
- Une contamination de générateur et des tuyaux
- Réutilisation de filtre de dialyse
- Et enfin une contamination des solutions médicamenteuses

Ces patients ont aussi régulièrement exposés à des procédures invasives qui peuvent les mettre en contact avec divers agents infectieux tels *Staphylococcus aureus* ou les virus des hépatites.(47)

## II.2–Les contaminations du dialysat

La contamination microbienne du dialysat peut provenir de la formation d'un biofilm à la surface du circuit hydraulique des moniteurs générateurs d'hémodialyse.

Le biofilm est un dépôt de microorganismes au sein d'une matrice constituée de matières minérales et organiques provenant du métabolisme microbien et du dialysat. Cette matrice appelée glycoalyx, forme un réseau de fibres recouvrant progressivement les germes et constitue ainsi une barrière physique protégeant les micro-organismes des agressions du milieu extérieur et, notamment, de la diffusion des désinfectants chimiques.(2)

La contamination peut provenir également de l'eau pour hémodialyse, produite à partir de l'eau de ville.

Le transfert des substances bactériennes du dialysat à travers la membrane de dialyse se fait par le phénomène de rétrofiltration, il est observé avec toutes les membranes de dialyse. Le risque lié au phénomène de rétrofiltration peut être réduit par l'utilisation d'eau et de concentrés pour hémodialyse de bonne qualité microbiologique. (48)

### II.2.1. Contaminations bactériennes du dialysat

Les germes à Gram positifs sont les agents pathogènes le plus fréquemment rencontrés chez les patients urémiques au cours des infections tant générales que locales. Le germe le plus souvent en cause est le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) mais les staphylocoques blancs (*Staphylococcus epidermidis*), à coagulase négative, sont aussi souvent responsables de bactériémie. D'autres germes à Gram positifs, tels que le streptocoque ou le pneumocoque, ont été isolés par hémoculture, mais avec une fréquence beaucoup moindre.

La porte d'entrée la plus fréquente des bactériémies à staphylocoques est l'infection de l'accès vasculaire chez les hémodialysés, ou du cathéter péritonéal chez les patients traités par dialyse péritonéale. Les septicémies à staphylocoque peuvent entraîner de multiples localisations

secondaires, notamment des infarctus pulmonaires septiques, des endocardites et des arthrites septiques.

**Tableau III :** Les bactéries et substances fréquemment retrouvés lors de réactions fébriles associées à la dialyse

|                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| <b>Bactéries</b>                     | <b>Entérobactéries</b><br><i>Escherichia coli</i><br><i>Serratiaspp</i><br><i>Entérobacterspp</i><br><i>Bacilles à gram négatif, non fermenteurs</i><br><i>pseudomonas spp</i><br><i>Acinetobacterspp</i><br><i>Stenotrphomonasmaltophilia</i><br><i>Burkholderiacepacia</i><br><i>Alcaligenesspp</i><br><i>Flavobacterium spp</i><br><i>Achromobacterspp</i> |
| <b>Mycobactéries</b>                 | <i>Mycobacterium chelonae</i><br><i>Mycobacterium fortuitum</i><br><i>Mycobacterium gordonae</i><br><i>Mycobacterium scrofulaceum</i><br><i>Mycobacteriumkansaii</i><br><i>Mycobacteriumavium</i><br><i>Mycobacteriumintracellulaire</i>  |
| <b>Particules de microorganismes</b> | <b>LPS ( lipopolysaccharides endotoxine)</b><br><b>Muranypeptides</b><br><b>Exotoxinedepseudomonassp</b><br><b>Microcystine (algue)</b>   |

Les infections à Gram négatif sont moins fréquemment en cause dans les épisodes bactériémiques. Parmi ces germes, le colibacille (*Escherichia coli*) est le plus souvent rencontré, mais *pseudomonas* et *serratia* ont été isolés à l'hémoculture. Le foyer d'origine des septicémies à *Escherichia coli* est le plus souvent intestinal ou génito-urinaire. Or l'infection urinaire est fréquente chez les dialysés, notamment chez les patients oliguriques ou auriques, et chez ceux atteints de polykystose rénale ou de pyélonéphrite chronique. (44)

Des substances biologiquement actives sécrétées par les bactéries vivantes, comme les exotoxines, ou des produits de lyse bactérienne, comme les endotoxines ou les peptidoglycanes, peuvent se retrouver dans l'eau et les liquides de dialyse. Il est possible de retrouver de fortes concentrations de ces substances bactériennes même si la contamination bactérienne est faible. Elles ont la capacité de pénétrer la membrane de dialyse et d'activer la production de cytokines une fois dans le sang.

### II.2.2. Contamination fongique

Des études réalisées par l'équipe américaine de Klein, au sein des 51 centres de dialyse et publiée en 1990, conclue que :

Des levures et des champignons ont été retrouvés dans les réseaux d'eau à raison de 10 % et 64 %, respectivement. Le dialysat a été contaminé dans les centres par des levures et des champignons à raison de 30 % et 70 %, respectivement

L'enquête réalisée montre également qu'il n'y a pas de rapport entre les concentrations bactériennes et fongiques et celles des endotoxines

L'espèce de champignon microscopique la plus retrouvée est *Exophiala jeanselmei*  
L'espèce de levure la plus isolée dans les fluides de dialyse est *Candida parapsilosis*(49)

### II.2.3. Contamination virales

Les infections virales notamment celles dues au virus de l'hépatite C (VHC), de l'hépatite B et de l'immunodéficience humaine VIH, sont fréquentes chez les malades soumis à une hémodialyse chronique. L'hépatite C demeure la principale infection virale chez les malades hémodialysés. La gravité de cette infection réside dans son risque élevé d'évolution vers la chronicité et du développement d'une cirrhose et d'un hépatocarcinome. (50)

L'exposition de ces malades aux risques transfusionnel et nosocomial explique la haute prévalence des infections virales dans cette population. Une infection chronique par ces virus réduit la survie du patient hémodialysé et du transplanté rénal ainsi que celle du greffon rénal.(51) La vaccination systématique des insuffisants rénaux constitue le moyen le plus efficace pour prévenir les infections virales VHB et VHC.(52)

### II.2.4. Le biofilm

Les circuits hydrauliques et les chambres de mélange des générateurs d'hémodialyse sont des milieux propices à la formation du biofilm.

Le biofilm est un ensemble de microorganismes recouvert par une couche protectrice visqueuse polysaccharidique (le glycocalyx) (53) On y trouve des bactéries, des mycobactéries, des levures, des champignons et des algues. Il se forme sur toutes les surfaces en contact avec un milieu aqueux. Une fois constitué, le biofilm va relarguer de nombreuses substances toxiques dans les liquides environnants. Les dérivés bactériens du biofilm comprennent des éléments structurels comme des endotoxines, des peptidoglycanes et des muramylpeptides, ainsi que des dérivés des métabolismes et des protéines toxiques.

Pour une action efficace contre le biofilm chaque machine, chaque centimètre de tuyau utilisé doivent être désinfectés quotidiennement. (53)

### II.2.5. Les endotoxines

Les bactéries qui se développent dans l'eau ou dans les solutions d'électrolytes sont principalement à Gram négatif. Leur membrane externe contient des lipopolysaccharides qui sont relargués dans les fluides environnants au fur à mesure que les bactéries se multiplient ou meurent. Ces endotoxines sont pyrogènes. Certaines bactéries sécrètent également des polypeptides ou exotoxines. D'autres fragments et métabolites cellulaires seront dispersés dans les solutions tandis que les cellules se multiplient et se désintègrent. Alors que le biofilm adhéré à la surface et n'est pas détecté dans les liquides, les dérivés toxiques peuvent se retrouver dans le liquide de dialyse

Les dérivés bactériens présents dans le liquide de dialyse peuvent dans certaines conditions passer à travers la membrane du dialyseur même des dialyseurs basse perméabilité. Dans ce cas, ces produits vont se retrouver dans le sang du patient. En forte concentration, ces produits vont déclencher une réaction pyrogène. En faible quantité, ces dérivés bactériens stimulent les monocytes qui vont relarguer des cytokines inflammatoires jour après jour

Les endotoxines, une fois dans le sang, ont la capacité d'activer le facteur de coagulation XII : facteur de Hageman, qui va par la suite activer « les systèmes de coagulation, du complément, de fibrinolyse et kininogène ». (54)

### III. Les Acteurs de la Standardisation de la qualité

De nombreuses organisations professionnelles de la santé ont établi des limites supérieures pour la contamination chimique et bactériologique des eaux de dialyse.

L'Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) et la Pharmacopée Européenne ont proposé leurs recommandations principales et ont diffusé des normes pour la qualité de l'eau de dialyse.

La qualité de l'eau utilisée en dialyse a été mondialement revue, car considérée insuffisante. Cette mission a été confiée à des organismes français de certification, comme l'AFNOR, ou mondiaux comme ISO (International Standard Organisation).

Depuis quelques années en Algérie, les critères de pureté physicochimique concernant l'eau de préparation des liquides de dialyse ont été précisés et réglementés par l'arrêté du 17 Moharrem 1423 correspondant au 31 Mars 2002. Par contre, la normalisation des conditions microbiologiques ne semble pas avoir été envisagée. Les techniques les plus diverses sont utilisées selon les centres (quantités analysées, milieux, température et durée d'incubation très variables), donnant évidemment des résultats extrêmement différents.

La parution en 2008 de la norme AFNOR NF S93-315 a marqué un progrès en définissant des critères de qualité microbiologique du dialysat mais sans toutefois prendre en

compte l'importance du phénomène de rétrofiltration qui peut atteindre 3 litres/h au niveau du dialyseur.

Plus récemment un consensus international a permis la rédaction de plusieurs normes ISO portant sur les qualités physico-chimiques et microbiologique de l'eau et des liquides pour hémodialyse. Ces normes parues en 2009 demandent la recherche de nouveaux éléments (antimoine, arsenic, baryum, béryllium, cadmium, chrome, sélénium, thallium) dont la toxicité est suspectée en hémodialyse. Sur le plan microbiologique le taux d'endotoxine d'un dialysat « Ultrapur » est abaissé à inférieur 0,03UI/ml.

**Tableau IV :** Standards de la pharmacopée Européenne et de l'american association for the advancement of Medical Instrumentation (AAMI)

|  | Pharmacopée Européenne |          | Association for the advancement of medical instrumentation (AAMI) |       |
|--|------------------------|----------|---|-------|
|  | CFU/mL                 | EU/mL    | CFU/mL  | EU/mL |
| <b>Eau de dialyse (entrée de la machine)</b>     | $< \frac{0,7}{100}$    | $< 0,25$ | $< 200$   | NS    |
| <b>Liquide de dialyse (sortie de la machine)</b> | NS                     | $< 0,25$ | $< 2000$  | NS    |

**CFU = colony forming units (définit la teneur en bactéries)**

**EU = Endotoxin (définit la teneur en endotoxines)**

**NS = non spécifié**

IL n'existe pas de standards pour la fréquence et le type de prélèvement à effectuer pour l'évaluation de la contamination bactérienne. La plupart des auteurs préconisent cependant des prélèvements mensuels à chaque niveau de la chaîne de traitement de l'eau. Dans tous les cas, un prélèvement mensuel est recommandé à la sortie de la machine de dialyse.

#### IV. Méthodes d'analyses

Il existe en microbiologie diverses méthodes permettant de détecter et de dénombrer les germes de contaminations. Chacune de ces méthodes est plus ou moins adaptée à un substrat donné (eaux ou autres).

La technique la plus souvent utilisée pour apprécier la qualité microbiologique des liquides de dialyse est la technique de filtration sur membrane. (55)

##### IV.1. Technique de filtration sur membrane

On a adopté la technique de filtration sur membrane pour l'analyse bactériologique de l'eau en 1951 (56)

Elle est basée sur la filtration des échantillons sur des membranes filtrantes dont les pores peuvent retenir les organismes cibles (0.45 µm) et la mise en culture du filtre sur un milieu gélosé dans des conditions (durée, température) adaptées au micro-organisme recherché.

Cette méthode présente l'avantage de permettre d'analyser dans le cas des liquides peu contaminés (concentré par exemple) l'analyse de grands volumes. Elle offre une sensibilité et une fiabilité plus grandes tout en réduisant considérablement le temps, la main-d'œuvre, le matériel, l'espace et les fournitures nécessaires. (57)

### V. Conséquences potentielles de la contamination microbienne de l'eau de dialyse

Toute contamination de l'eau pour hémodialyse et par conséquent du dialysat sera préjudiciable au patient en raison de l'insuffisance rénale et de la chronicité du traitement par hémodialyse périodique.

Les complications liées à une eau de dialyse de qualité insuffisance peuvent être catégorisées selon la durée de leurs manifestations :

**a.** A court terme, le passage de microorganismes ou produits de ces derniers dans le sang du patient peut être à l'origine de réactions pyrogènes (frissons, myalgies, fièvre, nausée, hypotension) pouvant aller jusqu'au choc du patient. Ces réactions débutent généralement en cours de séance de dialyse.

**b.** A long terme, la stimulation répétitive des monocytes par des produits microbiens est à l'origine d'une production chronique de médiateurs de l'inflammation ou cytokines. Ces substances sont elles-mêmes responsables d'une production hépatique de protéine C-réactive (CRP) et de bêta-2-microglobuline pouvant aboutir à une amyloïdose. A l'inverse, certaines protéines comme l'albumine diminuent sous l'effet de l'inflammation chronique et plusieurs études ont montré que l'hypoalbuminémie prédit la mortalité chez les patients dialysés.

A red speech bubble graphic with a white outline, containing the text 'Matériel et Méthodes'. The bubble has a tail pointing towards the bottom left and a small semi-circle at the top right.

*Matériel et  
Méthodes*

Une installation d'épuration extra-rénale, ou circulent, en grandes quantités, des fluides dans un circuit souvent complexe de tuyaux, pompes, cuves, résines, filtres..., qui sont autant de foyers bactériens possibles, est donc susceptible d'être contaminée.

Les micro-organismes peuvent survivre dans de l'eau, même très pure. Certaines bactéries de l'environnement sont capables de s'y multiplier.

ont les premiers, définit la notion de bactéries à Gram négatif de l'eau espèces ubiquitaires, particulièrement résistantes, capable d'utiliser des traces de carbone et d'azote comme éléments nutritifs et sources énergétiques.(55) (58)

Dans les dialysats, la présence des sels minéraux ne peut que favoriser le développement de ces micro-organismes.

L'eau est un élément où le développement de microorganismes est inéluctable. L'augmentation de la température et le cheminement de l'eau à travers la boucle et le générateur sont des paramètres qui renforcent ce développement. L'accumulation de microorganismes associée à des matières organiques et minérales sur une surface engendre ce que l'on appelle un biofilm. (59)

L'objectif de notre travail est l'évaluation de la qualité bactériologique des liquides de dialyse du service d'hémodialyse et d'insuffisance rénale de L'**EPH Boushaba Ali** wilaya **Khenchela**, et l'isolement des bactéries qui provoque la contamination de ces liquides et enfin étudier le profil de résistance aux antibiotiques.

Cette étude va donc nous permettre de préciser les points critiques à surveiller en pratique courante dans une installation d'hémodialyse (système d'épuration de l'eau concentré générateur de dialyse...) pour assurer dans l'intérêt du malade une bonne qualité bactériologique du dialysat

### **I. Caractéristiques générales du site d'étude**

L'**E.P.H Ali Boushaba** implanté au chef-lieu de la wilaya (ville de **Khenchela**) est une ancienne structure réalisée durant la colonisation française et mis en fonction en 1962 avec une capacité de 80 lits. Après l'indépendance, il a connu des extensions pour finalement atteindre une capacité de 313 lits

L'**EPH Boushaba Ali** dispose d'un service d'hémodialyse équipé de 11 générateurs et d'un personnel comptant de médecins et d'infirmiers.



**Photographie01:** Hôpital de BousshabaAli et service d'hémodialyse

## II. Le recueil des données

Arrivées au niveau des services concernés nous avons tout d'abord pris contact avec l'équipe soignante habituelle, en particulier le médecin traitant et les infirmiers pour consulter les dossiers médicaux des patients inclus dans notre étude. Ces informations ont été complémentées par un entretien direct avec les malades, à cet effet nous avons élaboré un questionnaire qui comporte les renseignements suivants :

- ✓ Des données générales (âge, sexe, date d'entrée)
- ✓ Des données cliniques (le type et la connaissance antérieure de l'insuffisance rénale, l'existence d'antécédents d'infections, et la durée d'évolution de la maladie)
- ✓ Des données paracliniques (urée et créatinine)

## III. Echantillonnage

La campagne d'échantillonnage a été réalisée au niveau de l'unité d'hémodialyse à partir de deux points (sites) différents durant le mois de mars 2016 à 08:45 heures du matin.

- Les échantillons de dialysat pré membrane. (site 1)
- Les échantillons de dialysat post membrane (vidange). (site 2), avant son rejet vers les égouts.

Les échantillons d'eau ont été prélevés au niveau des sites d'études dans des conditions d'asepsie rigoureuse à l'aide de flacons en verre de 1000ml stérilisés par la chaleur au four pasteur à 180°C pendant 30 minutes. (60)(61)



**Photographie 02 :** Les échantillons de dialysat pré membrane. (Site 1)



**Photographie 03:** Les échantillons de dialysat post membrane (vidange). (Site 2), avant leur rejet vers les égouts.

Les récipients ont été rincés au moment de l'emploi avec l'eau à examiner, les flacons n'ont pas été entièrement remplis. Il convient de laisser un petit vide d'air au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et le bouchon permettant de bien mélanger en secourant le flacon ensuite, ils ont été soigneusement étiquetés et conservés. (60)(61)

Au total nous obtenus 02 échantillons à partir du site 1 et 09 échantillons à partir du site 2 c'est-à-dire 09 malades différents durant leur séance d'hémodialyse (Tableau V). Les renseignements concernant ces malades sont obtenus suite à un questionnaire détaillé. (Annexe 06)

Les échantillons sont transportés à frais, jusqu'au laboratoire dans un laps de temps ne dépassent pas 3 heures. D'une façon générale, le transport à une température comprise entre 4°C

et 6°C et à l'obscurité dans des emballages isothermes permet d'assurer une conservation satisfaisante.

**Tableau V** : Les principales caractéristiques des prélèvements

| Lieux                 | Site de prélèvements | Période de prélèvements     | Volumes prélevés | Nombre d'échantillons | Type d'analyse  |
|-----------------------|----------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------|-----------------|
| Service d'hémodialyse | Site 1               | 23 Avril 2016               | 1000ml           | 02                    | Bactériologique |
| Service d'hémodialyse | Site 2               | 22Mars 2016<br>17Avril 2016 | 1000ml           | 09                    | Bactériologique |

#### IV. Les paramètres bactériologiques

L'étude de la qualité bactériologique des liquides des différents sites d'étude a été réalisée au niveau du laboratoire de l'**E.P.H Ahmed Ben Bella** Wilaya de Khenchela et au niveau des laboratoires pédagogiques de Biologie de l'université **Abbés Laghrour** Khenchela. Elle a consisté :

##### Site 1 :

✓ A effectuer un dénombrement des germes de contamination fécale par la méthode de filtration du liquide à analyser et dépôt de la membrane de filtration sur gélose Tergitol (incubation à 37°C pendant 24 heures pour les coliformes totaux et à 44°C pendant 24 heures pour les coliformes Fécaux). Et sur gélose SlanetzBartley (incubation 37°C à 24 heures pour les Entérocoques intestinaux).

✓ Le nombre de germes est estimé à partir du nombre de colonies identifiées selon la coloration spécifique sur le milieu de culture.

##### Site 2 :

✓ A effectuer un dénombrement des bactéries viables aérobies après dilution sur gélose nutritive (incubation 37°C pendant 24 heures).

✓ A Rechercher des germes pathogènes par ensemencement sur les milieux sélectifs Hektoen, Chapman, Cétrimide, et Sabauraudau chloramphénicol. (Incubation 37°C pendant à 24 heures).

✓ Apurifier les différentes colonies présentes, au moyen de milieux de culture spécifiques, ceci à partir de repiquage sur les cultures de l'étape précédente.

✓ A identifier les souches correspondantes, au moyen de tests complémentaires et biochimiques (galerie biochimique classique).

✓ Connaitre leurs profils de résistance aux antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.

### IV.1. Analyse bactériologique des échantillons du Site 1

Le dénombrement des germes de contamination fécale des échantillons du site 1 est réalisé selon la technique de filtration sur membranotype Gelman GN-6, la taille des pores de 0,45µm, diamètres 45mm. C'est la technique la plus souvent utilisée pour apprécier la qualité microbiologique des liquides de dialyse, c'est une méthode rapide, simple, normalisée mais nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration.(55)

Après filtration de 100 ml de liquide à analyser à travers des membranes, les filtres sont placés sur la surface des milieux de culture solide sélectifs pour la recherche des coliformes totaux, coliformes fécaux et entérocoques intestinaux.

#### IV.1.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux

Le principe de recherche des coliformes totaux consiste en un ensemencement, par ledépôt de la membrane filtrante sur gélose Tergitol-7 dans une boîte de pétri. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de germes est estimé à partir du nombre de colonies identifiées comme telles dans la boîte, selon la coloration spécifique sur le milieu de culture.(55)

- Remplir de façon aseptique l'entonnoir de la rampe de filtration avec 100 ml d'eau à analyser.
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Pétri de 45 mm de diamètre contenant de la gélose TTC.
- Cette membrane sera incubée à 37°C, pendant 24 heures et servira à la recherche des coliformes totaux.

#### Lecture et interprétation

- Après 24 heures d'incubation, les coliformes totaux et fécaux apparaissent sous forme de petites colonies jaunes ou orangées, lisses, légèrement bombées.
- Etant donné le caractère sélectif de la gélose TTC ; ne pousseront théoriquement que les coliformes.
- Ne dénombrer que les boîtes refermant entre 30 et 300 colonies.
- Le nombre de colonies trouvées sera exprimé dans 100 ml d'eau à analyser

#### IV.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux ou thermotolérants

La recherche des coliformes thermotolérants est réalisée selon la même technique que celle utilisée pour les coliformes totaux sauf que l'incubation se fait à 44°C pendant 24 à

48 heures. Le nombre de germes est estimé à partir du nombre de colonies identifiées comme telles dans la boîte, selon la coloration spécifique sur le milieu de culture. (55)

### IV.1.3. Recherche et dénombrement des entérocoques fécaux

La recherche des entérocoques fécaux a été effectuée suivant une méthode qu'on retrouve dans d'autres publications. (55) La recherche des entérocoques fécaux par filtration est tout comme la colimétrie par filtration une méthode rapide, simple, normalisée mais nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration.

Le principe consiste par le dépôt de membrane de filtration sur gélose Slanetz et Bartley dans une boîte de pétri. L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures. Le nombre de germes est estimé à partir du nombre de colonies identifiées comme telles dans la boîte, selon la coloration spécifique sur le milieu de culture.

- Tout d'abord, il faudrait stériliser un entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir soit avec l'eau à analyser ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de 0,45 µ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dernier avec la pince correspondante.
- Remplir de façon aseptique l'entonnoir avec 100 ml d'eau à analyser.
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Pétri de 45 mm de diamètre contenant de la gélose **Slanetz et Bartley**.
- Cette membrane sera incubée à 37°C, pendant 24 heures.

### Lecture et interprétation

- Après 24 heures d'incubation, les Entérocoques fécaux apparaissent sous forme de petites colonies rouges, marron ou roses, lisses, légèrement bombées.
- Etant donné le caractère sélectif de la gélose Slanetz ; ne pousseront théoriquement que les Entérocoques fécaux.
- Ne dénombrer que les boîtes refermant entre 15 et 300 colonies.
- Le nombre de colonies trouvées sera exprimé dans 100 ml d'eau à analyser

## IV.2. Analyse bactériologique des échantillons du Site 2

### IV.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries viables aérobies

La flore des bactéries viables aérobies est constituée d'un ensemble de micro-organismes variés correspondant aux germes banals de contamination (il s'agit de groupe microbien qu'il n'est pas toujours nécessaire de définir au plan taxonomique). Le dénombrement des bactéries viables aérobies est utilisé comme indicateur de pollution. (61)(62)

✓ On a d'abord homogénéisé l'échantillon en agitant vigoureusement le flacon afin de permettre une répartition homogène des microorganismes. puis à l'aide d'une pipette graduée stérile on a prélevé 1 ml.

✓ On a introduit stérilement le volume prélevé dans un tube contenant 9 ml d'eau distilléestérile.

✓ Après une homogénéisation par au moins 10 secondes d'agitation 2 gouttes de dilution est déposé à la surface du milieu gélosé nutritive coulé en boîte de pétri. L'inoculum a été étalé soigneusement sur toute la surface gélosée grâce à un râteau étaleur. La technique requiert certaines précautions : on a séché à préalable, à l'étuve à 37°C, les milieux gélosés afin de faire évaporer l'eau de cristallisation, la surface de la gélose doit être complètement sèche.

✓ Les boîtes sont par la suite incubées en aérobiose à une température de 37°C, pendant 24 heures.

### **Lecture :**

Les germes revivifiants se présentent dans sous forme de colonies poussant en surface. Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte deux remarques suivantes :

1. Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies,
2. Le résultat sera exprimé par millilitre d'eau à analyser à 37°C.

### **IV.2.2. Recherche des germes pathogènes**

#### **IV.2.2.1. Isolement des Entérobactéries**

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, mobiles par une ciliature péritriches ou immobiles, acidifiant le glucose par voie fermentative avec souvent production de gaz, ne possédant pas d'oxydase et réduisant les nitrates et nitrites. (63)

Une goutte de chaque échantillon d'eau est disposée sur la gélose Hektoen pré-coulée en boîte de pétri, l'ensemencement se fait par la technique des stries en cadrants.

Les boîtes sont par la suite incubées en aérobiose à une température de 37°C, pendant 24 heures.

#### **IV.2.2.1.1. Biodiversité morphologique et métabolique des isolats**

Le principe de lecture du milieu Hektoenest fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, Salicine). Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur « Saumon », les autres donnant des colonies bleues vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir.

L'aspect des microorganismes est le suivant :

**Tableaux VI : L'aspect des microorganismes sur gélose Hektoen.**

| Caractéristiques                     | Microorganismes   |
|--------------------------------------|---|
| Colonies jaune Saumon                | <i>Escherichia coli, Klebsiella, Citrobactersp, Enterobacter, Arizona, Serratia</i> |
| Colonies jaune saumon à centre noir  | <i>Proteusvulgaris</i>  |
| Colonies vertes à centre noir        | <i>Proteus mirabilis, Salmonella</i>  |
| Colonies vertes ou bleuâtres         | <i>Shigella, Salmonella, Providencia, Proteusmotganii, Proteusrettgeri</i>          |
| Petites colonies bleues ou brunâtres | <i>Pseudomonas (oxydase positive)</i>   |

#### IV.2.2.1.2. Purification des souches bactériennes

Quelques colonies isolées ont été reprises de manière aléatoire et sont purifiées par repiquages successifs sur gélose Hektoen, les souches bactériennes purifiées ont fait l'objet d'une étude des caractères morphologiques macroscopiques, microscopiques et biochimiques.

Après purification et identification, le profil de résistance aux antibiotiques des colonies reprises précédemment est déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller

#### IV.2.2.1.3. Etude l'aspect microscopique

##### Coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration différentielle qui permet la distinction des bactéries Gram (+) et Gram (-) sur la base de différence de composition chimique et d'ultrastructure des parois cellulaires. Cette méthode permet aussi d'observer :

- La morphologie des bactéries
- Leur mode de regroupement

Sur des lames en verre propres, des frottis des souches isolées ont été réalisés puis fixés par la chaleur en les passant, par mouvements rapides, trois à quatre fois sur la flamme de bec bunsen. Les lames sont ensuite colorées selon les étapes suivantes:

**1- Réalisation du frottis**

Fixer le frottis par la chaleur

Passer la lame lentement au-dessus de bec bunsen et laisser refroidir.

**2- Coloration par le violet de gentiane**

Recouvrir la lame par violet de gentiane



Laisser 1 min.

Rincer à l'eau distillée

**3- Mordançage par le lugol**

Recouvrir le frottis par lugol

Laisser ↓ 1 min

Eliminer l'excès de lugol et rincer la lame

**4- Décoloration par l'alcool**

Recouvrir le frottis d'alcool (éthanol)

Laisser ↓ 30 s

Laver le frottis à l'eau distillée

**5- Recoloration par la fuchsine**

Recouvrir le frottis par la fuchsine

Laisser ↓ 1min.

Rincer le frottis à l'eau distillée

Sécher la lame entre 2 feuilles de papier essuie-tout

Une fois séchés, les lames ont été examinées sous microscope optique à l'aide de l'objectif à immersion (x100). Des microphotographies sont réalisées à l'aide d'un microscope trinoculaire doté d'un appareil photographique numérique.



Photographie 04: Microscope Trinoculaire

**IV.2.2.1.4. Identification biochimique classique**

Cette identification nous oriente sur le métabolisme suivi par les microorganismes et les enzymes qu'ils possèdent. Ces tests ont été réalisés en utilisant des mini galeries classiques. (64)

La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le tableau d'identification. (Annexes)

#### IV.2.2.1.4.1. Etude de la dégradation du glucose, saccharose et lactose en milieu TSI

Le milieu Triple Sugar Iron agar (TSI) permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, lactose, et du saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et la production de gaz (CO<sub>2</sub>). Ce milieu est composé d'un culot et d'une pente, et contient le rouge de méthyle comme un indicateur de pH.

On ensemence le milieu à l'aide d'une anse stérile par des stries longitudinales au niveau de la pente et par une piqûre centrale dans le culot. On incube les tubes ensemencés à 37 °C pendant 24 heures. Les résultats se manifestent comme suit:

- ✓ Glucose positif : culot jaune.
- ✓ Saccharose et lactose positif : la pente vire au jaune.
- ✓ H<sub>2</sub>S positif : noircissement du milieu au niveau de la zone joignant le culot et la pente.
- ✓ Production de gaz : présence de bulles de gaz dans le culot (66)

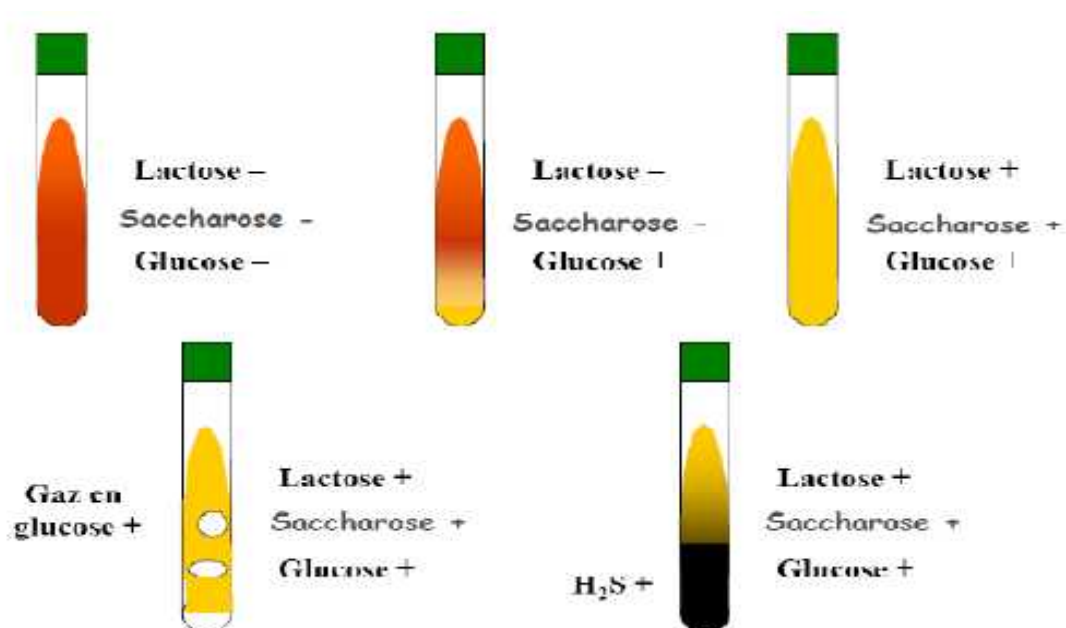


Figure 09 : Lecture du milieu Triple Sugar Iron agar

#### IV.2.2.1.4.2. Utilisation du citrate comme source de carbone

Le milieu utilisé est le citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium, seules les bactéries contenant une enzyme citrate perméase seront donc capables de se développer sur ce milieu.

On ensemence le milieu par la suspension bactérienne, en strie longitudinale. Les tubes sont ensuite légèrement fermés et incubés à 37°C pendant 24 heures. L'utilisation du citrate provoque l'alcalinisation du milieu qui se traduit par une couleur bleue. (66)

### IV.2.2.1.4.3. Test du mannitol mobilité

Le Mannitol-Mobilité est un milieu de culture qui permet de mettre en évidence l'utilisation du mannitol et permet simultanément d'établir la mobilité bactérienne.

On ensemence le milieu par piqure centrale, à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée chargée de la culture à étudier, puis incubé à 37 °C pendant 24 heures à 48h.

- ✓ La fermentation du mannitol entraîne le virage du milieu au jaune.
- ✓ Les souches mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu, tandis que les souches immobiles croissent uniquement le long de la strie d'ensemencement (64)

### IV.2.2.1.4.4. Recherche de l'uréase

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO en dioxyde de carbone et ammoniac qui se lient entre eux pour donner le complexe du carbonate d'ammonium.



Le milieu urée-indole permet de mettre en évidence ce caractère, dont le virage de l'indicateur de pH au rouge violacé en raison de l'alcalinisation du milieu, indique l'utilisation de l'urée par les bactéries.

### IV.2.2.1.4.5. Recherche de l'indole

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seules les bactéries indologènes permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole. Ce test s'effectue en utilisant un milieu urée-indole (ou un milieu riche en tryptophane exempt d'indole). (65)

Après 24 h d'incubation, on ajoute quelques gouttes du réactif Kovacs (acide nitrique) au milieu urée indole inoculé par la souche à étudier. Après agitation l'indole formé va réagir avec le réactif de Kovacs pour former un anneau rouge surnageant (indole

positif), alors que la formation d'un anneau brunâtre (couleur du réactif) signifie que la souche est indole négative (66)

### IV.2.2.1.4.6. Recherche de tryptophane désaminase (TDA)

Le tryptophane désaminase agit sur l'acide aminé L-tryptophane en formant l'acide indole pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer une coloration brun rouge.

### IV.2.2.1.4.7. Recherche du nitrate réductase

Ce test permet de mettre en évidence le nitrate réductase, une enzyme capable de réduire les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) en nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ). Des tubes contenant un bouillon nitraté sont ensemencés par les souches isolées, puis incubés à 37 °C jusqu'à l'obtention d'une culture abondante. Après l'incubation, on ajoute aux cultures quelques gouttes du réactif I (acide parasulfanilique) ensuite du réactif II (alpha-naphtylamine).

L'apparition d'une coloration rose ou rouge traduit une réaction positive (réduction des nitrates en nitrites).

### IV.2.2.1.4.8. Etude des voies fermentatives intermédiaires

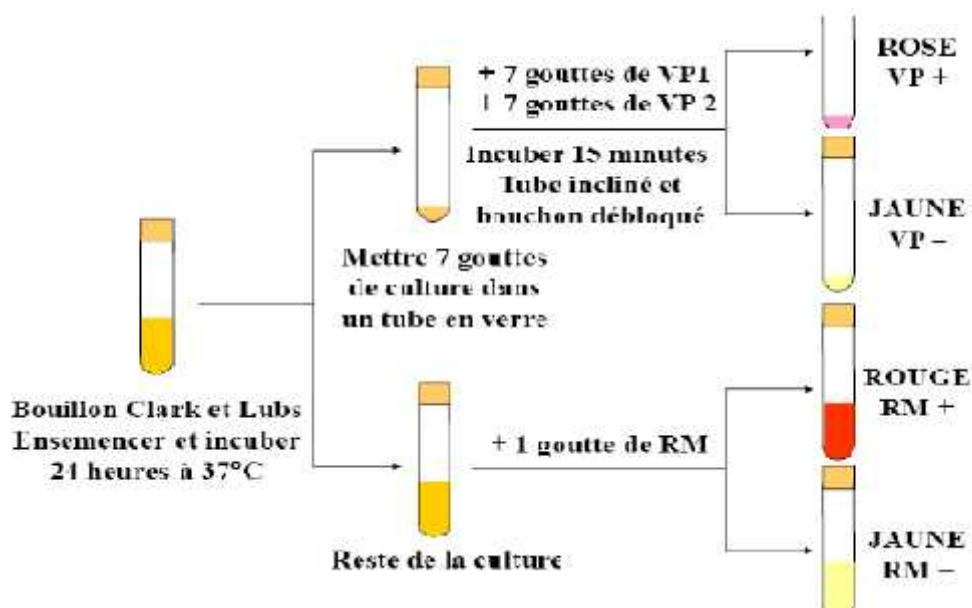
Cette étude permet d'effectuer une différenciation entre la fermentation des acides mixtes (réaction au Rouge de Méthyle) et celle du butylène glycolique (réaction de Voges-Proskauer).

✓ **Réaction au Rouge de Méthyle:** elle consiste à mettre en évidence l'acidification finale du milieu par la fermentation du glucose.

✓ **Réaction de l'acétoïne (réaction de Voges-Proskauer):** Ce test détecte la capacité de synthèse de l'acétoïne (acétyl-méthyle carbinol) par les microorganismes, qui est un métabolite spécifique intermédiaire de la fermentation butandiolique (VP +).

Dans un milieu bien aéré et fortement alcalinisé, il se produit une auto-oxydation du butanediol en acétoïne et en diacétyl. L'acétoïne réagit avec le réactif VP I (soude ou potasse) pour former le diacétyl; ce dernier après addition du VP II va réagir avec le groupe guanidine de l'arginine pour former un complexe coloré en rose.

Afin de réaliser ces deux tests, on ensemence la souche à étudier sur un milieu Clark-Lubs puis incubé à 37 °C pendant 24h à 48h. Après l'incubation on divise le milieu dans deux tubes à hémolyse stériles, dans le premier tube on ajoute quelques gouttes de VP I puis quelques gouttes de VP II, et on laisse le tube incliné (réaction facilitée par l'air), alors que dans le deuxième tube on ajoute quelques gouttes de RM. (66)



#### Test VP Test RM

- ✓ Coloration rouge : VP positif. Coloration rouge: RM positif.
- ✓ Coloration jaunâtre : VP négatif. Coloration jaunâtre : RM négatif

**Figure 10 :** Lecture de milieu Clark et Lubs

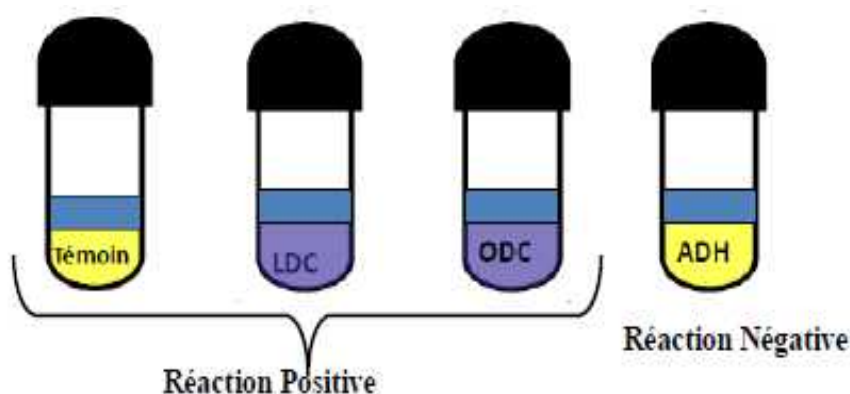
#### IV.2.2.1.4.9. Recherche des décarboxylases

Ce test permet de détecter la production des décarboxylases suivantes : la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC) et l'arginine dihydrolase (ADH) qui décarboxylent respectivement la lysine, l'ornithine et l'arginine en cadavérine, putrescine et agmatine par ordre successif. Le test est réalisé avec le milieu Moller réparti en 4 tubes à hémo lyse différents :

Le premier tube constitue le témoin, il contient essentiellement du glucose et du pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH. Les trois autres tubes contiennent en plus du milieu témoin, un des trois acides aminés suivants : Lysine, Ornithine, ou Arginine.

Après ensemencement, on ajoute 1ml d'huile de vaseline stérile dans chaque tube, tous les tubes seront incubés à 37°C pendant 24h à 48h.

- ✓ Apparition d'une coloration jaune : réaction positive pour témoin.
- ✓ Apparition d'une coloration jaune : réaction négative pour les enzymes.
- ✓ Apparition d'une coloration pourpre : réaction positive. (67)



**Figure 11 :** Lecture des décarboxylases

#### IV.2.2.2. Isolement des Staphylocoques

Les staphylocoques font partie de la famille des *Micrococcaceae* définis comme des cocci à Gram positif, de 0,8 à 1 µm de diamètre, disposés en amas ou en grappes typiques, catalase positive, se développent à 37°C sur un milieu sélectif de Chapman sans distinction de coloration de colonies. Ils sont immobiles, asporulés, parfois capsulés. (63)

Ils sont toutefois capables de fermenter le glucose à la différence des micrococques et habituellement capables de fermenter le mannitol.

Une goutte de l'échantillon est déposée sur la gélose Chapman après un ensemencement par la technique des stries en cadran, on incube nos boîtes à 37°C pendant 24 heures.

##### IV.2.2.2.1. Biodiversité morphologique et métabolique des isolats

En 18 à 24 heures sur milieu de Chapman, *Staphylococcus aureus* provoque une acidification (virage au jaune) du mannitol. On observe des colonies de 1 à 2 mm de diamètre produisant parfois un pigment jaune et constituées de cocci à Gram (+) en amas, catalase (+).

Sur les colonies suspectes, on a recherché la Staphylocoagulase. Au laboratoire, la détection de la coagulase a été effectuée en mettant en présence du plasma humain hépariné et la souche à étudier dans un tube à 37°C ; la prise en masse du mélange est réalisée en 3 à 6 ou parfois en 24 heures ; la coagulation peut être suivie d'une dissolution du caillot par suite de l'action de la staphylokinase. (64)

##### IV.2.2.3. Recherche des *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif aérobies stricts, oxydase positif, mobiles, produisant souvent des pigments diffusibles et se développant à 37°C sur un milieu sélectif au Cétrimide en donnant lieu à une fluorescence sous une lampe à ultraviolets en 48 h. Ils sont de

plus capables de cultiver sur une gélose ordinaire à 42 °C et de synthétiser un pigment : la pyocyanine. (68)

0.1 ml de chaque échantillon d'eau sont déposés à la surface du milieu gélosé au cétrimide coulé en boîte de pétri. L'inoculum est ensemencé par la technique des stries en cadran. (68)

Les boîtes de Pétri sont ensuite mises dans l'étuve couverte en bas pour une incubation de 48 heures à 37°C.

### **IV.2.2.3.1. Biodiversité morphologique des isolats**

On considère comme colonie caractéristique toute colonie verte avec une fluorescence sous rayonnement ultraviolet. Pour l'identification l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* on procède à une subculture des colonies caractéristiques sur gélose nutritive à 42°C pendant 24 h. On considère comme positive la présence d'une culture après incubation. (68)

Sur les colonies positives on a pratiqué une coloration de gram selon le même protocole que celui décrit précédemment pour les entérobactéries.

### **IV.2.2.3.2. Mise en évidence de la production de la pyocyanine**

On ensemence un milieu de King A en tube inclinée par une strie médiane en surface avec une anse de la même culture que précédemment. On incube à 30°C pendant 1 à 4 jours jusqu'à l'apparition dans le milieu d'une coloration bleu-vert due à la diffusion de la pyocyanine. S'il n'y a pas d'apparition de cette couleur, on considère ce test comme négatif. (68)

### **IV.2.2.3.3. Identification biochimique classique**

Les bactéries vertes fluorescentes apparues sur gélose nutritive sont identifiées par la recherche de différentes caractéristiques biochimiques en utilisant des mini galeries classiques selon le même protocole que celui décrit précédemment pour les entérobactéries.

### **IV.2.2.4. Recherche des levures et des moisissures**

Les mycètes présentent une grande diversité, certains étant unicellulaires (les levures) tandis que la plupart sont pluricellulaires. Tous sont eucaryotes et hétérotrophes, se nourrissant par nécrotrophie (matière organique inerte), biotrophie (parasitisme, comme les mycoses), ou symbiose (comme les lichens).

Une goutte de chaque échantillon d'eau est déposée sur la gélose Sabouraud au chloramphénicol pré-coulée en boîte de pétri, l'ensemencement se fait par la technique des stries en cadrans. Les boîtes sont par la suite incubées en aérobie à une température de 37°C, pendant 24 heures.

### **IV.2.2.4.1. Biodiversité morphologique des isolats**

La gélose Sabouraud au chloramphénicol est recommandée pour l'isolement des levures et des moisissures, saprophytes ou pathogènes. Elle est recommandée essentiellement pour l'isolement des moisissures dans les prélèvements peu chargés en bactéries, la culture des moisissures en vue de réaliser leur identification. Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + chloramphénicol. Un résultat positif est caractérisé par l'apparition des colonies blanches bombées.

### V. Détermination des profils de résistance aux antibiotiques

Le profil de résistance des souches bactériennes identifiées a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton. Des antibiotiques communément utilisés en thérapie humaine ont été retenus.

#### V.1. L'antibiogramme

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose.

L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration décroissante. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

Le mode opératoire (**Figure 12**) est pratiqué selon la Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS de manière similaire pour les bactéries non exigeantes : *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sp.* Une fois la période d'incubation écoulée, la zone entourant le disque où aucune croissance bactérienne n'est visible détermine la zone d'inhibition. Son diamètre est mesuré et comparé aux diamètres critiques figurant dans les tables de lecture. La souche est ainsi classée sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique, les souches I sont ensuite incluses dans la catégorie R. Des souches de référence *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ont servi pour le contrôle de la qualité de l'antibiogramme.

La liste d'antibiotiques testés pour chaque espèce identifiée est présentée en **Annexes (02, 03, 04)**

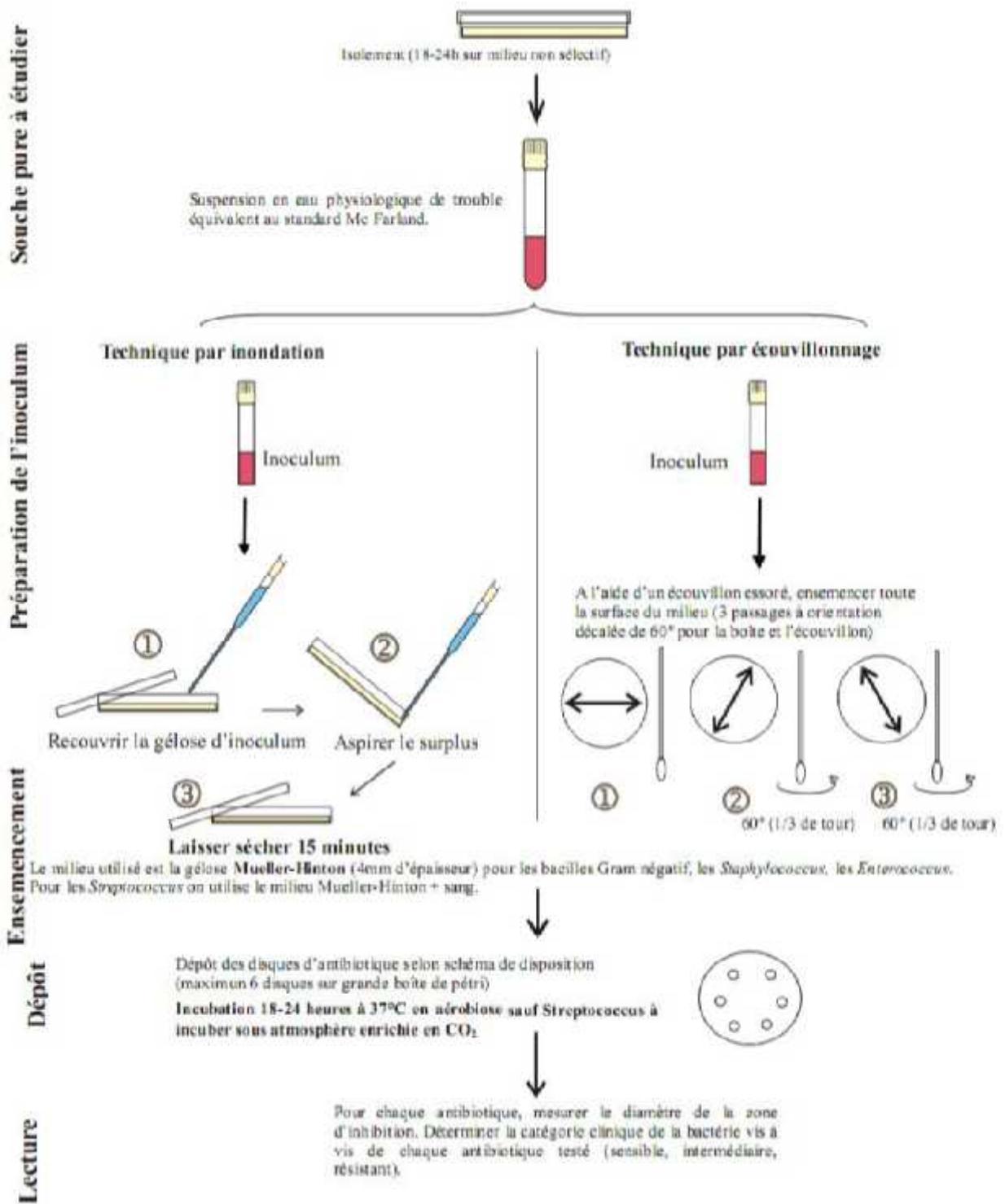


Figure 12 : Protocole de réalisation d'un antibiogramme

A red scroll graphic with a white background, featuring a dark red border and a dark red shadow. The scroll is unrolled, with the top edge curved upwards and the bottom edge curved downwards. The text is centered on the white background of the scroll.

*Résultats  
et discussion*

Au cours de la période de notre étude, nous avons effectué 02 prélèvements à partir du site 1 c'est-à-dire des échantillons de dialysat pré membrane, et 09 prélèvements à partir du site 2 c'est-à-dire des échantillons de dialysat post membrane. Ces prélèvements ont fait l'objet d'une analyse microbiologique pour la recherche des germes de contamination et les germes pathogènes.

L'étude est réalisée au niveau du laboratoire de Bactériologie de L'EPH Ahmed Ben Bella wilaya de Khenchela et au niveau des laboratoires pédagogiques de l'université Abbes Laghrour Khenchela.

L'analyse des résultats a été effectuée par le logiciel Excel 2010. Les variables quantitatives ont été exprimées en effectif et en pourcentage et représentées par des graphiques.

### I. Résultats descriptifs

#### I.1. Répartition selon le type de dialyse

La consultation des dossiers médicaux et l'entretien avec les patients montrent que tous les patients ont choisi l'hémodialyse comme traitement de suppléance de l'insuffisance rénale.

**Tableau VII:** Répartition de la population étudiée selon le type de dialyse

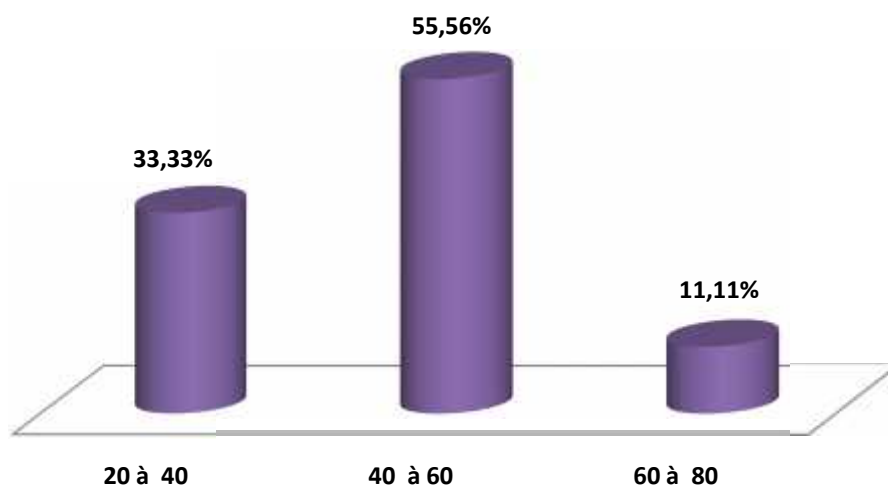
| Type de dialyse     | Nombre   | Fréquence   |
|---------------------|----------|-------------|
| Hémodialyse         | 9        | 100 %       |
| Dialyse péritonéale | 0        | 0%          |
| <b>Total</b>        | <b>9</b> | <b>100%</b> |

#### I.2. Répartition selon l'âge

La répartition des cas en classes d'âge est représentée dans la **Figure 13**, l'âge de notre population d'étude s'échelonnait de 20 à 62 ans

**Tableau VIII:** Répartition de la population étudiée selon l'Age.

| Age          | Nombre   | Fréquence   |
|--------------|----------|-------------|
| 20 à 40      | 3        | 33,33%      |
| 40 à 60      | 5        | 55,56%      |
| 60 à 80      | 1        | 11,11%      |
| <b>Total</b> | <b>9</b> | <b>100%</b> |



**Figure 13:** Répartition des patients selon l'âge.

L'âge dans notre échantillon était de 20 à 80 ans; la tranche d'âge la plus touchée varie de 40 à 60 ans, les patients âgés de moins de 40 ans représentaient **33,33%** des cas (n=3), la tranche d'âge de plus de 60 ans ne représentait que **11,11%** (n= 1) des cas. Les patients insuffisants rénaux chroniques africains sont des adultes jeunes avec un âge moyen moins de cinquantaine dans d'autres études africaines.(70) Le jeune âge des patients en Afrique est le reflet de la jeunesse de la population africaine. Ces constatations se rapprochent à celle d'une étude sur l'épidémiologie de la maladie rénale chronique réalisée au Congo ; cette étude avait retrouvé un âge médian de 47 ans et avait noté une faible prévalence avant 40 ans.(71) Les résultats d'une étude réalisée en France en 2008 avaient retrouvé une incidence de l'insuffisance rénale chronique à 12,6% entre 40 et 60 ans (72) la même étude avait révélé que cette incidence atteignait 39,4% au-delà de 60 ans.

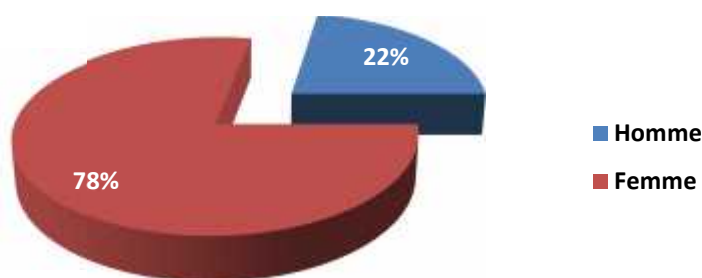
### I.3. Répartition selon le sexe

Les résultats de la répartition des cas selon leur sexe sont représentés dans **la Figure 14** et qui montrent que **77,77%** des patients (7) sont des femmes alors que **22,23%** des patients (02) sont des hommes. On remarque donc une prédominance du sexe féminin.

**Tableau IX:** Répartition de la population étudiée selon le sexe.

| Sexe  | Nombre | Fréquence |
|-------|--------|-----------|
| Homme | 2      | 22,23%    |
| Femme | 7      | 77,77%    |
| Total | 9      | 100%      |

On a trouvé une prédominance féminine de l'ordre de 77,77% par rapport au total des patients dialysés. Ce résultat ne concorde pas avec la plupart des études qui classe le sexe masculin comme facteur de risque. (73) Ceci est probablement dû au faible nombre des patients colligés, un échantillon de patients plus important est nécessaire pour confirmer ce résultat.



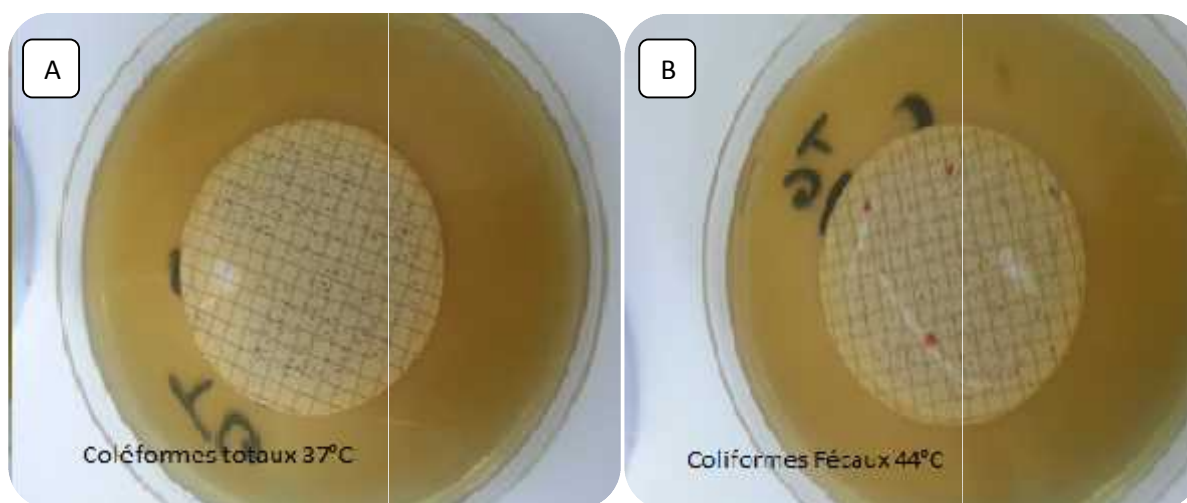
**Figure 14:** Répartition de la population étudiée selon le sexe

## II. Etude bactériologique

### II.1. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale (Site 1)

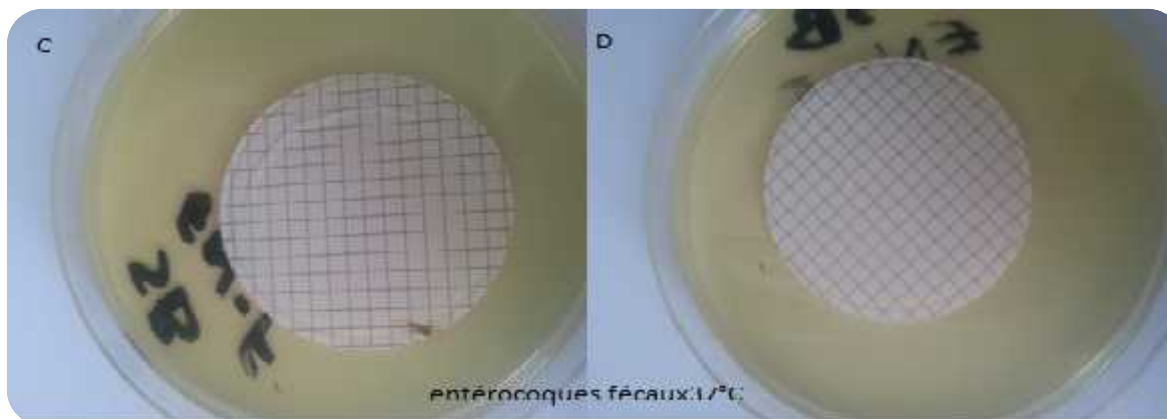
#### II.1.1. Aspect macroscopique des isolats

Les photographies 05 A et 05 B montrent les résultats du dénombrement des coliformes totaux et fécaux, on remarque l'apparition de colonies à la surface des membranes filtrantes, seules les colonies ayant une coloration jaune à orange, avec présence d'un halo jaune ont été dénombrées.



**Photographie 05:** Résultat du dénombrement Les coliformes totaux A et Les coliformes fécaux B

Les colonies apparues sont indénombrables et donc supérieur aux standards de la pharmacopée Européenne qui précise un nombre  $< 100$  CFU/mL pour l'eau de dialyse (entrée de la machine) et de l'American association for the advancement of Medical Instrumentation (AAMI) qui précise un nombre  $< 200$  CFU/m. Notre échantillon montre un niveau de contamination élevé.



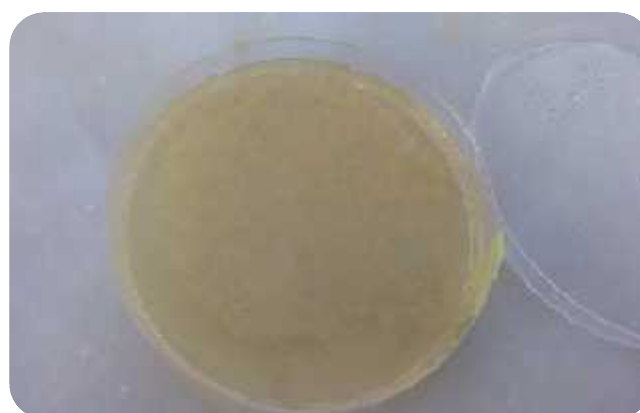
**Photographie 06 :** Résultat du dénombrement des Entérocoques Fécaux

La photographie 06 montre les résultats du dénombrement des Entérocoques fécaux, on remarque une absence de colonies à la surface de la membrane et donc une absence d'une contamination par les Entérocoques fécaux.

## II.2. Analyse bactériologique des échantillons du Site 2

### II.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries viables aérobies

La recherche et le dénombrement des bactéries viables aérobies à  $37^{\circ}\text{C}$  à partir de liquide d'hémodialyse post-membranaire a donné un nombre de colonies supérieur à 300 UFC et montre un niveau de pollution du liquide très élevé.



**Photographie 07 :** Résultats du dénombrement des bactéries viables aérobies

### II.2.2. Recherche des germes pathogènes

### II.2.2.1. Isolement des Entérobactéries

#### II.2.2.1.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose Hektoen

Après incubation, on a remarqué l'apparition de plusieurs types de colonies à la surface des milieuxensemencés. **La photographie 08** montre le résultat de l'isolement des échantillons de liquide post-membranaire sur la gélose Hektoen, on remarque qu'après incubation, il y a apparition de deux types de colonies à la surface du milieu. De Petites colonies saumon, rondes, lisses, à bords réguliers, bombées, brillantes et de grandes colonies saumon irrégulières, lisses, brillantes, muqueuse. Une purification des deux types de colonies a été effectuée en plus d'une coloration de Gram.



**Photographie 08** : Aspect macroscopique des souches des Entérobactéries sur gélose Hektoen

Les résultats de l'étude des différents caractères macroscopiques et microscopiques des colonies sont représentés dans le **Tableau X**.

**Tableau X**: Observation des caractères cultureux et morphologique des bactéries isolées sur gélose Hektoen.

| Milieu de culture | Caractères cultureux   | Caractères microscopiques |
|-------------------|--|---------------------------|
| Gélose Hektoen    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Petites colonies saumon, rondes, lisses, A bords réguliers, bombées, brillantes.</li> <li>- Grandes colonies muqueuse saumon irrégulières, brillantes, lisses.</li> </ul> |                           |

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries à partir de différents prélèvements. Son utilisation est basée sur les principes suivants :

- L'inhibition de la flore à Gram positif est due à la présence des sels biliaires qui peuvent également inhiber légèrement la croissance de quelques souches de microorganismes à Gram négatif.
- Le milieu contient trois glucides : lactose, saccharose et salicine. La forte concentration en lactose favorise la visualisation des entérobactéries en évitant le problème des fermentations tardives. Les autres glucides ont été introduits afin d'assurer une différenciation plus performante et de réduire la toxicité engendrée par les indicateurs colorés.
- En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène réduisent le citrate ferrique ammoniacal et se manifestent par un noircissement dû à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies.
- Le système d'indicateurs colorés, composé de bleu de bromothymol et de fuchsine acide permet de colorer en saumon les entérobactéries lactose-positif et en bleu vert les lactose négatif.

Le principe de lecture est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine). Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur "saumon", les autres donnant des colonies bleues ou vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir.(74)

On peut dire que les colonies saumon apparues à la surface du milieu sont lactose positif

L'observation microscopique des lames colorées par la technique de Gram, montre des bacilles isolées ou en courtes chainettes colorés en rose. Les colonies apparues à la surface de la gélose sont donc issues de bacilles Gram négatif, ceci concorde avec le caractère de la gélose Hektoen qui est un milieu sélectif pour les bacilles Gram négatif.

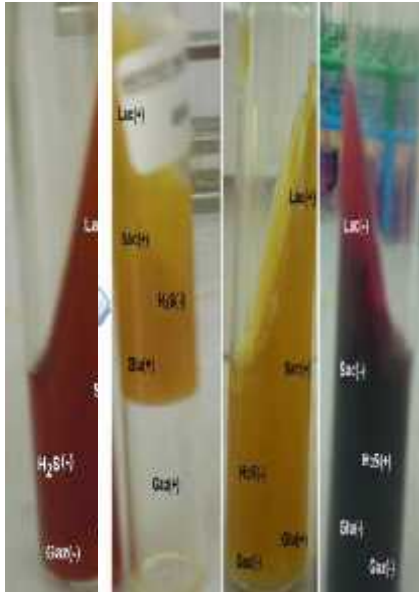



### II.2.2.1.2. Identification biochimique sur galeries classique





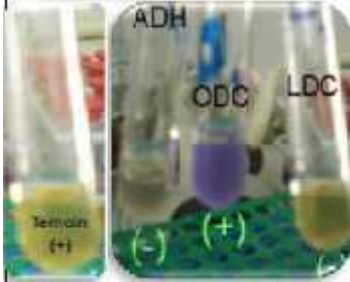
Au total nous avons purifié 10 colonies par repiquages successifs sur gélose Héktoen. On a procédé ensuite à une identification biochimique sur galerie classique.

Grace aux tests biochimiques, il est possible de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries analysées. Plusieurs résultats ont été obtenus après ajout des additifs, ce qui nous renseigne sur la voie d'attaque des glucides, la présence d'enzymes respiratoires, les voies fermentatives et le métabolisme des acides aminés. (75)

Les résultats obtenus avec photographies sont représentés dans **le tableau XI**, en se basant sur le tableau de lecture (**Annexe 10**), on a pu identifier 04 espèces bactériennes.

Tableau XI: Résultats biochimiques obtenus après lecture de la galerie classique.

| Les milieux                                | Photographie des résultats  | Interprétation des résultats   |
|--|---|--|
| <p><b>Triple Sugar Iron agar (TSI)</b></p> |    | <p>C'est un milieu au niveau duquel nous avons recherché 5 caractères :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- la fermentation du lactose sur la pente qui se traduit par virage au jaune.</li> <li>- la fermentation du saccharose également qui se matérialise par virage au jaune.</li> <li>- la fermentation du glucose : culot jaune.</li> <li>- la production de H<sub>2</sub>S qui se traduit par unecoloration noire.</li> <li>- la présence de gaz qui se matérialise par ledécollement du culot et/ou la présence debulles d'air.</li> </ul> |
| <p><b>Utilisation du citrate</b></p>       |   | <p>L'utilisation du citrate comme seule source de carbone entraîne une alcalinisation du milieu, d'où le virage du vert au bleu.</p>   |
| <p><b>Le milieu Mannitol mobilité</b></p>  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- La fermentation du mannitol entraîne le virage du milieu au jaune.</li> <li>- Les souches mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu, tandis que les souches immobiles croissent uniquement le long de la strie d'ensemencement.</li> </ul>  |
| <p><b>Production d'uréase</b></p>          |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Le virage de l'indicateur de pH au rouge violacé en raison de l'alcalinisation du milieu, indique l'utilisation de l'urée par les bactéries.</li> <li>- Le milieu garde sa couleur d'origine si la bactérie est Uréase négative</li> </ul>  |

|   |   |   |
|---|---|---|
| <p><b>Test d'indole et tryptophane désaminase (TDA)</b></p> |    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- la formation d'un anneau brunâtre (couleur du réactif) signifie que la bactérie est indole négatif,</li> <li>- La formation d'un anneau rouge après addition du réactif de Kovacs indique une bactérie indole positif.</li> </ul>  |
| <p><b>Recherche du nitrate réductase</b></p>                |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- L'apparition d'une coloration rose ou rouge traduit une réaction positive (réduction des nitrates en nitrites)</li> <li>- La couleur jaune : réaction négative.</li> </ul>   |
| <p><b>Etude des voies fermentatives intermédiaires</b></p>  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- RM positif l'acidification du milieu par la fermentation du glucose donne la couleur rouge</li> <li>- RM négatif le milieu reste incolore donc aucune réaction de fermentation</li> </ul>  |
| <p><b>Production de décarboxylases</b></p>                  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Coloration jaunâtre : VP négatif.</li> <li>- Coloration rouge : VP positif se traduit par la synthèse de l'acétoine (acétyl-méthylecarbinol) par les bactéries, qui est un métabolite spécifique intermédiaire de la fermentation butandiolique</li> </ul>   |
| <p><b>Production de décarboxylases</b></p>                  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Apparition d'une coloration jaune : réaction positive pour témoin : la fermentation de glucose.</li> <li>- Apparition d'une coloration jaune: réaction négative pour les enzymes.</li> <li>- Apparition d'une coloration pourpre : réaction positive qui signifie la présence des enzymes décarboxylases.</li> </ul> |

**Tableau XII:** Les espèces bactériennes identifiées par galerie biochimique classique.

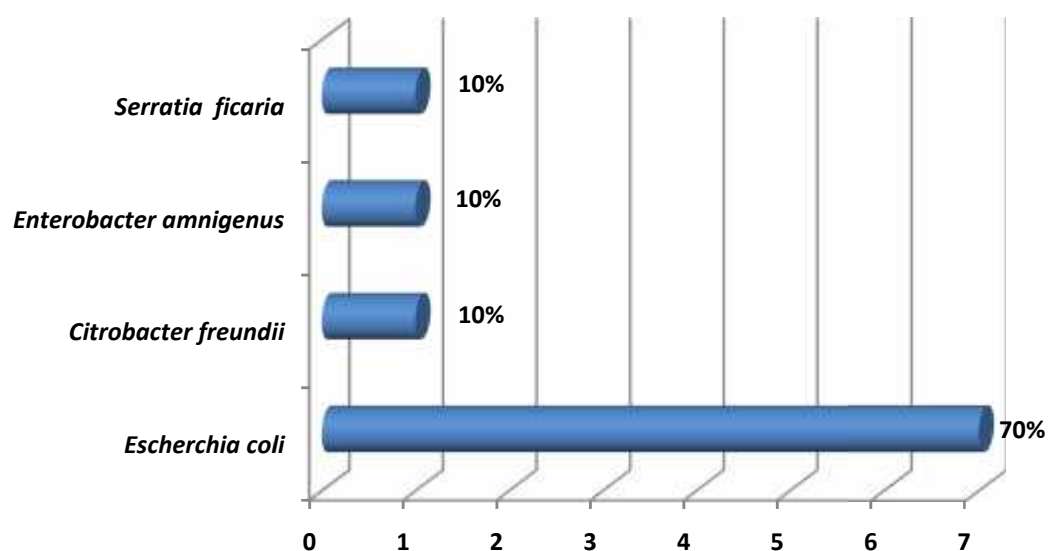
| Test /bact      | 01                      | 02            | 03                            | 04            | 05            | 06            | 07            | 08            | 09                          | 10            |
|-----------------|-------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| ADH             | -                       | -             | -                             | -             | -             | -             | -             | -             | -                           | -             |
| LDC             | -                       | -             | -                             | -             | -             | -             | -             | -             | -                           | -             |
| ODC             | -                       | +             | +                             | +             | +             | +             | +             | +             | -                           | +             |
| CIT             | +                       | -             | -                             | -             | -             | -             | -             | -             | +                           | -             |
| H2S             | -                       | -             | -                             | -             | -             | -             | -             | -             | -                           | -             |
| URE             | -                       | -             | -                             | -             | -             | -             | -             | -             | -                           | -             |
| TDA             | -                       | -             | -                             | -             | -             | -             | -             | -             | -                           | -             |
| IND             | -                       | +             | -                             | +             | +             | +             | +             | +             | -                           | +             |
| VP              | -                       | -             | +                             | -             | -             | -             | -             | -             | -                           | -             |
| RM              | +                       | +             | -                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| LAC             | +                       | +             | +                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| GLU             | +                       | +             | +                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| SAC             | +                       | +             | +                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| GAZ             | +                       | +             | -                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| MAN             | +                       | +             | +                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| MOB             | +                       | +             | +                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| NO <sub>2</sub> | +                       | +             | +                             | +             | +             | +             | +             | +             | +                           | +             |
| Espèce          | <i>Serratia fecaria</i> | <i>E.coli</i> | <i>Enterobacter amnigenus</i> | <i>E.coli</i> | <i>E.coli</i> | <i>E.coli</i> | <i>E.coli</i> | <i>E.coli</i> | <i>Citrobacter Freundii</i> | <i>E.coli</i> |

(+):Caractère positif

(-) : Caractère négatif

10 colonies d'entérobactéries ont été identifiées à partir de site d'étude 2. En utilisant le tableau de lecture et le logiciel Excel (**Annexe 10**) des mini galeries, on a pu identifier quatre espèces bactériennes différentes dont l'aspect figure sur le **Tableau XII**. Il s'agit de : *Escherichia coli*, *Enterobacter amnigenus*, *Serratia fecaria*, *Citrobacter Freundii*.

Le pourcentage de bactéries de chaque espèce retrouvée est représenté dans la **figure 15**

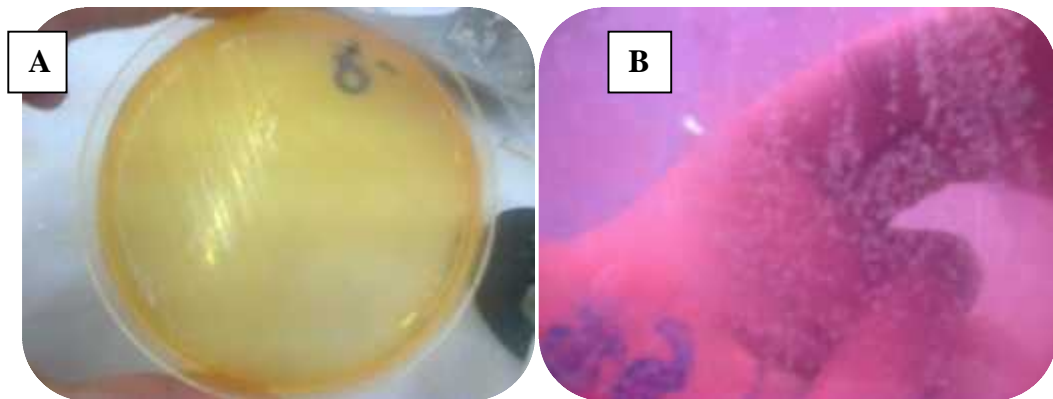


**Figure 15:** Pourcentage d'espèces bactériennes identifiées à partir des Entérobactéries

### II.2.2.2. Isolement des Staphylocoques

#### II.2.2.2.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose Chapman

Sur le milieu Chapman, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté (**Photographie 09A**), dans le cas contraire, les colonies sont non pigmentées, de couleur blanche (**Photographie 09B**). Ces colonies sont brillantes, crémeuses, arrondies à bords réguliers de 1 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C.



**Photographie 09:** Aspect macroscopique des colonies sur milieu Chapman.

Une coloration de Gram a été pratiquée sur quelques colonies, l'observation des frottiscolorés au microscope optique à l'objectif à l'immersion (G x 100) met en évidence des Cocci sphériques, en grappe de raisin, colorés en violet.



**Photographies 10 :** Résultats de la coloration de Gram.

Un test catalase a été pratiqué sur quelques colonies, l'apparition d'un dégagement de bulles met en évidence un test catalase positif.



**Photographie 11** : Résultat du test catalase.

Le Test de coagulase permet la recherche de la coagulase, exoenzyme capable in vitro de coaguler le plasma oxalaté de lapin. Parmi les Cocci Gram +, catalase +, seules les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma oxalaté.

Les cocci à Gram positif, catalase positive, testés pour la production d'une coagulase, présentent un phénotype à coagulase négative : Autres espèces de staphylocoques (**Photographie 12**).



**Photographie 12** : Résultat du test de coagulase libre.

**Coagulase positive** : Il y a formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) a donc été transformé en fibrine (insoluble) la bactérie possède donc une coagulase libre. Elle est dite coagulase libre (+) ou encore coagulase(+).

**Coagulase négative** : Il n'y a pas de formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) n'a donc pas été transformé en fibrine (insoluble) la bactérie ne possède donc pas de coagulase libre. Elle est dite coagulase libre (-) ou encore coagulase (-).

A partir des résultats obtenus et résumés dans le **Tableau XIII**, On peut conclure que notre espèce est *Staphylococcus epidermidis*, les colonies appartenant à cette espèce ont été retenues pour connaître leur profil de résistance aux antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.

**Tableau XIII** : Biodiversité métabolique des isolats sur gélose Chapman

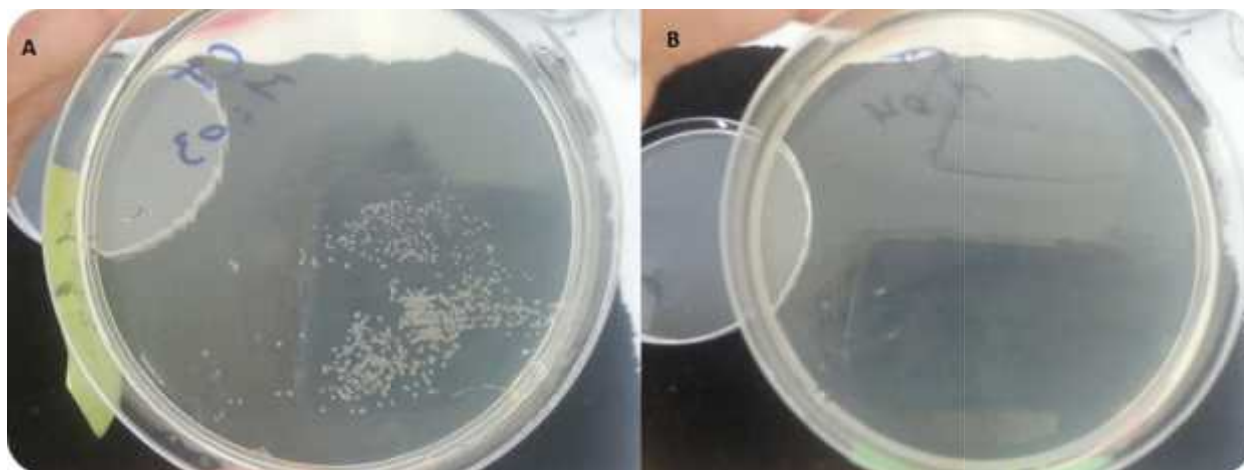
|                     | Malade 1                           |      | Malade 2 |      | Malade 3 |      | Malade 4 |      | Malade 5 |      |
|---------------------|------------------------------------|------|----------|------|----------|------|----------|------|----------|------|
|                     | Man+                               | Man- | Man+     | Man- | Man+     | Man- | Man+     | Man- | Man+     | Man- |
| <b>Culture + /-</b> | +                                  | -    | +        | +    | +        | -    | -        | -    | +        | +    |
| <b>Coagulase</b>    | -                                  | -    | -        | -    | -        | -    | -        | -    | -        | -    |
| <b>Catalase</b>     | +                                  | +    | +        | +    | +        | +    | +        | +    | +        | +    |
| <b>Espèce</b>       | <i>Staphylococcus epidermidis,</i> |      |          |      |          |      |          |      |          |      |

### II.2.2.3. Recherche des Pseudomonas

#### II.2.2.3.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose citrimide

Une fois la période d'incubation écoulée, des colonies sont apparues à la surface de la gélose au Cétrimide, seules celles qui sont rondes, petites, convexes, lisses et de couleur vert pâle avec une odeur aromatique de la fleur de seringa (jasmin) ont été prises en considération.

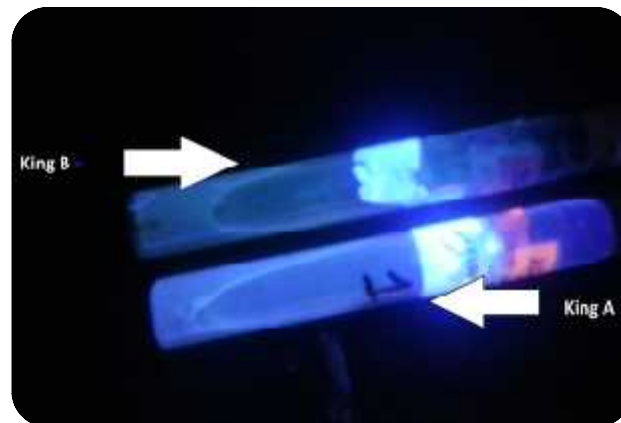
Les résultats obtenus figurent sur la **photographie 13**. Les colonies apparues sur gélose au cétrimide sont rondes, petites, convexes, lisses de couleur vert pâle avec une odeur aromatique de la fleur de seringa (jasmin).



**Photographie 13 :** Observation des caractères cultureux et morphologique des *Pseudomonas sp* sur gélose cétrimide. A : culture positif des Pseudomonas B : culture Négatif

Quatre colonies caractéristiques ont été reprises de manière aléatoire et ont fait l'objet d'un test de confirmation sur gélose nutritive et d'un test de mise en évidence de pigments spécifiques aux espèces du genre *Pseudomonas* sur gélose King A et King B. Après la période

d'incubation les milieux de culture sont observés sous lampe ultraviolette (UV), les résultats obtenus sont représentés sur la **photographie 14**.



**Photographie 14** : Résultats de test de mise en évidence de pigments spécifiques

On remarque la production d'un pigment diffusible sur gélose nutritive (coloration verte), ce résultat a été positif avec seulement trois des colonies prélevées, les mêmes colonies ont donné un résultat positif sur King A et aussi sur King B (fluorescence observée sous une lampe ultraviolette), elles produisent donc la pyoverdine ainsi que la pyocyanine. De plus, une odeur de la fleur de seringia (jasmin) s'est exhalée des cultures.

La sécrétion de ces deux pigments est caractéristique des bactéries du genre *Pseudomonas*. Ces observations ont fortement orienté le diagnostic et l'identification vers l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* ; seule capable de produire ces deux pigments, les autres *Pseudomonas* synthétisent seulement la pyoverdine. (76)(77)

Une coloration de Gram a été pratiquée sur quelques colonies, l'observation des frottis colorés au microscope optique à l'objectif à l'immersion (G x 100) ont révélé de petits bâtonnets de coloration rose, ils appartiennent donc à la classe des Gram négatif (**Photographie 15**).



**Photographie 15** : Résultats de la coloration de Gram

### II.2.2.3.2. Identification biochimiques classiques des isolats

Pour chaque colonie on a procédé à une identification biochimique sur galerie classique. Grâce aux tests biochimiques, il est possible de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries analysées. Plusieurs résultats ont été obtenus après ajout des additifs, ce qui nous renseigne sur la voie d'attaque des glucides, la présence d'enzymes respiratoires, les voies fermentatives et le métabolisme des acides aminés. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau V, en se basant sur le tableau de lecture (Annexe 10), on a pu identifier 01 seule espèce bactérienne.

**Tableau XIV :** Résultats des tests biochimiques des différentes espèces isolées.

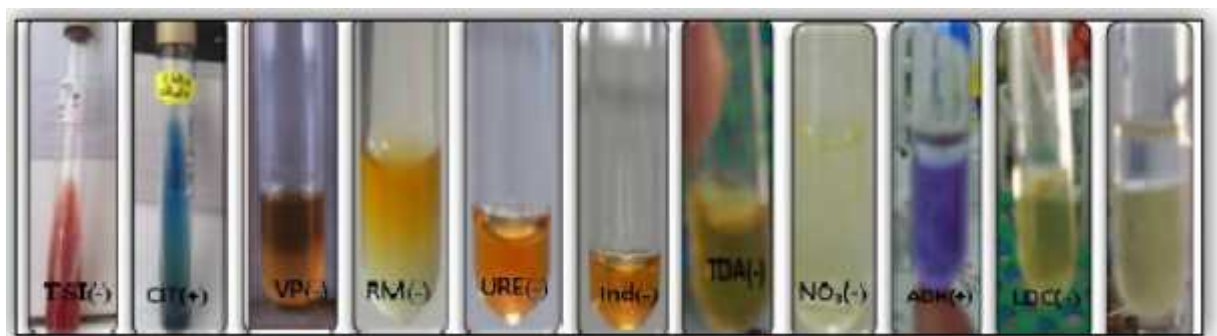
| Tests                                 |                             | Malade 1              | Malade 2 | Malade 3 | Malade 4 |   |
|---------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------|----------|----------|---|
| <b>Culture</b>                        |                             | +                     | +        | +        | /        |   |
| <b>Nitrate réductase</b>              |                             | +                     | +        | +        | /        |   |
| <b>Métabolisme glucidique</b>         | <b>Milieu TSI</b>           | <b>Glu</b>            | -        | -        | -        | / |
|                                       |                             | <b>Lac/Sac</b>        | -        | -        | -        | / |
|                                       |                             | <b>H<sub>2</sub>S</b> | -        | -        | -        | / |
|                                       |                             | <b>Gaz</b>            | -        | -        | -        | / |
|                                       | <b>Citrate de Simmons</b>   |                       | +        | +        | +        | / |
|                                       | <b>Milieu Clark et Lubs</b> | <b>VP</b>             | -        | -        | -        | / |
|                                       |                             | <b>RM</b>             | -        | -        | -        | / |
| <b>Métabolisme protéique</b>          | <b>Milieu Moeller</b>       | <b>ADH</b>            | +        | +        | +        | / |
|                                       |                             | <b>LDC</b>            | --       | -        | -        | / |
|                                       |                             | <b>ODC</b>            | -        | -        | -        | / |
|                                       | <b>Milieu Urée</b>          | <b>Uréase</b>         | -        | -        | -        | / |
|                                       |                             | <b>TDA</b>            | -        | -        | -        | / |
|                                       | <b>Indole</b>               | <b>Indole</b>         | -        | -        | -        | / |
| <b>Isolement sur gélose nutritive</b> |                             | +                     | +        | +        | /        |   |
| <b>King A</b>                         |                             | +                     | +        | +        | /        |   |
| <b>King B</b>                         |                             | +                     | +        | +        | /        |   |
| <b>Oxydase</b>                        |                             | +                     | +        | +        | /        |   |

La photographie 16 montre les résultats de l'identification biochimique. Il s'agit d'un bacille Gram négatif. La lecture du milieu TSI a révélé qu'elle est : glucose négatif, lactose négatif, saccharose négatif, gaz négatif et H<sub>2</sub>S négatif.

Elle peut utiliser le citrate de sodium comme source de carbone. Elle a un métabolisme glucidique non fermentatif, une uréase négative, indole négatif et ADH positive.

Elle produit un pigment diffusible sur gélose nutritive (coloration verte). Cette souche présente une réaction positive avec le King B et avec le King A, elle produit donc la pyoverdine ainsi que la pyocyanine.

Le profil biochimique obtenu permet l'identification de la souche comme étant *Pseudomonas aeruginosa*. La souche est selon le résultat du King A et King B une *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanine+ pyoverdine+.



**Photographie 16 :** les résultats de l'identification biochimique des *pseudomonas* sp

### II.2.2.4. Recherche des levures et des moisissures

#### II.2.2.4.1. Biodiversité morphologique des isolats sur gélose Sabouraud + chloramphénicol

Le résultat de la Recherche des levures et des moisissures sur gélose Sabouraud + chloramphénicol est représenté sur la **Photographie 17**. On remarque l'apparition de plusieurs colonies blanchâtres de taille variable, un examen à l'état frais a montré qu'il s'agit d'espèces bactériennes. Ce ne sont donc ni des levures ni des moisissures

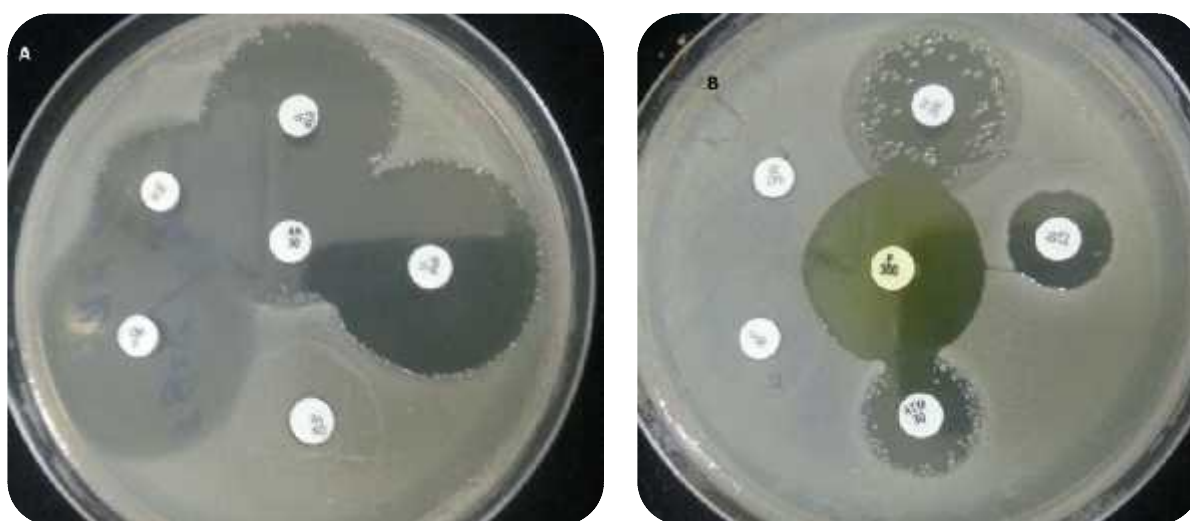


**Photographie 17:** Résultats de la recherche des levures et des moisissures sur gélose Sabouraud chloramphénicol

### III. Résultats de l'antibiogramme

#### III.1. Résultats de l'antibiorésistance des Entérobactéries

Le profil de résistance a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton. Des antibiotiques communément utilisés en thérapie humaine ont été retenus. La résistance aux antibiotiques a été testée pour les souches bactériennes appartenant à des espèces des entérobactéries vis-à-vis de 19 antibiotiques. Les résistances naturelles des souches isolées n'ont pas été prises en considération. **La photographie 18** montre les antibiogrammes obtenus, les valeurs des diamètres d'inhibitions sont comparées aux valeurs du tableau de lecture. **(Annexes11)**



**Photographie 18** : Résultats des antibiogrammes des espèces identifiées.

Les valeurs obtenues nous ont permis de classer les bactéries en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à chaque antibiotique.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau **(Annexe 12)**

Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés, les espèces Intermédiaires étant ensuite incluses dans la catégorie R. les résultats obtenus sont regroupés dans **le tableau XV.**

Tableau XV: Profil de résistance des Entérobactéries aux Antibiotiques

| Antibiotiques                         | Les Entérobactéries (n=10) |           |               |
|---------------------------------------|----------------------------|-----------|---------------|
|                                       | Sensible                   | Résistant | Intermédiaire |
| Ampicilline AMP                       | 0 0%                       | 10 100%   | 0 0%          |
| Amoxicilline + acide clavulanique AMC | 0 0%                       | 10 100%   | 0 0%          |
| Aztréonam                             | 2 20%                      | 7 70%     | 1 10%         |
| Céfaloine KF                          | 0 0%                       | 10 100%   | 0 0%          |
| Céfazoline KZ                         | 0 0%                       | 10 100%   | 0 0%          |
| Céfoxitine FOX                        | 1 10%                      | 9 90%     | 0 0%          |
| Céfotaxime CTX                        | 1 10%                      | 8 80%     | 1 10%         |
| Céftazidime CAZ                       | 1 10%                      | 9 90%     | 0 0%          |
| Imipénème IPM                         | 10 100%                    | 0 0%      | 0 0%          |
| Ertapénème ETP                        | 9 90%                      | 1 10%     | 0 0%          |
| Amikacine AK                          | 7 70%                      | 1 10%     | 2 20%         |
| Gentamicine CN                        | 2 20%                      | 8 80%     | 0 0%          |
| Acide nalidixique NA                  | 9 90%                      | 1 10%     | 0 0%          |
| Ciprofloxacine CIP                    | 10 100%                    | 0 0%      | 0 0%          |
| Chloramphénicol C                     | 2 20%                      | 7 70%     | 0 0%          |
| Furanes F                             | 10 100%                    | 0 0%      | 0 0%          |
| Cotrimoxazole SXT                     | 2 20%                      | 7 70%     | 1 10%         |
| Fosfomycine FF                        | 6 60%                      | 4 40%     | 0 0%          |
| Colistine CT                          | 10 100%                    | 0 0%      | 0 0%          |

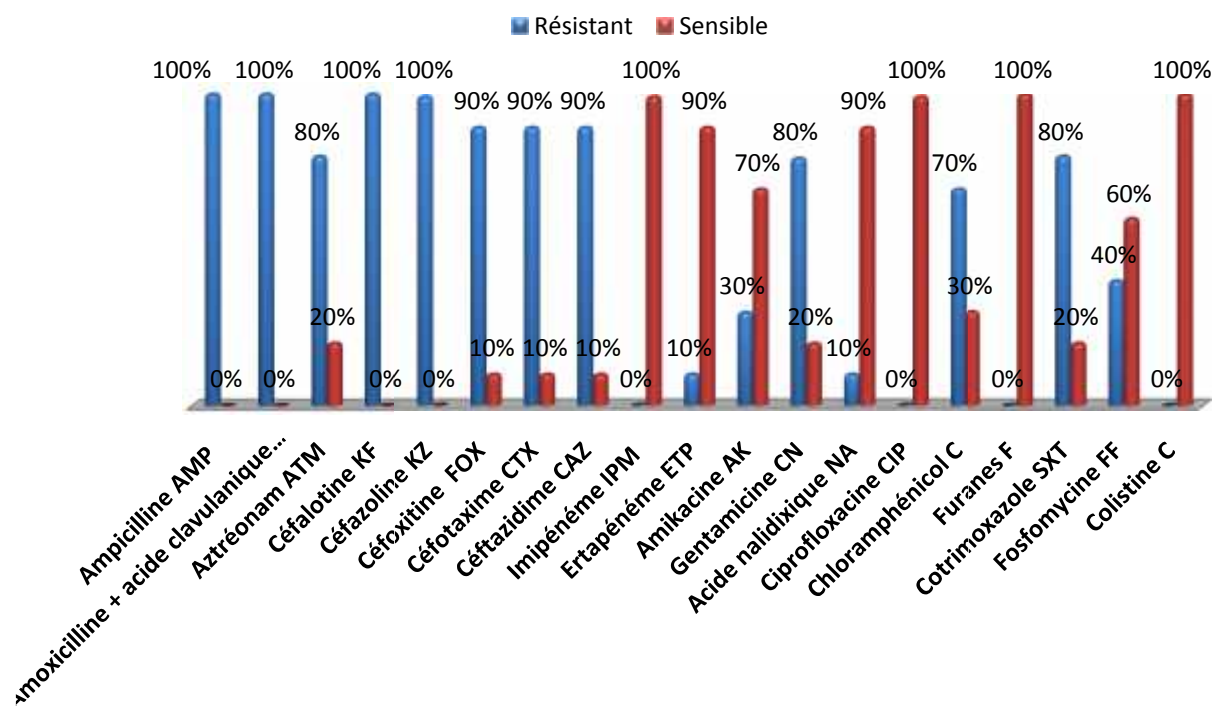


Figure 16 : Pourcentage d'isolats des Entérobactéries résistants à divers antibiotiques.

Les espèces d'entérobactéries sont à 100%, résistantes aux  $\beta$ -lactamines et sont donc des souches BLSE. Les bêtalactamases à Spectre Étendue (BLSE) ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne. Au début des années 1980, les céphalosporines de troisième génération (C3G) ont été commercialisées, mais à la suite de leur sur utilisation pour le traitement de plusieurs infections, des changements relativement mineurs des séquences des gènes originaux ont entraîné une modification significative de l'affinité des enzymes pour le substrat, et il s'est développé un groupe de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. Les BLSE sont plasmidiques donc transférables et sont capables de conférer une résistance bactérienne vis à vis des pénicillines, des céphalosporines de première, deuxième et troisième génération ainsi que l'Aztréonam par hydrolyse de ces antibiotiques. (78) Suite à l'utilisation récente et restreinte de l'imipénème en milieu hospitalier, le taux de résistance à cet antibiotique est nul.

Le taux de résistance 100% trouvé durant notre étude est très élevé par rapport à une étude française qui trouve un taux de résistance de 46 % (79) et à une autre étude Algérienne avec un taux de 53,33 %. (80)

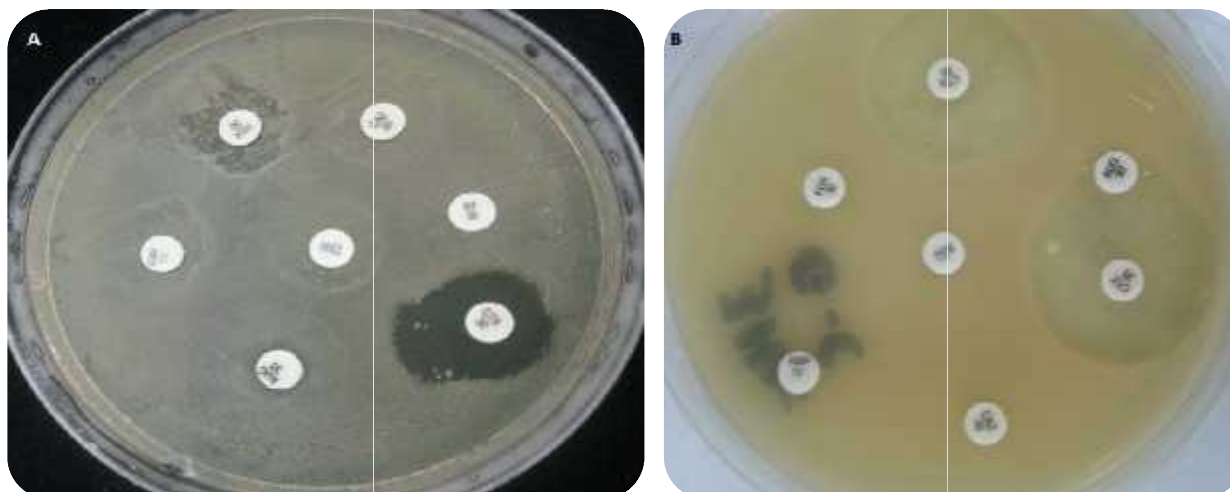
On remarque aussi une résistance aux antibiotiques de la classe des aminosides, 80% pour la Gentamycine (CN), alors 30% pour l'Amikacine. La présence d'un taux de résistance plus élevé envers la gentamicine (aminosides naturels) s'explique par le fait que l'Amikacine est une molécule semi-synthétique spécialement conçue pour contrer le phénomène de résistance des bactéries vis-à-vis des aminosides naturels.

Les résistances aux autres Antibiotiques sont moindres et la colistine est le seule Antibiotique auquel toutes les Entérobactéries dans notre étude sont sensibles.

### III.1.1. La multirésistance des Entérobactéries aux divers antibiotiques

Notre travail a également permis d'étudier le phénomène de multirésistance. Une souche multirésistante est une souche qui présente une résistance à au moins deux antibiotiques. Les pourcentages de souches résistantes à au moins dix antibiotique, à au moins onze antibiotiques, à au moins douze antibiotiques, ont été calculés et rapportés dans **la figure 17**.

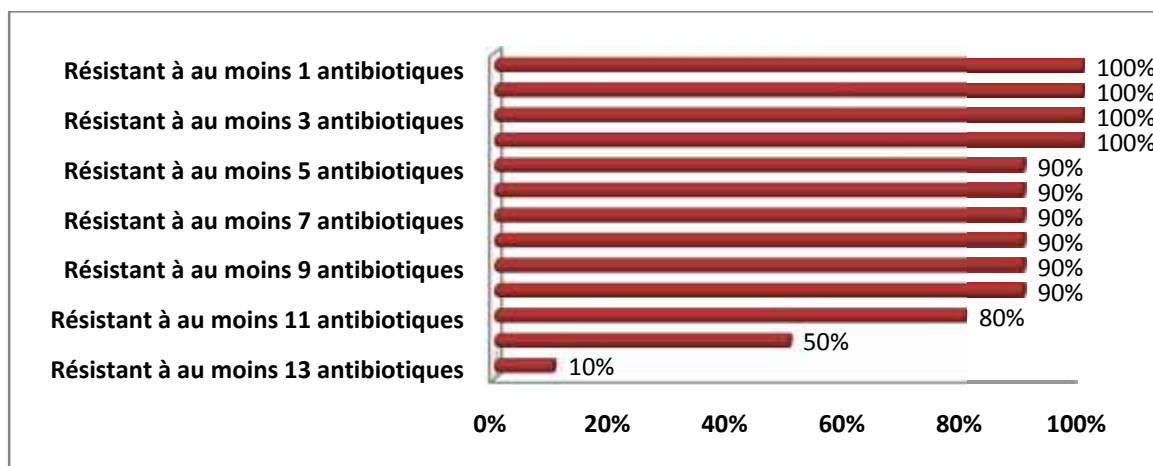
On a pu identifier seulement deux souches bactériennes multirésistantes productrices de **Beta Lactamase à Spectre Étendu (BLSE)**, il s'agit d'*Escherichia coli*.



**Photographie 19 :** souches bactériennes multirésistantes productrices de Beta Lactamase à Spectre Etendu (BLSE)

**Tableau XVI :** La multirésistance des Entérobactéries aux divers antibiotiques

| Multirésistance                       | nombre |
|---------------------------------------|--------|
| Résistant à au moins 1 antibiotiques  | 100%   |
| Résistant à au moins 2 antibiotiques  | 100%   |
| Résistant à au moins 3 antibiotiques  | 100%   |
| Résistant à au moins 4 antibiotiques  | 100%   |
| Résistant à au moins 5 antibiotiques  | 90%    |
| Résistant à au moins 6 antibiotiques  | 90%    |
| Résistant à au moins 7 antibiotiques  | 90%    |
| Résistant à au moins 8 antibiotiques  | 90%    |
| Résistant à au moins 9 antibiotiques  | 90%    |
| Résistant à au moins 10 antibiotiques | 90%    |
| Résistant à au moins 11 antibiotiques | 80%    |
| Résistant à au moins 12 antibiotiques | 50%    |
| Résistant à au moins 13 antibiotiques | 10%    |



**Figure 17 :** La multirésistance des Entérobactéries aux divers antibiotiques

### III.2. Profil de sensibilité des *Staphylococcus sp* aux différents antibiotiques

Les tests d'évaluation de la résistance aux antibiotiques ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques imprégnés d'antibiotiques. L'espèce de *Staphylococcus* a été testée vis-à-vis de 19 antibiotiques couramment utilisés en thérapeutique clinique. Les résultats obtenus figurent sur la Photographie 20.

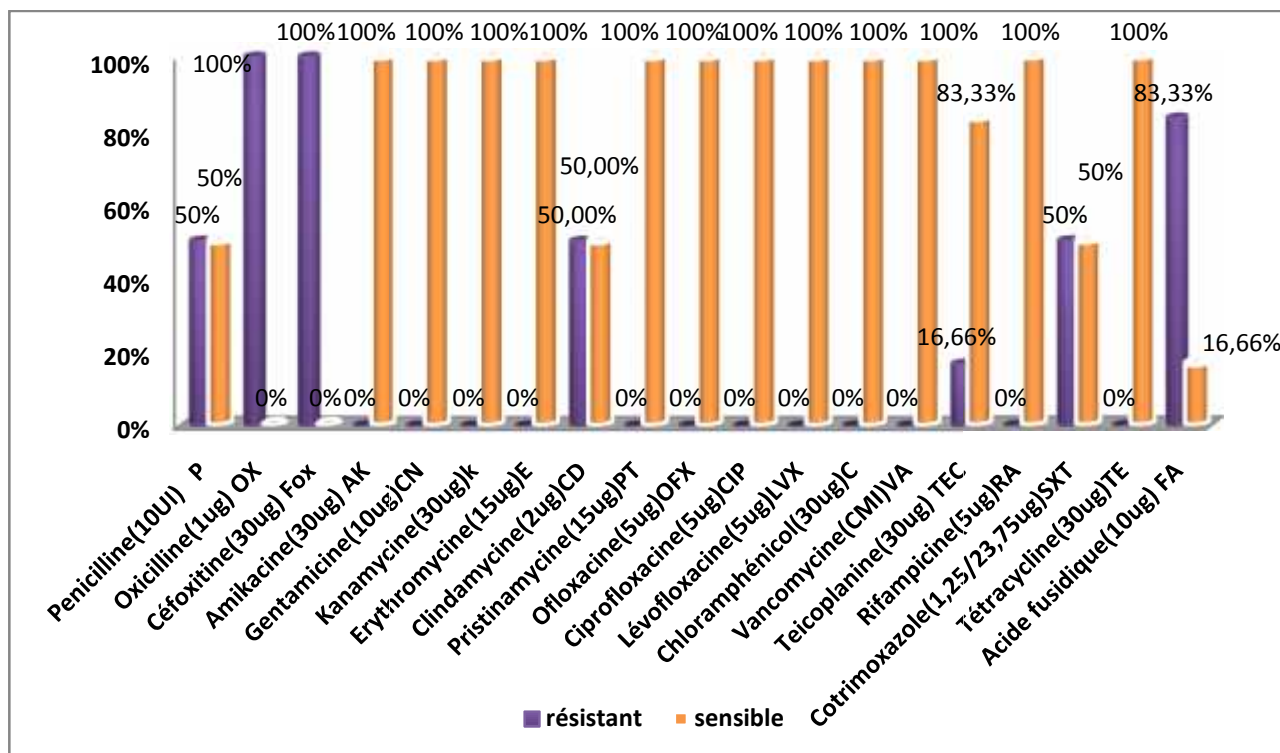


**Photographie 20 :** Résultat d'antibiogramme des *staphylococcus sp* sur gélose Mueller Hinton

Les valeurs obtenues nous ont permis de classer les bactéries en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à chaque antibiotique (**Annexe 11**). Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés, les espèces Intermédiaires sont ensuite incluses dans la catégorie R. (**Tableau XVII**).

**Tableau XVII:** Profil de résistance de *Staphylococcus sp* aux Antibiotiques

| Antibiotiques      | <i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=6) |           |               |
|--------------------|---|-----------|---------------|
|                    | Sensible                                | Résistant | Intermédiaire |
| Pénicilline P      | 3 50%                                   | 3 50%     | 0 0%          |
| Oxacilline OX      | 0 0%                                    | 6 100%    | 0 0%          |
| Céfoxitine FOX     | 0 0%                                    | 6 100%    | 0 0%          |
| Amikacine AK       | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Gentamicine CN     | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Kanamycine         | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Erythromycine E    | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Clinamycine CD     | 3 50%                                   | 0 0%      | 3 50%         |
| Pristinamycine PT  | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Ofloxacine OFX     | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Ciprofloxacine CIP | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Lévofloxacine LVX  | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Chloramphénicol C  | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Vancomycine VA     | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Teicoplanine TEC   | 5 83,33%                                | 0 0%      | 1 16,66%      |
| Rifampicine RA     | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Cotrimoxazole SXT  | 3 50%                                   | 0 0%      | 3 50%         |
| Tétracycline TE    | 6 100%                                  | 0 0%      | 0 0%          |
| Acide fusidique FA | 1 16,66%                                | 5 83,83%  | 0 0%          |



**Figure 18:** Pourcentage d’isolats de *Staphylococcus* résistants à divers antibiotiques.

On observe que les taux de résistance varient nettement d’un antibiotique à l’autre. Les espèces étudiées de *Staphylococcus* ont présenté un taux de résistance de 100% à l’oxacilline et à la Céfoxitine, alors que la résistance à la pénicilline est de 50%, un *Staphylococcus* résistant à toutes les -lactamines doit être considéré comme un SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline). Deux mécanismes expliquent la résistance des staphylocoques aux -lactamines : la production de -lactamases et la modification de cible.

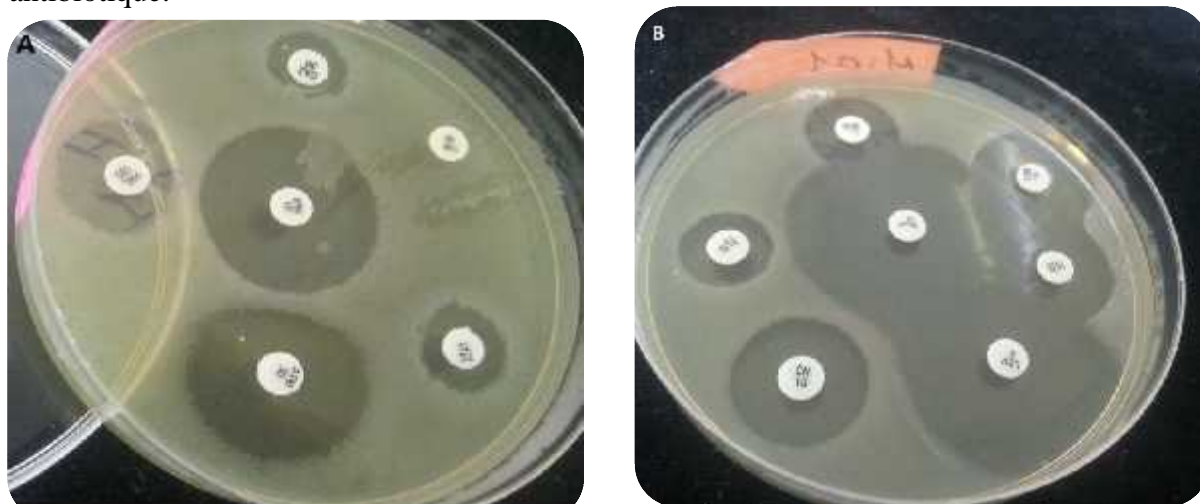
Pour les macrolides l’Erythromycine, la résistance des souches est nulle 0% et on a une sensibilité totale à la Pristinamycine et la vancomycine. L’étude de Solletet *al.*, effectuée en 2002(81) trouve que la vancomycine vient en tête des déclarations d’utilisation parmi les antibiotiques au cours des infections à SARM.

Le taux de résistance obtenu pour les antibiotiques appartenant à la classe des aminosides est nul, la gentamicine, la Kanamycine et l’Amikacine sont actifs sur notre espèce.

### III.3. Résultats de l’antibiorésistance des *Pseudomonas*

Le profil de résistance a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton. Des antibiotiques communément utilisés en thérapie humaine ont été retenus. La résistance aux antibiotiques a été testée pour les souches bactériennes appartenant à l’espèce *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de 12 antibiotiques.

Les résistances naturelles des souches isolées n'ont pas été prises en considération. La **photographie 21** montre les antibiogrammes obtenus, les valeurs des diamètres d'inhibitions sont comparées aux valeurs du tableau de lecture (**Annexe 12**). Les valeurs obtenues nous ont permis de classer les bactéries en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à chaque antibiotique.

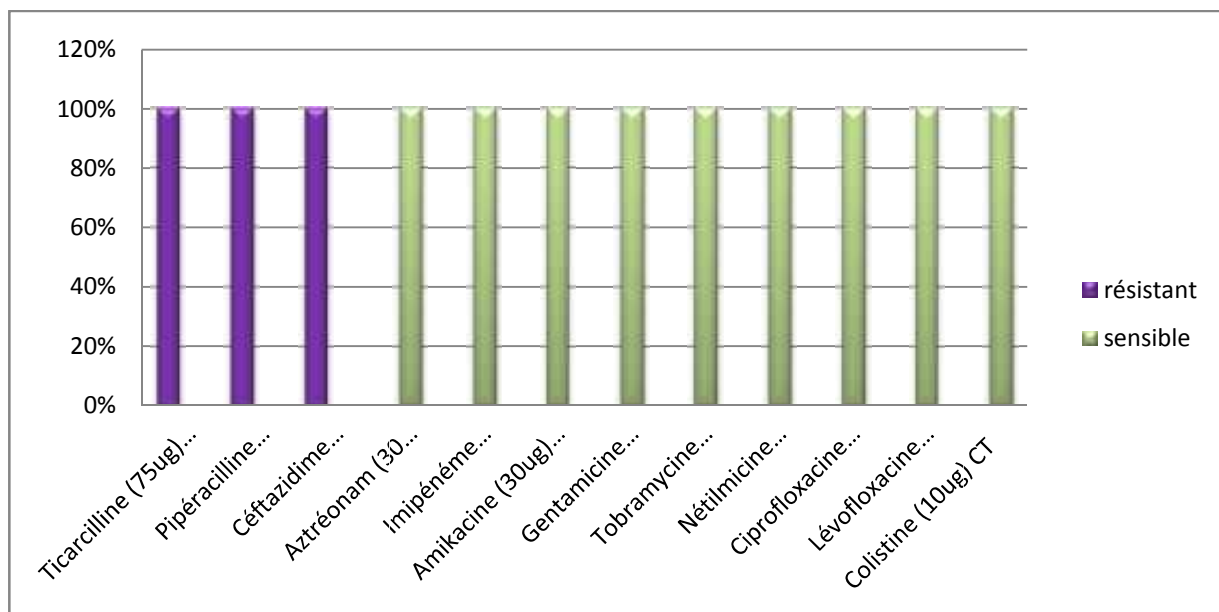


**Photographie 21** : Résultat d'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*

Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés, les espèces Intermédiaires étant ensuite incluses dans la catégorie R. les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau XVIII**.

**Tableau XVIII**: Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux Antibiotiques

| Antibiotique       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=3) |           |               |
|--------------------|-------------------------------------|-----------|---------------|
|                    | Sensible                            | Résistant | Intermédiaire |
| Ticarcilline TC    | 0 0%                                | 3 100%    | 0 0%          |
| Pipéracilline PRL  | 0 0%                                | 0 0%      | 3 100%        |
| Céftazidim CAZ     | 0 0%                                | 3 100%    | 0 0%          |
| Aztréonam ATM      | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Imipénéme IPM      | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Amikacine AK       | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Gentamicine CN     | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Tobramycine TOB    | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Nétilmicine NET    | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Ciprofloxacine CIP | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Lévofloxacine LVX  | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |
| Colistine CT       | 3 100%                              | 0 0%      | 0 0%          |



**Figure 19 :** Pourcentage d’isolats des *Pseudomonas aeruginosa* résistants à divers antibiotiques.

Une résistance acquise a été aussi observée chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées. Pour la famille des lactamines, la résistance à la Pipéracilline et, Ticarcilline 100% La résistance aux céphalosporines de troisième génération : la Céftazidime est de 100%. En revanche, celle à Aztréonam et Imipénème est 0%.

Pour la famille des fluoroquinolones aucune souche n'est résistante à la ciprofloxacine et Lévofloxacine.

En ce qui concerne les aminosides, on remarque que l'Amikacine et Nétilmicine restent actifs même remarque pour la gentamicine et la tobramycine.

En effet, les *Pseudomonas* possèdent des éléments génétiques susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques, décrits sous le nom d'intégrons.<sup>(82)</sup> Ces intégrons peuvent héberger des cassettes, éléments mobiles formés d'un gène et d'un site spécifique de recombinaison.<sup>(83)</sup> Plusieurs classes d'intégrons ont été définies ; trois d'entre elles (classes 1, 2 et 3), bien caractérisées, sont impliquées dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques.<sup>(84)</sup> Les *Pseudomonas* possèdent des cassettes décrites sur les intégrons de classe 1 (résistance aux -lactamines, aux aminosides, au chloramphénicol, au triméthoprime et à la rifampicine) et de classe 3 (résistance aux -lactamines et aux aminosides).<sup>(85)</sup>

A red, rounded rectangular banner with a white background, featuring a white cursive font. The banner has a small white semi-circle at the top left and top right corners, and a white semi-circle at the bottom left corner. The word "Conclusion" is centered on the banner.

*Conclusion*

### Conclusion

Ce mémoire de thèse s'inscrit dans la problématique de l'évaluation de la qualité bactériologique des liquides de dialyse du service d'hémodialyse et d'insuffisance rénale de l'EPH Bousshaba Ali wilaya de Khenchela , de contribuer à isoler les bactéries qui provoquent la contamination de ces liquides et enfin étudier les principales caractéristiques de ces contaminants et connaître les profils de résistance aux antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.

Dans le cadre de ce travail , nous avons tout d'abord mené une étude bibliographique sur les liquides de dialyses qui nous a permis de déduire que la contamination microbienne de l'eau de dialyse préparé à partir de l'eau potable du réseau communautaire fait courir un risque infectieux au patient dialysé.

Durant notre période d'étude nous avons prélevé **02** échantillons du liquide de dialyse pré membrane (site 1) et **09** échantillons du liquide de dialyse post membrane (site 2), le dénombrement des germes de contamination fécale pour les échantillons du **site 1** par la technique de filtration montre un niveau de contamination important par les coliformes totaux et fécaux  $> 100$  CFU/mL alors qu'il est nul pour les Entérocoques fécaux

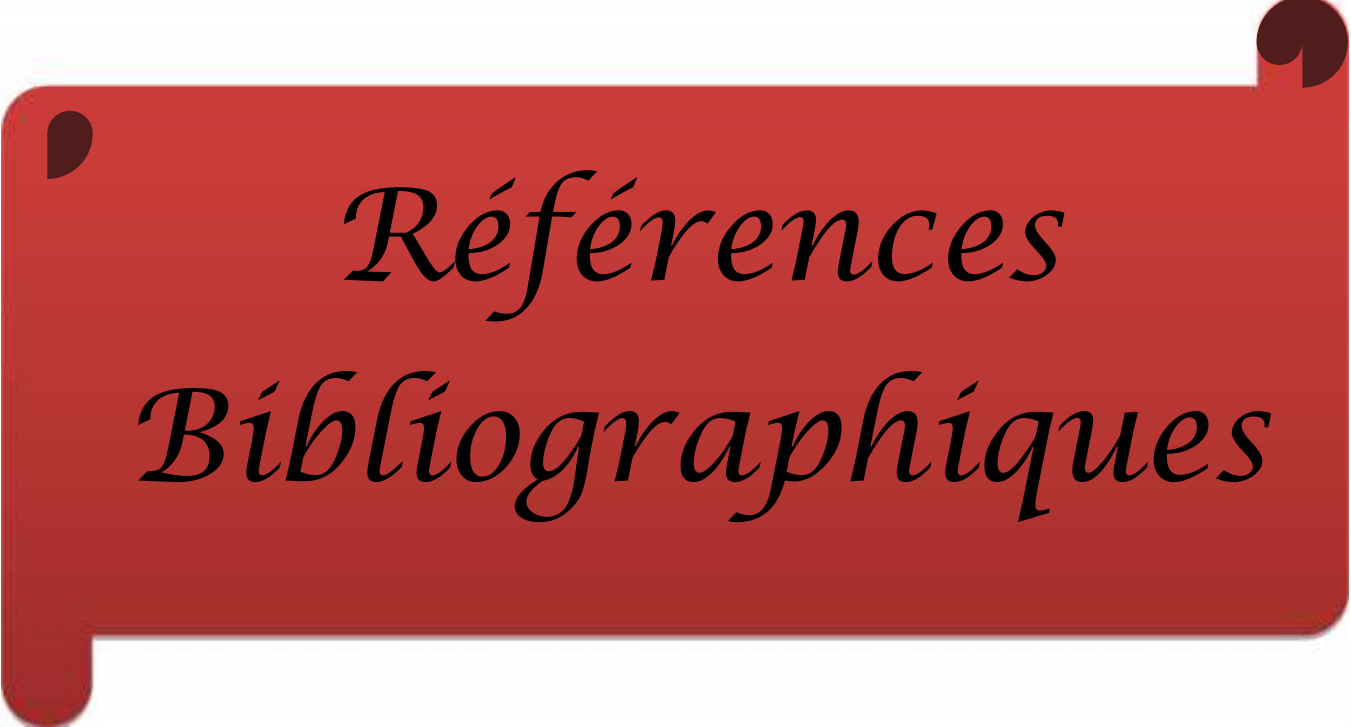
Les résultats de l'examen bactériologique des échantillons du **site 2** mettent en évidence et de façon systématique la présence des Bacilles Gram négatif : *Escherichia coli*, *Enterobacter amnigenus*, *Serratia fecaria*, *Citrobacter Freundii* et *Pseudomonas aeruginosa* et des Cocci Gram positif *Staphylococcus sp* à coagulase négatif, ayant acquis des caractères inquiétants de résistance aux antibiotiques surtout aux bêta-lactamines, aminosides et fluoroquinolones. Ces bactéries présentent un niveau de multirésistance alarmant surtout souches bactériennes multirésistantes productrices de **Beta Lactamase à Spectre Etendu (BLSE)**

Les résultats obtenus à partir de notre étude nous incitent à conclure que la qualité microbiologique de l'eau osmosée et du dialysat utilisé au niveau du service d'hémodialyse de l'établissement hospitalier de Khenchela est pas stérile .Ce résultat peut être expliqué par la contamination fréquente de la chaîne de production de l'eau osmosée, et la maintenance régulière des générateurs.

La surveillance bactériologique des circuits de dialyse nous semble donc pouvoir être effectuée en routine afin de contrôler le taux de contamination et de le maintenir à des valeurs basses, témoins d'une désinfection efficace.

La qualité de l'eau pour hémodialyse impose une maintenance adéquate et une désinfection fréquente des différents éléments qui composent la chaîne du traitement d'eau, les générateurs de dialyse doivent subir une maintenance régulière et une désinfection avant et après chaque séance de dialyse.

Pour les perspectives à venir nous souhaitons élargir notre population d'étude et faire une caractérisation d'autres germes de contamination surtout les virus des hépatites. Il serait aussi nécessaire, pour la sécurité du malade, de mettre au point sans retard des normes bactériologiques algériennes, aidant aussi bien à l'élaboration du cahier de charges lors de l'installation d'un service de dialyse, qu'à la maintenance des circuits d'eau et à la surveillance des générateurs de dialyse.



*Références  
Bibliographiques*

### Références Bibliographiques

1. **Austin W., Ober C.,Garrison C.,Andrew C.,Silverthorn A.,Bruce R-J.(2007).** physiologie humaine.PERSON éducation. paris.936p.
2. **N. K. Man., M. Touam., P. Jungers.(2010).**L'hémodialyse de suppléance. 2ème édition. Paris : Médecine sciences Flammarion. 210 p.
3. **Zidane A.,Zoubiri S.,Chaouche A.(2010).**l'insuffisance rénale chronique .Mémoire DES. Université de Biskra. 30p.
4. **F.Schmitt.(2007).**« physiologie rénale ». in biochimie, hématologie. vol 2,4. vol, Reuil-Malmaison: WoltersKluwer. p.262-284.
5. **Docteur ruidant.**bachelier en soins infirmiers institut supérieur de soins infirmiers galilee.
6. <http://www.infovisual.info/>
7. **Gougoux A.(2005).**Physiologie des reins et des liquides corporels Québec, Multimondes.
8. **Docteur Ruidant.(2014).**Anatomie – physiologie.institutsSupérieur de soin infirmiers Galilée.
9. **Florian. (2011).**combaz de l'insuffisance rénale chronique a la dialyse : role de pharmacien d'officine dans l'accompangement du patient de dialyse. université joseph fourier faculté de pharmacie de grenoble..thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie. 17-18p.
10. **Godin-RibuotD.** Le néphron et la circulation rénale.[http://umvf.biomedicale.univparis5.fr/wiki/docvideos/Grenoble\\_1011/godin\\_ribuot\\_diane/godin\\_ribuot\\_diane\\_P03/godin\\_ribuot\\_diane\\_P03.pdf](http://umvf.biomedicale.univparis5.fr/wiki/docvideos/Grenoble_1011/godin_ribuot_diane/godin_ribuot_diane_P03/godin_ribuot_diane_P03.pdf).consultée le 16 Janvier 2016.
11. **Marieb E., Hoehn K.(2010).**Anatomie et physiologie humaines. Paris.Paerson.
12. **G.Abadjian.**Epathologie. Schématisation d'un glomérule rénale.
13. **Jean Louis.PALLOT** livre PHYSIOLOGIE RENALE. Service de réanimation Polyvalente. CHI ANDRE GREGOIRE (MONTREUIL).
14. **Marieb E., Lachaine R.(2008).**Biologie humaine : principes d'anatomie et de physiologie. Paris. Paerson.
15. **H.Guénard.(2001)** physiologie humaine .paris : éditionpradel.
16. **G.Dirheimers., E.Creppy., F.Sichel. (2007).**« mécanismes et manifestations de l'action toxique au niveau rénal ». in intoxicologie. sciences mathématique. physique et chimique .vol 1-4vol.Malmaison.ed.Wolters Kluwer.p. 79 -95.

17. **Boudon,C., Leverve,X., Erny,P., Hasselman., M,traitéde.(2001).**nutrition artificielle de l'adulte. paris.Berlin : Springer, SFNEP.
18. **Polaschegg H.D.(1996).**Hemodialysis machines and monitors. In: Jacobs C.Kjellstrand.,CM. Koch KM., Winchester JF.editors. Replacement of renal function by dialysis. Dordrecht: Kluwer Academic Publication. p. 333-L7379.
19. **Le Meur Y., Lagarde C., Charmes J.P., Benevent D., Leroux-Robert C.(1998)**L'insuffisance rénale chronique : du diagnostic à la dialyse Vélizy-Villacoulay. Doin Initiatives Santé.
20. **Simon P.(2006).**L'insuffisance rénale : prévention et traitements .
21. « illustration de the visual MD ». Disponible sur : <http://www.thevisualmd.com/> consulté le 16 Février 2016.
22. **A.Ragon., P.Brunet.(2008).**« traitement de l'insuffisance rénale ». in pharmacie clinique et thérapeutique. Elsevier.p.1143-1179.
23. **F.Schmitt.(2007).** « physiologie rénale », in biochimie.Hématologie. vol 2-4. vol.Reuil-Malmaison :Wolters Kluwer.p.544-571.
24. **M. Raoult.**« 05 Dossier diabète et IRC ».Rein Echoc.vol 8. P. 5-30.**Oct.2010.**
25. H.A .de S.HAS. « Dosage de la créatinine. évaluation du débit de filtration glomérulaire et rapport albumine/créatininurie dans le diagnostic de l'insuffisance rénale chronique ». **mai 2011.**
26. **Levey A., Coresh J. (2002).**Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation. Classification and Stratification American Journal of Kidney Diseases. 39. p. 1-266.
27. **Jungers P., Qualim Z., Nguyen-Khoa T., Massy Z., London G.(2003).**La cardioprotection : un élément essentiel du traitement de l'insuffisance rénale chronique en pré-dialyse. Néphrologie.24 : 79-88.
28. **N.K.Mann., M. Touam., P.Jungers.(2003).**L'hémodialyse de suppléance. 1-5-131-138.p.
29. **T.Petitclerc.(sept-1998).**« hémodialyse : principe généraux et modalités de traitement». MTMédecinethérapeutique. vol..n 7.p.557-566.
30. **P.H. Maxwell.,S.Pardel., M.Rouprét. (2009).**Néphrologie.Bruxelle:De Boeck..
31. **Simon P.(2007).**L'insuffisance rénale : prévention et traitements Issy-les Moulineaux. Elsevier Masson.
32. **BourquelotP.(2004).**L'abord vasculaire pour hémodialyse. Issy-les-Moulineaux. Elsevier Masson.

33. **Levin, N.W. (1996).**Hemodialysis machines and monitors. In: Kjellstrand CM. editors. Replacement of renal function by dialysis. Dordrecht: Kluwer Academic Publication. P. 333- L7379.
34. **Man N.K., Jungers P. (Juillet 2007).**Le matériel d'hémodialyse.
35. **Man N., Touam M., Jungers P. (2010).**L'hémodialyse de suppléance Paris, Flammarion Médecine-Sciences.
36. **7 - Canaud B.(2011).**Principes et modalités d'application de l'hémodialyse au traitement de l'insuffisance rénale chronique. Néphrologie et Thérapeutique. 5-218-238.
37. Monographie de la Pharmacopée Européenne sur L'eau pour Hémodialyse. 7ème Edition **2009**.
38. Documentation interne de l'établissement hospitalier universitaire 1er Novembre d'Oran.
39. **Yao Q., Lindholm B., Stenvinkel P. (2004).**Inflammation as a cause of malnutrition, atherosclerotic cardiovascular disease.And poor outcome in hemodialysis patients. Hemodial Int. 8:118.
40. **Pierre Bourquelot.(2009).**Abords vasculaires pour hémodialyse. EMC - Néphrologie & Thérapeutique.5 - 239 - 248.
41. **P. Simon. (2007).**L'insuffisance rénal Prévention et traitements. Elsevier Masson S.A.S.283 p.
42. **Jungers P., Joly D., Man N.K., Legendre C. (2011).**L'insuffisance rénale chronique. prévention et traitement Paris. Lavoisier.
43. article Clin. univ. St-Luc/H. Depasse. L'hémodialyse: suspendue à un **octobre / novembre 2009**.
44. **Descamps – Latscha B., Jungers P.(2003).**Dysrégulation immunitaire dans l'insuffisance rénale chronique. EMC (Encyclopédie Médico – Chirurgicale). Néphrologie. 18 – 060 – A – 10.5p.
45. **P.Jungers., N-K.Man.,C.Legendre., D. Joly.(2011).**L'insuffisance rénale chronique : prévention et traitement. 4ème édition. Paris : Médecine sciences publications / Lavoisier.320 p.
46. **Anne Mombazet. (2010).** Le pharmacien d'officine face au patient dialysé Réalisation d'un outil de formation destiné à l'équipe officinale. Thèse d'exercice : Pharmacie. Université Henri Poincaré. NANCY I. Faculté de pharmacie.
47. **Boubaker K.Troillet, N. Blanc. E.(2002).** Bulletin Swissnoso .prévention des infections en hémodialyse. première partie : qualité de l'eau.

- 48. Revue Officielle De La Société Française D'hygiène Hospitalière.** Recommandation de la SFHH, Bonnes pratiques d'hygiène en hémodialyse. **2005** - Volume XIII -n°2- ISSN 1249-0075.
- 49. E.Klein., T. Pass G., B. Harding., R. Wright., C. Million.(avr.1990)**« Microbial and endotoxin contamination in water and dialysate in the central united states ». *Artiforgans* . vol.14, n°2 P.85-94.
- 50. K. Boulaajaj, Y. Elomari,B. Elmaliki, B. Madkouri, D. Zaid., N. Benchemsi.(2005).** Infections virales : VHC, VHB et VIH chez les hémodialysés. CHU Ibn-Rochd, Casablanca. Elsevier Masson SAS - Néphrologie&Thérapeutique 1274 – 284.
- 51. S. Pol, V. D'Halluin, V. Mallet, H. Fontaine.(2006).** Prise en charge de l'infection par les virus des hépatites B ou C chez l'insuffisant rénale chronique. EMC (Elsevier SAS, Paris). Néphrologie. 18 – 061 – C – 10.
- 52. 31 - NB.Chaabane, H.Loghmari, W.Melki, O.Hellara, L.Safer, F.Bdioui et al. (2008)**Hépatites virales chroniques chez les patients insuffisants rénaux. Elsevier Masson SAS - Presse Med. Hépatologie..37: 665–678.
- 53. Man NK. (2007).**Revue critique du risque infectieux des générateurs (le biofilm). 26 /06/2012.
- 54. L. M. prescott, J. P. Harley, et D. A. Klein,(2003).**Microbiologie. Bruxelles : de Boeck.
- 55. Mery D.(1982).** Surveillance bactériologique des liquides de dialyse. Médecine et Maladies Infectieuse. N°3. 126-1 30p.
- 56. Clark H.F., Geldreich, E.F.,Jeter H.L.,Klabler P.W1951.** The membrane filter in sanitary microbiology .public health Rep .66:951-977.
- 57. Goetz A.,Tsuneishi N. (1951).**Application of molecular filter membrane to bacteriological analysis of water.J.Am.Water Works Assoc .43:943-969.
- 58. Favero M-S., Petersen N-J., CrsonL-A., Bond W-W., Hindman S-H.1975** Gram Negative water bacteria in hemodialysis systems *Health. Lab.Sci*, 12, 4, 321-334p.
- 59. Mery D., Pouillot M-J., Desvignes A., Boussougant Y., Maison C. (1982)**Surveillance bactériologique des liquides de dialyse. Médecineet Maladies infectieuse, N°3,166-176p.
- 60. Tambrun D., Lejeune DJ.(2000-2001).** Principe et contrôle qualité en hémodialyse 25/4/2016. <http://www.utc.fr/~farges/spibh/00-01/projets>.
- 61. Lightfoot N-F.(2002).** Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau directives pour l'assurance qualité.387p
- 62. Rodier J. (2009).** L'analyse de l'eau .9eme Edition Dunod.Paris.1526p.

- 63. Guiraud J.P., Rosec J-P.(2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor12-30-112p.
- 64. Dabernat H., Avril J-P., Denis F., Monteil H.(1992).** Bactériologie Clinique. 2eme Edition marketing 148p.
- 65. Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec & Toc, Lavoisier. 476p.
- 66. Halassi, I. (2009).** Degré de contamination du Lac des Oiseaux et contribution à l'étude du pouvoir auto-épurateur de l'eau : Isolement et étude de *Bdellovibriobacteriovorus*. Mémoire de Magistère. Univ. 08 Mai 1945 de Guelma.148p.
- 67. Akmouci-Toumi S. (2009).** Contribution à l'étude des boues de forages : Isolement et évaluation de la capacité de quelques souches microbiennes à dégrader le gasoil. Thèse de Magistère. Univ. M'HamedBougara, Boumerdes. 158p.
- 68. Ben Ammar L. (2012).** Elimination des phosphates par procédé biologique des eaux usées de la région de Khenchela. Thèse de Magistère. UniversitéAbbèsLaghrou Khenchela.78p.
- 69. Rejsek F. (2002).** Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. SCEREN – CRDP Aquitaine. Biologie technique -environnement. Bordeaux. 360p.
- 70. Diouf B., Niang A., Ka EHF., Badiane M., Moreira Diop T. (2003).**Chronical renal failure in one Dakar Hospital Department. Dakar Med.;48(3):185-8.
- 71. SumailiEK.,Krzesinski J., Cohen E., Nseka N. (2009).**Épidémiologie de la maladie rénale chronique en République démocratique du Congo: une revue synthétique des études de Kinshasa, la capitale. BMC nephrol.;10(1):10-8.
- 72. Schiele F.(2005).**L'insuffisance rénale chronique, facteur de risque indépendant de mortalité après un infarctus aigu. Ann cardiol Angéiol.;54(4):161-7.
- 73. Ouattara B., Kra O., Diby K.(2004).**Thot'o As, Ouattara I Nn. Insuffisance rénale chronique chez l'adulte au CHU de Bouaké. Afr Biomed.; 9(7):66-70.
- 74. Bakhoum. I.M.N.S. (2004).** Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse de doctorat. Université Cheikh AntDiop de Dakar. Mali. p 20 .
- 75. Meziani M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas*. Mémoire de Magistère. UniversitéMentouri Constantine.39-45p.
- 76. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E. (2006).** The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria, Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass. Third Edition. Springer.

- 77. Joffin J.N., Leyral G. (2005).** Microbiologie Technique. Tome 1. Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et CRDP d'Aquitaine. p368.
- 78. Bush K., Jacoby GA., Medeiros AA. (1995).** A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemoth*; 39:1211-33.
- 79. H. Ammari, M. Ghaffor.(2005).** Bactériologie des péritonites chez les malades sous dialyse continue ambulatoire (DPCA). Elsevier SAS. *Revue Française des Laboratoires*, janvier, N ° 369.
- 80. A. Edern, M. Fines-Guyon, C. Castrale, M. Ficheux, J P. Ryckelynck, et al.(2012).** Ecologie bactérienne et mécanismes de résistance aux antibiotiques lors des infections du liquide de dialyse péritonéale. Elsevier Masson SAS. *Néphrologie&Thérapeutique* 8 456 – 461
- 81. J.P. Sollet., R. Gauzit.(2002).** Epidémiologie et prise en charge des difficultés thérapeutiques dans les infections nosocomiales à staphylocoque résistant à la méticilline : étude PROPHYL. *Réanimation*; 11 Suppl. 2 : 24-8. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.
- 82. Giuliani F., Docquier J.D., Riccio M.L., Pagani L., Rossolini G.M. (2005).** OXA-46, a new class D  $\beta$ -lactamase of narrow substrate specificity encoded by a blaVIM1-containing integron from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. - *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(5), 1973-1980.
- 83. Sekiguchi J.I., Asagi T., Miyoshi-Akiyama T., Fujino T., Kobayashi I., Morita K., Kikuchi Y., Kuratsuji T., Kirikae T. (2005).** Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its aac(6')-Iae gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. - *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(9), 3734-3742.
- 84. Hansson K., Sundström L., Pelletier A., Roy P.H. (2002).** Integron integrase in Tn7. - *J. Bacteriol.* 184(6), 1712-1721.
- 85. Ploy M.C., Denis F., Lambert T. (2000).** Les intégrons : un système original de capture de gènes chez les bactéries. - *Médecine / Sciences*, 16 (2), 255-259. <http://ist.inserm.fr/BASIS/medsci/fqmb/export/DDD/6121.pdf>.

A red scroll graphic with a white border, featuring a small white circle at the top right corner and a white tab at the bottom left corner. The word "Annexes" is written in a black, cursive font across the center of the scroll.

# *Annexes*

## **Annexe 01 : Normes technique en infrastructures et en équipements du centre d'hémodialyse allégé de proximité.**

### **I. Normes en infrastructures :**

1- les centres d'hémodialyse allégé de proximité obéir aux normes générales suivantes en matière de locaux :

- Etre situé dans un environnement sain ne présentant pas de danger pour la sécurité des malades.
- Etre dotés d'une climatisation et d'installation technique agréée par l'autorité sanitaire locale.
- Répondre aux normes de sécurité conformément aux prescriptions des services de la protection civile.
- Les locaux doivent être suffisamment spacieux pour la circulation des personnes et des équipements.

2- une ou plusieurs salles d'hémodialyse ayant au minimum une superficie de 6 M2 par poste (le poste de dialyse est représenté par le lit et la machine).

3- deux (2) cabinets de toilettes au minimum sont mis à la disposition des malades

4- une salle de repos équipée d'obus d'oxygène et d'un système d'aspiration.

5- un local pour la station de traitement de l'eau, sauf si les générateurs sont équipés de modules de traitement d'eau individuels.

6- une salle de stockage de médicaments, de filtre et de liquide de dialyse.

7- une salle équipée pour les examens biologique sauf si ceux-ci sont sous traités.

### **II- Normes en équipements :**

Les machines d'hémodialyse doivent pouvoir fonctionner avec des filtres de type capillaire ou des plaques. Le générateur de dialyse est conçu de deux modules :

- Le module sanguin
- Le module hydraulique

#### **1- le module sanguin**

Ce module comporte nécessairement

- Un pompe à sang
- Un détecteur d'amorçage
- Un capteur de pression veineuse
- le clamp artériel et le clamp veineux
- Un détecteur d'air

**2- le module hydraulique** : est composé essentiellement de :

- Un conductivimètre
- un détecteur de fuite de sang
- Un thermomètre
- un module d'aspiration acétate bicarbonate et
- Un dispositif de dégazage
- acide (dialyse bicarbonatée)

- Un moniteur de pression
- Un maitriseur d'ultrafiltration
- des dialyseurs à membrane synthétiques

### 3- Désinfection du générateur de dialyse

- Désinfection thermique
- Désinfection chimique
- Décalcification

La centrale de traitement d'eau pour hémodialyse doit délivrer une eau de très bonne qualité, tant du point de vue physico-chimique que microbiologique .Celle-ci n'est pas obligatoire si les machines sont équipées d'un système individuel.

### La boucle de traitement de l'eau doit comporter :

**1- un dispositif de prétraitement** : composé essentiellement de :

- Un filtre à sable et filtre (20u) à cartouches jetables.
- Un filtre à charbon actif
- Deux adoucisseurs
- Un osmoseur des bâches de réserve d'eau

### 2- Equipement médical :

- Un matériel d'intubation
- Un dispositif d'aspiration mobile
- Utilisation d'un matériel stérile et jetable

### 3- Autres équipements :

- Un groupe électrogène de secours
- Des lits ou fauteuils articulés permettant la position de trandelenbourg
- Balance pour peser les patients

### III- Normes requises pour l'eau utilisée en hémodialyse :

Les taux maximums tolérés dans l'eau destinée à l'hémodialyse pour les éléments suivants sont de :

- |                               |                             |
|-------------------------------|-----------------------------|
| - 2mg/l pour le calcium       | - 5mg/l pour le sodium      |
| - 1,2 mg/l pour le magnésium  | - 2mg/l pour le potassium   |
| - 0,01 mg /l pour l'aluminium | - 50mg/l pour les chlorures |
| - 5mg/l pour les sulfates     | - 0,05mg/l pour le zinc     |
| - 0,2mg/l pour les nitrates   | - 0,1mg/l pour l'étain      |
| - 0,5mg/l pour les fluorures  | - 0,004mg/l pour le mercure |
| - 0,2 mg/l pour l'ammonium    |                             |

La qualité du traitement de l'eau doit être contrôlée trimestriellement par les analyses bactériologique et physico-chimique (en particulier du dosage de calcium et de l'aluminium) qui doivent être effectuées par un laboratoire agréé.

**Annexe 02. Liste des antibiotiques testés sur les entérobactéries charge des disques et Classification**

Conditions du test :

Milieu : Mueller Hinton

Control de qualité

Inoculum : Colonies en suspension

*Escherichia coli* ATCC25922

Incubation : 37°C, atmosphère ordinaire, 18 à 24h

| Antibiotiques                                  | Abréviation | Charge du disque | Classe  |
|--|-------------|------------------|---|
| Ampicilline                                    | AMP         | 10 µg            | -lactames (famille des pénicillines)                                |
| Amoxicilline/acide clavulanique                | AMC         | 20/10 µg         | -lactames (famille des pénicillines et des clavames)                |
| Aztréonam                                      | ATM         | 30µg             | -lactames   |
| Céfalotine                                     | KF          | 30µg             | -lactames   |
| Céfazoline                                     | KZ          | 30 µg            | -lactames (famille des céphalosporines 1 <sup>ère</sup> génération) |
| Céfotaxime                                     | CTX         | 30 µg            | -lactames (famille des céphalosporines 3 <sup>ème</sup> génération) |
| Cefoxitine                                     | FOX         | 30 µg            | -lactames (famille des céphalosporines 2 <sup>ème</sup> génération) |
| Ceftazidime                                    | CAZ         | 30 µg            | -lactames (famille des céphalosporines 3 <sup>ème</sup> génération) |
| Imipenème                                      | IPM         | 10 µg            | -lactames (famille des carbapénèmes)                                |
| Ertapénème                                     | ETP         | 10 µg            | -lactames   |
| Amikacine                                      | Ak          | 30 µg            | Aminosides  |
| Gentamicine                                    | CN          | 10 µg            | Aminosides  |
| Acide nalidixique                              | NA          | 30 µg            | Quinolones  |
| Ciprofloxacine                                 | CIP         | 5 µg             | Fluoroquinolones  |
| Chloramphénicol                                | C           | 30 µg            | Phénicoles  |
| Furanes  | F           | 300µg            | Furanes   |
| Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (cotrimoxazole) | SXT         | 1,25/23,75µg     | Sulfamides/diaminopyridine  |
| Fosfomycine                                    | FF          | 200µg            | Fosfomycine   |
| Colistine                                      | CT          | 10 µg            | Polypeptide   |

**Annexe 03 : Liste des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa* charge des disques et Classification**

**Conditions du test :**

**Milieu : Mueller Hinton Control de qualité**

**Inoculum : Colonies en suspension *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

**Incubation : 37°C, atmosphère ordinaire, 24h**

| <b>Antibiotique</b>                     | <b>Abréviation</b> | <b>Charge du disque</b> | <b>Classe</b>           |
|---|--------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>Ticarcilline</b>                     | <b>TC</b>          | <b>75 µg</b>            | <b>-lactames</b>        |
| <b>Ticarcilline+ acide clavulanique</b> | <b>TIM</b>         | <b>75/10 µg</b>         | <b>-lactames</b>        |
| <b>Pipéracilline</b>                    | <b>PRL</b>         | <b>100 µg</b>           | <b>-lactames</b>        |
| <b>Céftazidime</b>                      | <b>CAZ</b>         | <b>30 µg</b>            | <b>-lactames</b>        |
| <b>Aztréonam</b>                        | <b>ATM</b>         | <b>30 µg</b>            | <b>-lactames</b>        |
| <b>Imipénème</b>                        | <b>IPM</b>         | <b>10 µg</b>            | <b>-lactames</b>        |
| <b>Amikacine</b>                        | <b>AK</b>          | <b>30 µg</b>            | <b>Aminosides</b>       |
| <b>Gentamicine</b>                      | <b>CN</b>          | <b>10 µg</b>            | <b>Aminosides</b>       |
| <b>Tobramycine</b>                      | <b>TOB</b>         | <b>10 µg</b>            | <b>Aminosides</b>       |
| <b>Nétilmicine</b>                      | <b>NET</b>         | <b>30µg</b>             | <b>Aminosides</b>       |
| <b>Ciprofloxacine</b>                   | <b>CIP</b>         | <b>5 µg</b>             | <b>Fluoroquinolones</b> |
| <b>Lévofloxacine</b>                    | <b>LVX</b>         | <b>5 µg</b>             | <b>Fluoroquinolones</b> |
| <b>Colistine</b>                        | <b>CT</b>          | <b>10 µg</b>            | <b>polypeptides</b>     |

**Annexe 04 : Liste des antibiotiques testés sur *Staphylococcus sp* charge des disques et Classification**

**Conditions du test :**

**Milieu : Mueller Hinton**

**Control de qualité**

**Inoculum : Colonies en suspension**

***Staphylococcus sp* ATCC 27853**

**Incubation : 37°C, atmosphère ordinaire, 24h**

| Antibiotique    | Abréviation | Charge du disque | Classe          |
|-----------------|-------------|------------------|-----------------|
| Penicilline     | P           | 10 UI            | -lactames       |
| Oxacilline      | OX          | 1 µg             | -lactames       |
| Céfoxitine      | FOX         | 30 µg            | -lactames       |
| Amikacine       | AK          | 30 µg            | Aminoside       |
| Gentamicine     | CN          | 10 µg            | Aminoside       |
| Kanamycine      | K           | 30 µg            | Aminoside       |
| Erythromycine   | E           | 15 µg            | Macrolide       |
| Clindamycine    | CD          | 2 µg             | Lincomycine     |
| Pristinamycine  | PT          | 15 µg            | Streptogramine  |
| Ofloxacine      | OFX         | 5 µg             | fluoroquinolone |
| Ciprofloxacine  | CIP         | 5 µg             | fluoroquinolone |
| Lévofloxacine   | LVX         | 5 µg             | fluoroquinolone |
| Chloramphénicol | C           | 30 µg            | Phénicol        |
| Vancomycine     | VA          | CMI              | glycopeptide    |
| Teicoplanine    | TEC         | 30 µg            | glycopeptide    |
| Rifampicine     | RA          | 5 µg             | rifamycine      |
| Cotrimoxazole   | SXT         | 1,25 /23,75 µg   | sulfamide       |
| Tétracycline    | TE          | 30 µg            | tétracycline    |
| Acide fusidique | FA          | 10µg             |                 |

**Annexe 05 : Résistances naturelles aux lactamines des espèces de bacilles non exigeants**  
(Cavallo et al., 2004).

| Espèces   | PEN | OXA | AM | AMC | TIC | TCC | PIP | C1G | FOX | CTT | MA | CXM | CTX | CAZ | IPM |
|---|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|
| <b>Entérobactéries</b>                          |     |     |    |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Escherichia coli</i>                         | R   | R   |    |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Proteus mirabilis</i>                        | R   | R   |    |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Shigella</i> spp.                            | R   | R   |    |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Salmonella</i> spp.                          | R   | R   |    |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Klebsiella</i> spp.                          | R   | R   | R  |     | R   |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Citrobacter koseri</i>                       | R   | R   | R  |     | R   |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Citrobacter freundii</i>                     | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   | R   | R   |    |     |     |     |     |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>                   | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   | R   | R   |    |     |     |     |     |
| <i>Enterobacter cloacae</i>                     | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   | R   | R   |    |     |     |     |     |
| <i>Serratia marcescens</i>                      | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   |     |     | R  | R   |     |     |     |
| <i>Bifidobacterium</i>                          | R   | R   | R  |     |     |     |     | R   |     |     |    | R   |     |     |     |
| <i>Morganella morganii</i>                      | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   |     |     |    | R   |     |     |     |
| <i>Providencia stuartii</i>                     | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Yersinia enterocolitica</i>                  | R   | R   | R  | R   | R   |     |     | R   | R   |     | R  | R   |     |     |     |
| <b>Bacilles à Gram négatif non fermentaires</b> |     |     |    |     |     |     |     |     |     |     |    |     |     |     |     |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                   | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   | R   | R   | R  | R   | R   | F   |     |
| <i>Acinetobacter baumannii</i>                  | R   | R   | R  | R   |     |     |     | R   | R   | R   | R  | R   |     |     |     |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>             | R   | R   | R  | R   | R   |     | R   | R   | R   | R   | R  | R   | F   |     | R   |
| <i>Alcaligenes denitrificans</i>                | R   | R   | R  | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R   | F   |     | R   |
| <i>Meningosepticum</i>                          | R   | R   | R  | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R   | F   |     | R   |
| <i>Ochrobactrum anthropi</i>                    | R   | R   | R  | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R   | F   | R   |     |

R : résistance naturelle ; PEN : pénicilline G ; OXA : oxacilline ; AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline + acide clavulanique ; PIP : pipéracilline ; C1G : céphalosporines de première génération ; FOX : céfotaxime ; CTT : céfotétan ; MA : cefamandole ; CXM : céfuroxime ; CTX : céfotaxime ; CAZ : ceftazidime ; IPM : imipénème.

## Annexe 06 : Composition des milieux de culture.

### Gélose Au Cétrimide

La gélose au cétrimide (CETylTRImethylammonium broMIDE) est utilisée pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas aeruginosa*. Le cétrimide est un ammonium quaternaire qui inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes. *Pseudomonas aeruginosa* colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                                   |       |                                     |
|-----------------------------------|-------|-------------------------------------|
| Peptone .....                     | 20,00 |                                     |
| Chlorure de magnésium.....        | 1,40  | pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2         |
| Sulfate dipotassique.....         | 10,00 | Le milieu                           |
| Cétrimide (cetyltriméthylammonium |       | en tubes ou flacons se conserve     |
| Bromide).....                     | 0,30  | entre 15 et 25°C, et entre 2 et 8°C |
| Glycérol.....                     | 10 ml | pour les boîtes                     |
| Agar.....                         | 13,60 |                                     |

### Gélose King A

La gélose King A est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas* par la mise en évidence de la production de pyocyanine.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                             |       |                             |
|-----------------------------|-------|-----------------------------|
| Peptone .....               | 20,00 |                             |
| Sulfate de potassium .....  | 10,00 | pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2 |
| Chlorure de magnésium... .. | 1,40  |                             |
| Agar.....                   | 15,00 |                             |

### Gélose King B

La gélose King B est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas* par la mise en évidence de la production de fluorescéine (pyoverdine).

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                              |       |                             |
|------------------------------|-------|-----------------------------|
| Peptone de viande .....      | 10,00 |                             |
| Peptone de caséine .....     | 10,00 |                             |
| Phosphate dipotassique... .. | 1,50  | pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2 |
| Sulfate de magnésium....     | 1,50  |                             |
| Agar.....                    | 15,00 |                             |

### Milieu de Chapman

Le milieu de Chapman est utilisé pour l'isolement des *Staphylocoques* pathogènes qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                                |       |                             |
|--------------------------------|-------|-----------------------------|
| Peptone de viande.....         | 10,00 |                             |
| Extrait de viande de bœuf..... | 1,00  |                             |
| D-mannitol.....                | 10,00 | pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2 |
| Chlorure de sodium.....        | 75,00 |                             |
| Rouge de phénol.....           | 0,025 |                             |
| Agar.....                      | 15,00 |                             |

### Gélose Héktoen

La gélose Héktoen est un milieu sélectif différentiel des bactéries entéro-pathogènes, particulièrement de *Salmonella* et de *Shigella*. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (virage du bleu au rougesaumon) et/ou produisant de l'H<sub>2</sub>S (centre noir).

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                          |         |                                  |       |
|--------------------------|---------|----------------------------------|-------|
| Peptone .....            | 1..2,00 | Chlorure de sodium.....          | 5,00  |
| Extrait de levure.....   | 3.,00   | Thiosulfate de sodium.....       | 5,00  |
| Sels biliaires N° 3..... | 9,00    | Citrate ferrique ammoniacal..... | 1,50  |
| Lactose.....             | 1..2,00 | Bleu de bromothymol.....         | 0,065 |
| Saccharose.....          | 12,00   | Fuchsine acide.....              | 0,10  |
| Salicine.....            | 2,00    | Agar.....                        | 14,00 |

pH final à 25°C : 7,5 ±0,2

### Gélose Mueller Hinton

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides. Sa formulation est conforme aux recommandations du de l'O.M.S.Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles, tels que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria*, *Enterococcus sp* et *Streptococcus pneumoniae*.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                         |        |                             |
|-------------------------|--------|-----------------------------|
| Infusion de boeuf.....  | 300,00 | pH final à 25°C : 7,3 ± 0,2 |
| Peptone de caséine..... | 17,50  |                             |
| Amidon.....             | 1,50   |                             |
| Agar.....               | 17,00  |                             |

### Gélose Nutritive

La Gélose Nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                                |        |                             |
|--------------------------------|--------|-----------------------------|
| Peptone.....                   | 5.00   | pH final à 25°C : 6,8 ± 0,2 |
| Extrait de viande de bœuf..... | 30. 0  |                             |
| Agar.....                      | 15 ,00 |                             |

### Gélose Tergitol 7

La Tergitol 7 est utilisée pour l'isolement et le dénombrement des coliformes dans les eaux par la technique de filtration sur membrane.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                          |       |                            |
|--------------------------|-------|----------------------------|
| Peptone .....            | 10,00 |                            |
| Extrait de levure.....   | 6,00  |                            |
| Extrait de viande.....   | 5,00  | pH final à 25°C : 7,2± 0,2 |
| Lactose.....             | 20,00 |                            |
| Tergitol 7.....          | 0,10  |                            |
| Bleu de bromothymol..... | 0,05  |                            |
| Agar.....                | 10,00 |                            |

### Solution Stérile de T.T.C.

Le TTC est utilisé comme additif au milieu de culture pour visualiser la formation de colonies. La croissance bactérienne provoque une précipitation du composé qui passe de l'incolore au rouge brique (triphénylformazan insoluble).

Les tubes se conservent entre 2 et 8°C et à l'obscurité jusqu'à la date d'expiration.

Le TTC est photolabile et devient jaune sous l'effet de la lumière.

### Gélose de SLANETZ et BARTLEY

La Gélose de Slanetz et Bartley est utilisée pour l'isolement et le dénombrement des entérocoques dans les eaux, les denrées alimentaires et autres types de prélèvements par la technique de membranes filtrantes ou isolement sur boîtes de Pétri.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                             |       |                            |
|-----------------------------|-------|----------------------------|
| Tryptone.....               | 20,00 |                            |
| Extrait de levure.....      | 5,00  |                            |
| Glucose.....                | 2,00  | pH final à 25°C : 7,2± 0,2 |
| Phosphate dipotassique..... | 4,00  |                            |
| Aside de sodium.....        | 0,40  |                            |
| Agar.....                   | 10,00 |                            |

### Gélose TSI (Triple Sugar Iron)

La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d'H<sub>2</sub>S. Son utilisation est recommandée pour la recherche de Salmonella dans les produits pharmaceutiques, et pour la recherche de Salmonella et Campylobacter dans les aliments.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée

|                            |       |                                  |       |
|----------------------------|-------|----------------------------------|-------|
| Peptone.....               | 20,00 | Chlorure de sodium.....          | 5,00  |
| Extrait de bœuf.....       | 3,00  | Citrate ferrique ammoniacal..... | 0,30  |
| Extrait de levure.....     | 3,00  | Thiosulfate de sodium.....       | 0,30  |
| Saccharose.....            | 10,00 | Rouge de phénol.....             | 0,025 |
| Lactose.....               | 10,00 | Agar.....                        | 12,00 |
| Glucose monohydraté.....   | 1,00  |                                  |       |
| pH final à 25°C : 7,4± 0,2 |       |                                  |       |

### Milieu de Clark et Lubs

Le milieu de Clark et Lubs permet de différencier les Entérobactériacées avec les réactions au rouge de Méthyle et de Voges-Proskauer. Le rouge de méthyle différencie le processus de fermentation, il est jaune Au-dessus d'un pH de 6,3 et rouge en dessous de 4,2. La production d'acétylméthylcarbinol se révèle par l'apparition d'une coloration rouge en surface du milieu.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                             |      |                            |
|-----------------------------|------|----------------------------|
| Peptone.....                | 7,00 |                            |
| Glucose.....                | 5,00 | Ph final à 25°C : 7,0± 0,2 |
| Phosphate dipotassique..... | 5,00 |                            |

### **Citrate de Simmons**

La gélose au Citrate de Simmons est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur l'utilisation du citrate

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                                    |      |
|------------------------------------|------|
| Sulfate de magnésium.....          | 0,20 |
| Citrate de sodium.....             | 2,00 |
| Ammonium dihydrogénophosphate..... | 1,00 |
| Bleu de bromothymol.....           | 0,08 |
| Phosphate dipotassique.....        | 0,08 |
| Chlorure de sodium.....            | 5,00 |
| Agar.....                          | 1.5  |

|                            |
|----------------------------|
| Ph final à 25°C : 6,8± 0,2 |
|----------------------------|

### **Bouillon Nitraté**

Milieu nutritif liquide pour la mise en évidence de la réaction des nitrates. Chez les bactéries, au moyen de réactifs appropriés.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisé

|                           |    |              |
|---------------------------|----|--------------|
| Peptone de viande.....    | 10 | pH final 7,2 |
| Extrait de viande.....    | 5  |              |
| Chlorure de sodium.....   | 5  |              |
| Nitrate de potassium..... | 1  |              |

### **Mannitol mobilité**

Milieu de différenciation rapide des Entérobactériacées. Il permet de rechercher simultanément la mobilité, l'utilisation du mannitol.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                        |      |              |
|------------------------|------|--------------|
| Peptone de viande..... | 15   | Ph final 7,8 |
| Extrait de viande..... | 3    |              |
| Mannitol.....          | 10   |              |
| Potassium nitrate..... | 1    |              |
| Rouge de phénol.....   | 0,05 |              |
| Agar.....              | 5    |              |

### **Urée- indole**

Permet de rechercher l'uréase, la production d'indole et le tryptophane désaminase (TDA) indiqué pour l'identification des salmonella, shigella et yersinia Entérolitica dans les selles.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

|                               |      |              |
|-------------------------------|------|--------------|
| L-tryptophane.....            | 03   | Ph final 6,7 |
| Phosphate dipotassique.....   | 01   |              |
| Phosphate monopotassique..... | 01   |              |
| Chlorure de sodium.....       | 05   |              |
| Urée.....                     | 20   |              |
| Rouge de phénol.....          | 02,5 |              |

## Annexe 07 : Composition des colorants de gram

### Cristal violet ou violet de gentiane

#### Solution mère A

Cristal Violet ou Violet de Gentiane...**25 g**  
Ethanol à 96 % .....**250 ml**

#### Solution mère B

Oxalate d'Ammonium.....**5 g**  
Eau Distillée.....**500 ml**

**Conservation A** : Quelques années en flacon brun Hermétiquement bouché.

**Conservation B** : 2 à 3 mois dans un flacon hermétiquement bouché.

Mélanger 100 ml de solution A avec 400 ml de solution B. Conserver dans un flacon brun.

### Fuchsine

#### Fuchsine mère saturée

Fuchsine Basique.....**25 g**  
Ethanol à 96 %.....**250 ml**

**Conservation** : Quelques années dans un flacon brun hermétiquement bouché.

- **Solution mère aqueuse de Phénol à 5 % (v/v) :**

Phénol Cristallisé fondu.....**50ml**  
Eau distillée.....**950ml**

**Conservation** : Quelques mois dans un flacon hermétiquement bouché.

### Fuchsine (solution de travail)

Solution saturée de Fuchsine Basique, filtrée.....**100ml**  
Solution aqueuse de Phénol à 5 %.....**900ml**

**Conservation** : Au moins 2 ans.

### Lugol faible (pour coloration de Gram)

C'est à la fois un colorant et un liquide de mordantage (qu'on appelle mordant), qui permet une coloration indirecte : cela signifie qu'il prépare l'objet à colorer à recevoir un autre colorant. Il provoque une combinaison chimique entre deux corps qui n'ont au départ aucune affinité chimique l'un pour l'autre. Il se forme entre le tissu à colorer, le mordant et le colorant, une triple combinaison colorée suffisamment stable pour résister aux agents de décoloration (acides, alcools, eau).

Iodure de Potassium (KI) .....**2, 34 g**  
Iode en Cristaux ou Iode Sublimée...**1,66 g**  
Eau Distillée.....**500 ml**

**Conservation** : non filtré : 3 mois. Le Lugol doit avoir une coloration brun rouge

### Alcool Éthylique Ou Éthanol

Alcool primaire, liquide incolore, d'odeur agréable, miscible à l'eau en toutes proportions, miscible à de nombreux solvants organiques, l'éthanol ou alcool éthylique, CH<sub>3</sub>—CH<sub>2</sub>OH,

## Annexe 08 : Composition des additifs

### Kovacs

Le réactif de Kovacs est utilisé pour la mise en évidence de la production d'indole par les micro-organismes possédant une tryptophanase. Le tryptophane, acide aminé notamment présent dans les peptones tryptiques, est dégradé en indole qui réagit avec le P-Diméthylaminobenzaldéhyde du réactif. Une réaction positive, de la présence d'indole, est révélée par la coloration au rouge du réactif de Kovacs.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée

|                                  |          |   |
|----------------------------------|----------|---|
| P-Diméthylaminobenzaldéhyde..... | 5,00 g   | Conserver en flacon ambré<br>entre 2 et 8°C |
| Alcool amylique.....             | 75,00 ml |   |
| Acide chlorhydrique pur.....     | 25,00 ml |   |

### Réactif de Greiss-Ilosvay

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

Nitrate réductase 1 : -Acide sulfanilique, - Acide acétique

Nitrate réductase 2 : -alpha-naphtylamine,- Acide acétique

### Réactif de Voges – Proskauer 1 et 2

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence d'acétyl-méthyle carbinol (acétoïne dans) le milieu. Ce composé est un produit de dégradation de l'acide pyruvique par les bactéries qui empruntent la voie de fermentation butanediolique caractéristique de certaines Entérobactéries.

VP1 : Soude caustique (NaOH)

VP2 : Alpha naphthol

### Réactif TDA

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence, dans le milieu, de l'acide indol-pyruvique formés par les bactéries possédant la tryptophane désaminase.

Composition Chlorure de fer.....80 g /l

### Rouge de méthyle

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de l'acidification finale du milieu glucosé après fermentation du glucose en acides mixtes, caractéristiques de certaines Entérobactéries.

Composition : Rouge de méthyle Alcool 95 °C

## **Annexes 09 : Matériel et réactifs utilisés**

### **Matériel et appareillages**

- Pipettes graduées stériles de 1 ml
- Bec bunsen
- Portoir pour tubes à essai
- Pipettes Pasteur stériles.
- Bain marie
- Boîtes de pétri
- Marqueur
- Des lames
- Applicateur de disque
- Pied à coulisse
- Anse de platine
- Etuve électrique
- Microscope optique
- Pince
- les étiquettes
- l'étuve
- Appareil de filtration sur membrane
- les écouvillons
- Mannitol mobilité
- urée-indole
- Bouillon nitraté
- Clark et Lubs
- Milieu ADH
- Milieu LDC
- Milieu ODC
- Gélose Mueller Hinton
- Disques d'antibiotiques
- Additif RM
- Additif VP
- Additif Kovacs
- Additif TDA
- Réactif de Greiss-Ilosvay
- Réactif de Voges – Proskauer 1et 2
- Rouge de méthyle

### **Milieus de culture et additifs**

- Eau distillée stérile en tubes
- Gélose Héктоen
- Tri Sugar Iron TSI
- Citrate de simmons
- Colorants de Gram**
- L'huile de cèdre
- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool
- Fuchsine

## Annexe 10 : Programme de lecture de Galerie classique.

The screenshot shows a Microsoft Excel spreadsheet titled 'API [Mode de compatibilité] - Microsoft Excel'. The spreadsheet is open to the 'API 10E' worksheet. The data is as follows:

|    | Serratia ficaria | Exc Id |
|----|------------------|--------|
| 1  | T                | 1,00   |
| 2  | ONPG             | +      |
| 3  | ADH              | -      |
| 4  | LDC              |        |
| 5  | ODC              | -      |
| 6  | CIT              | +      |
| 7  | H2S              | -      |
| 8  | URE              | -      |
| 9  | TDA              | -      |
| 10 | IND              | -      |
| 11 | VP               | -      |

The spreadsheet also shows a taskbar at the bottom with various application icons and a system tray displaying the time as 13:28 on 21/05/2016.

**Annexe 11. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries**

| Antibiotiques testés             | Charge de disque | Diamètres critiques (mm) |               |          | CMI critiques (µg/ml) |          |
|----------------------------------|------------------|--------------------------|---------------|----------|-----------------------|----------|
|                                  |                  | Résistant                | Intermédiaire | Sensible | Résistant             | Sensible |
| <b><u>B-lactamines</u></b>       |                  |                          |               |          |                       |          |
| Ampicilline                      | 10µg             | 13                       | 14 – 16       | 17       | 32                    | 8        |
| Amoxicilline + Ac. Clavulanique  | 20/10µg          | 13                       | 14 - 17       | 18       | 32/16                 | 8/4      |
| Céfazoline                       | 30µg             | 14                       | 15 - 17       | 18       | 32                    | 8        |
| Cefalotine                       | 30µg             | 14                       | 15 - 17       | 18       | 32                    | 8        |
| Cefoxitine                       | 30µg             | 14                       | 15 - 17       | 18       | 32                    | 8        |
| Céfotaxime                       | 30µg             | 14                       | 15 – 22       | 23       | 64                    | 8        |
| Ceftriaxone                      | 30µg             | 13                       | 14 – 20       | 21       | 64                    | 8        |
| Imipenème                        | 10µg             | 13                       | 14 - 15       | 16       | 13                    | 4        |
| <b><u>Aminosides</u></b>         |                  |                          |               |          |                       |          |
| Amikacine                        | 30µg             | 14                       | 15 – 16       | 17       | 32                    | 16       |
| Gentamicine                      | 10µg             | 12                       | 13 – 14       | 15       | 8                     | 4        |
| <b><u>Quinolones</u></b>         |                  |                          |               |          |                       |          |
| Acide nalidixique                | 30µg             | 13                       | 14 – 18       | 19       | 32                    | 8        |
| Ciprofloxacine                   | 5µg              | 15                       | 16 – 20       | 21       | 4                     | 1        |
| Ofloxacine                       | 5µg              | 12                       | 13 – 15       | 16       | 8                     | 2        |
| <b><u>Autres</u></b>             |                  |                          |               |          |                       |          |
| Chloramphénicol                  | 30µg             | 12                       | 13 – 17       | 18       | 32                    | 8        |
| Furanes                          | 300µg            | 14                       | 15 – 16       | 17       | 128                   | 32       |
| Fosfomycine                      | 200µg            | 12                       | 13 – 15       | 16       | 256                   | 64       |
| Triméthoprime + Sulfaméthoxazole | 1.25/23.75µg     | 10                       | 11 – 15       | 16       | 8/152                 | 2/38     |

**Annexe 12. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa***

| Antibiotiques testés                | Charge de disque | Diamètres critiques (mm) |               |          | CMI critiques (µg/ml) |          |
|-------------------------------------|------------------|--------------------------|---------------|----------|-----------------------|----------|
|                                     |                  | Résistant                | Intermédiaire | Sensible | Résistant             | Sensible |
| <b><u>B-Lactamines</u></b>          |                  |                          |               |          |                       |          |
| Ticarcilline                        | 75µg             | 14                       | -             | 15       | 128                   | 64       |
| Ticarcilline +<br>Ac. Clavulanque   | 75/10µg          | 14                       | -             | 15       | 128/2                 | 64/2     |
| Piperacilline                       | 100µg            | 17                       | -             | 18       | 128                   | 64       |
| Ceftazidime                         | 30µg             | 14                       | 15 – 17       | 18       | 32                    | 8        |
| Aztreonam                           | 10µg             | 15                       | 16 – 21       | 22       | 32                    | 8        |
| Imipenem                            | 10µg             | 13                       | 14 - 15       | 16       | 16                    | 4        |
| <b><u>Aminosides</u></b>            |                  |                          |               |          |                       |          |
| Amikacine                           | 30µg             | 14                       | 15 – 16       | 17       | 32                    | 16       |
| Gentamicine                         | 10µg             | 12                       | 13 – 14       | 15       | 8                     | 4        |
| Tobramycine                         | 10µg             | 12                       | 13 - 14       | 15       | 8                     | 4        |
| <b><u>Quinolones</u></b>            |                  |                          |               |          |                       |          |
| Ciprofloxacine                      | 5µg              | 15                       | 16 – 20       | 21       | 4                     | 1        |
| <b><u>Tétracyclines</u></b>         |                  |                          |               |          |                       |          |
| Tétracycline                        | 30µg             | 14                       | 15 – 18       | 19       | 16                    | 4        |
| <b><u>Autres</u></b>                |                  |                          |               |          |                       |          |
| Chloramphénicol                     | 30µg             | 12                       | 13 – 17       | 18       | 32                    | 8        |
| Rifampicine                         | 30µg             | 14                       | 14 – 18       | 19       | 16                    | 4        |
| Fosfomycine                         | 30µg             | <14                      | -             | >14      | 32                    | 32       |
| Triméthoprime +<br>Sulfaméthoxazole | 1.25/23.7<br>5µg | 10                       | 11 - 15       | 16       | 8/152                 | 2/38     |

Tableau extrait à partir de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS 5<sup>eme</sup> édition 2008

**Annexes 13. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.***

| Antibiotiques testés                                       | Charge de disques | Diamètres critiques (mm) |               |          | CMI critiques (µg/ml) |          |
|--|-------------------|--------------------------|---------------|----------|-----------------------|----------|
|  |                   | résistant                | intermédiaire | sensible | résistant             | Sensible |
| <b><u>B-Lactamines</u></b><br>Peniciline                   | 10 UI             | 28                       | ---           | 29       | <b>B-Lactamane</b>    | 0,12     |
| Oxaciline** - <i>S.aureus</i>                              | 1µg               | 10                       | 11 - 12       | 13       | 4                     | 2        |
| - <i>Staphylocoque coagulæ</i><br>Négative***              |                   | 17                       | ---           | 18       | 0,5                   | 0,25     |
| Cefoxitine<br>- <i>S.aureus</i> et<br><i>s.lugdunensis</i> | 30µg              | 19                       | ---           | 20       |                       |          |
| - <i>staphylocoque à coagulase négative</i>                |                   | 24                       | ---           | 25       |                       |          |
| <b><u>Aminosides</u></b><br>Gentamicine                    | 10µg              | 12                       | 13 – 14       | 15       | 8                     | 4        |
| Amikacine  | 30µg              | 14                       | 15 – 16       | 17       | 32                    | 16       |
| Kanamycine   | 30µg              | 13                       | 14 - 17       | 18       | 25                    | 6        |
| <b><u>Macrolides</u></b><br>Erythromycine                  | 15µg              | 13                       | 14 – 22       | 23       | 8                     | 0.5      |
| Clindamycine   | 2µg               | 14                       | 15 – 20       | 21       | 4                     | 0,5      |
| <b><u>Glycopeptides</u></b><br>Vancomycine                 | 30µg              | ---                      | ---           | 15       | ---                   | 2        |
| Teicoplanine   | 30µg              | 10                       | 11 - 13       | 14       | 32                    | 8        |
| <b><u>Quinolones</u></b><br>Ofloxacine                     | 5µg               | 14                       | 15 - 17       | 18       | 4                     | 1        |
| <b><u>Autres</u></b><br>Triméthoprime + sulfaméthazole     | 1.25/23.75 µg     | 10                       | 11 - 15       | 16       | 8/152                 | 2/38     |
| Rifampicine  | 5µg               | 16                       | 17 - 19       | 20       | 4                     | 1        |
| Tétracycline   | 30µg              | 14                       | 15 – 18       | 19       | 16                    | 4        |
| Chloramphénicol  | 30µg              | 12                       | 13 – 17       | 18       | 32                    | 8        |

Tableau extrait du document m 100 – s16 vol. 26, n°3. 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ; sixteenth informational supplement .

\*\* incubé pendant 24h.

\*\*\* autre que *s. lugdunensis*

Annexe 14 : Classe de résistance après lecture d'antibiogramme *des Entérobactéries*

| Les malades                                 | Malade 1                |               | Malade 2                      |               | Malade 3      |               | Malade 4      |               | Malade 5                    |               |
|---|-------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| ATB<br>Les espèces                          | <i>Serratia ficaria</i> | <i>E.coli</i> | <i>Enterobacter amnigenus</i> | <i>E.Coli</i> | <i>E.Coli</i> | <i>E.Coli</i> | <i>E.Coli</i> | <i>E.Coli</i> | <i>Citrobacter freundii</i> | <i>E.coli</i> |
| Ampicillin(510ug) AMP                       | R                       | R             | R                             | R             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Amoxicillin+Acide clavulanique(20/10ug) AMP | R                       | R             | R                             | R             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Azéronam (30u) ATM                          | R                       | R             | R                             | S             | R             | S             | I             | R             | R                           | R             |
| Céfalotine (30u) KF                         | R                       | R             | R                             | R             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Céfazoline (30ug) KZ                        | R                       | R             | R                             | R             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Céfoxitine (30ug) FOX                       | R                       | R             | R                             | S             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Céfotaxime (30ug) CTX                       | I                       | R             | R                             | S             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Céftazidime (30ug) CAZ                      | R                       | R             | R                             | S             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Imipénème (10ug) ETP                        | S                       | S             | S                             | S             | S             | S             | S             | S             | S                           | S             |
| Ertapénème (10ug) ETP                       | R                       | S             | S                             | S             | S             | S             | S             | S             | S                           | S             |
| Amikacine (30ug) AK                         | S                       | R             | S                             | S             | S             | S             | I             | S             | I                           | S             |
| Gentamicine (10ug) CN                       | S                       | R             | R                             | S             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Acide nalidixique (5ug) NA                  | R                       | S             | S                             | S             | S             | S             | S             | S             | S                           | S             |
| Ciprofloxacine (5ug) CIP                    | S                       | S             | S                             | S             | S             | S             | S             | S             | S                           | S             |
| Chloramphénicol (30ug) C                    | S                       | R             | S                             | S             | R             | R             | R             | R             | R                           | R             |
| Furanes (30ug)F                             | S                       | S             | S                             | S             | S             | S             | S             | S             | S                           | S             |
| Cotrimoxazole(1,25/23,75ug) SXT             | S                       | R             | R                             | S             | R             | R             | I             | R             | R                           | R             |
| Fosfomycine(200ug)FF                        | S                       | R             | R                             | S             | R             | R             | S             | S             | S                           | S             |
| Colistine (10ug) CT                         | S                       | S             | R                             | S             | S             | S             | S             | S             | S                           | S             |

**S : sensible**

**I : intermédiaire**

**R : Résistante**

# Fiche de malade

- **Nom :**
- **Prénom :**
- **Sexe :**
- **Age :**
- **Domicile :**
- **Wilaya :**
- **Début de la maladie :**
- **La cause de la maladie :**
- **Autre maladies associés :**
- **Nombre de dialyse :**
- **Type de dialyse :**
- **Autre traitement :**
- **Groupage :**
-

# *Résumés*

## Analyse bactériologique des liquides d'hémodialyse de l'unité de dialyse de L'EPH Ali Boushaba Khenchela

### Résumé :

L'insuffisance rénale chronique correspond à une altération progressive et permanente des fonctions rénales. Longtemps silencieuse, elle induit pourtant des lésions anatomiques irréversibles qui, au stade terminal, mettent la vie de la personne en danger.

L'ensemble des liquides circulant lors d'une épuration extra-rénale, liquides primitifs (eau, concentré) et dialysat, peuvent être l'objet de contamination microbienne plus ou moins importante

Notre objectif est l'évaluation de la qualité bactériologique des liquides de dialyse du service d'hémodialyse et d'insuffisance rénale **EPH Boushaba Ali** wilaya de **Khenchela** de contribuer à isoler les bactéries qui provoquent la contamination de ces liquides et enfin étudier les principales caractéristiques de ces contaminants et connaître les profils de résistance aux antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.

Durant notre période d'étude nous avons prélevé **02** échantillons du liquide de dialyse pré membrane (site 1) et **09** échantillons du liquide de dialyse post membrane (site 2), le dénombrement des germes de contamination fécale pour les échantillons du **site 1** par la technique de filtration montre un niveau de contamination important par les coliformes totaux et fécaux > 100 CFU/mL alors qu'il est nul pour les Entérocoques fécaux

Les résultats de l'examen bactériologique des échantillons du **site 2** mettent en évidence et de façon systématique la présence des Bacilles Gram négatif : *Escherichia coli*, *Enterobacter amnigenus*, *Serratia fecaria*, *Citrobacter Freundii* et *Pseudomonas aeruginosa* et des Cocci Gram positif *Staphylococcus sp* à coagulase négatif, ayant acquis des caractères inquiétants de résistance aux antibiotiques surtout aux bêta-lactamines, aminosides et fluoroquinolones. Ces bactéries présentent un niveau de multirésistance alarmant surtout souches bactériennes multirésistantes productrices de **Beta Lactamase à Spectre Étendu (BLSE)**

Cette étude va donc nous permettre de préciser les points critiques à surveiller en pratique courante dans une installation d'hémodialyse (système d'épuration de l'eau, concentré générateur de dialyse ....) pour assurer dans l'intérêt du malade une bonne qualité bactériologique du dialysat.

**Mots clés :** Insuffisance rénale chronique, épuration extra rénale, liquide de dialyse, Caractérisation bactériologique, résistance aux antibiotiques.

---

## Bacteriological analysis of liquids of haemodialysis of the Dialysis Unit of the EPH Ali BoushabaKhenchela

### Summary

The Chronic Renal Failure corresponds to a progressive alteration and permanent kidney functions. Long silent, it induces yet of anatomical lesions irreversible which, at the terminal stage, put the life of the person in danger.

The whole of circulating liquids during a purification extra-renal, primitive liquids (water, concentrated) and dialysate, may be the object of microbial contamination more or less important

Our goal is the evaluation of the bacteriological quality in dialysis fluids of the service of haemodialysis and renal insufficiency **EPH Boushaba Ali** wilaya of **Khenchela** to contribute to isolate bacteria that causes the contamination of these liquids and finally to study the main characteristics of these contaminants and know the profiles of resistance to antibiotic by the realization of a sensitivity.

During our period of study we collected **02** samples of the liquid of Pre dialysis membrane (site 1) and **09** samples of the liquid of dialysis membrane post (site 2), the enumeration of the germs of fecal contamination for the samples from **site 1** by the technique of filtration shows a level of contamination important by total and faecal coliforms > 100 CFU/mL while it is zero for fecal enterococci

The results of bacteriological examination of samples of the **site 2** Highlight and systematic manner the presence of bacteria Gram negative: *Escherichia coli*, *Enterobacteramnigenus*, *Serratiafecaria*, *Citrobacterfreundii* and *Pseudomonas aeruginosa* and Gram-positive cocci *Staphylococcus sp* coagulase negative, having acquired of the characters worrisome of resistance to antibiotics especially to betalactamines, aminoglycosides and fluoroquinolones. These bacteria have a level of multidrug resistance is particularly alarming bacterial strains producing multidrug resistant of beta lactamase spectre Extended (ESBL)

This study will therefore allow us to clarify the critical points to monitor in common practice in an installation of haemodialysis (system of purification of water, concentrated generator of dialysis ....) to ensure in the interest of the patient a good bacteriological quality of the dialysate.

**Key words:** chronic renal failure, purification renal extra, liquid dialysis, Bacteriological characterization, resistance to antibiotics.

نهاية يعرض حياة هو تدريجي وظيفة . طويلة، يدفع التشريحية

جميع السوائل التي تستعمل في التصفية ، هي سوائل أولية ( - ) و الدياليزا التي قد تخضع لتلوث ميكروبي كبير

الهدف من الدراسة هو تقييم النوعية البكتيرية لسوائل التصفية لوحدة تصفية الدم على مستوى مستشفى علي بوسحابة لولاية  
وذلك بعزل البكتيريا التي تؤدي الى تلوث هذه السوائل الأخير أهم مقاومة البكتيريا  
للمضادات الحيوية وذلك بتقنية Antibigramme

02 عينات غسل قبل التصفية ( 1 ) 09 عينات غسل  
التصفية ( 2 ). حيث وصل عدد الجراثيم في السائل قبل التصفية بتقنية التصفية عبر مصفاة خاصة  
Les coliformes totaux et fécaux / 100 وحدة ميكروبية /

Les Entérocoques fécaux

البكتريولوجي لعينات 2 بين منهجي عصيات سلبية

*Escherichia coli, Enterobacter amnigenus, Serratia fecaria, Citrobacter Freundii et Pseudomonas aeruginosa*

وسبقيات موجبة الغرام *Staphylococcus sp* عديمة التخثر التي قادرة على كسب خاصية لمقاومة المضادات الحيوية  
bétalactamines. aminosides et fluoroquinolones. بعض هذه البكتيريا لديها خاصية تعدد المقاومة  
خاصة بكتريا BLSE

هذه بتوضيح النقاط المهمة التي يجدر مراقبتها في الأجهزة التي تستعمل لتصفية الدم لمرضى القصور  
( برنامج تنقية الماء المستعمل للتصفية – - آلة التصفية) لضمان نوعية تصفية جيدة للمريض.

: وتنقية ، إضافية، غسل ، الخصائص البكتيرية الحيوية

Nom : ZEDIRA Prénom : Hadjer  
Nom : KARKAR Prénom : Fahima

Date de soutenance : 31/05/2016

MASTER ACADEMIQUE

**Analyse bactériologique des liquides d'hémodialyse de l'unité de dialyse de  
L'EPH Ali Boushaba Khenchela**

**Résumé :**

L'insuffisance rénale chronique correspond à une altération progressive et permanente des fonctions rénales. Longtemps silencieuse, elle induit pourtant des lésions anatomiques irréversibles qui, au stade terminal, mettent la vie de la personne en danger.

L'ensemble des liquides circulant lors d'une épuration extra-rénale, liquides primitifs (eau, concentré) et dialysat, peuvent être l'objet de contamination microbienne plus ou moins importante

Notre objectif est l'évaluation de la qualité bactériologique des liquides de dialyse du service d'hémodialyse et d'insuffisance rénale **EPH Boushaba Ali** wilaya de **Khenchela** de contribuer à isoler les bactéries qui provoquent la contamination de ces liquides et enfin étudier les principales caractéristiques de ces contaminants et connaître les profils de résistance aux antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.

Durant notre période d'étude nous avons prélevé **02** échantillons du liquide de dialyse pré membrane (site 1) et **09** échantillons du liquide de dialyse post membrane (site 2), le dénombrement des germes de contamination fécale pour les échantillons du **site 1** par la technique de filtration montre un niveau de contamination important par les coliformes totaux et fécaux  $> 100$  CFU/mL alors qu'il est nul pour les Entérocoques fécaux

Les résultats de l'examen bactériologique des échantillons du **site 2** mettent en évidence et de façon systématique la présence des Bacilles Gram négatif : *Escherichia coli*, *Enterobacter amnigenus*, *Serratia fecaria*, *Citrobacter Freundii* et *Pseudomonas aeruginosa* et des Cocci Gram positif *Staphylococcus epidermis* à coagulase négatif, ayant acquis des caractères inquiétants de résistance aux antibiotiques surtout aux bêta-lactamines, aminosides et fluoroquinolones. Ces bactéries présentent un niveau de multirésistance alarmant surtout souches bactériennes multirésistantes productrices de **Beta Lactamase à Spectre Étendu (BLSE)**

Cette étude va donc nous permettre de préciser les points critiques à surveiller en pratique courante dans une installation d'hémodialyse (système d'épuration de l'eau, concentré générateur de dialyse ....) pour assurer dans l'intérêt du malade une bonne qualité bactériologique du dialysat.

**Mots clés :** Insuffisance rénale chronique, épuration extra rénale, liquide de dialyse, Caractérisation bactériologique, résistance aux antibiotiques.

**Président :** Mme BENDJEMANA K. (M.C)

Univ. Abbès Laghrour – Khenchela

**Encadreur :** Melle CHORFI K. (M.A.B)

Univ. Abbès Laghrour – Khenchela

**Examineur :** Melle YAKHLEF W. (M.A.B)

Univ. Abbès Laghrour – Khenchela