

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



UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat es Sciences

Spécialité: Biologie

Option: Microbiologie

THEME

EXPLORATION PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS ANTI-NOSOCOMIAUX DE QUELQUES ASTERACEAE MEDICINALES DU SAHARA ALGERIEN

Présentée par **BERBAOUI Habiba**

Soutenu le

Président	OULD EL HADJ Mohamed Didi	Pr.	UKM- Ouargla
Examineur	BOURAS Noureddine	Pr.	Univ- Ghardaïa
Examineur	BOUAL Zakaria	MCA.	UKM- Ouargla
Examineur	BOULENOUAR Noureddine	MCA.	CUNB- El Bayadh
Directeur de thèse	CHERITI Abdelkrim	Pr.	UTM- Béchar
Co-Directeur	OULD EL HADJ-KHELIL Aminata	Pr.	UKM- Ouargla

Année Universitaire : 2019/2020

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail Je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir guidé et donné la force de forger mon chemin.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au niveau du Laboratoire de Phytochimie et Synthèse Organique université Tahri Mohamed de Bechar, en collaboration avec le Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides université Kasdi Merbah de Ouargla. Nos remerciements s'adressent particulièrement au directeur de thèse Monsieur le Professeur CHERITI Abdelkrim, directeur du laboratoire de Phytochimie et Synthèse Organique université Tahri Mohamed de Bechar, d'avoir dirigé et orienté ce travail avec rigueur et pertinence, que nous remercions également avec gratitude pour l'accueil au sein de l'équipe de chercheurs du laboratoire de Phytochimie et Synthèse Organique.

Nous tenons à exprimer notre grande estime et notre profonde gratitude à la co-directrice de thèse Madame le Professeur OUALD EL HADJ KHELIL Aminata, laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides université Kasdi Merbah de Ouargla, d'avoir dirigé ce travail avec patience, encouragements et conseils qui ont été d'un grand apport à la réalisation de ce travail.

La Présidence du Jury de la présente thèse est honorée par Monsieur le Professeur OULD ELHADJ Mohamed Didi directeur du laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides université Kasdi Merbah de Ouargla. Nous tenons vivement à vous assurer notre sincère et profonde estime et gratitude.

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur BOURAS Nouredine université de Ghardaïa d'avoir eu l'amabilité d'accepter de juger ce travail que nous souhaitons sera enrichis avec vos honorables orientations.

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent à Monsieur BOUAL Zakaria Maître de conférence "A" université Kasdi Merbah de Ouargla d'avoir eu l'amabilité d'accepter de juger ce travail qui sera enrichis avec vos précieux conseils.

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent également à Monsieur BOULENOUAR Nouredine, Maître de conférence "A", centre universitaire Nour El Bachir d'El Bayadh, d'avoir accepté de juger ce travail qui sera enrichis avec vos précieuses orientations.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements au personnels hospitaliers des structures investiguées, le personnel du laboratoire de recherche LPSO particulièrement Bouziani Zahra, le personnel des laboratoires pédagogiques de biologie et chimie université de Bechar, ainsi que le responsable et personnel du laboratoire d'analyses médicales du Dr Benchaïb pour l'aide apportée. Nous remercions tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à l'élaboration de ce modeste travail.

DÉDICACES

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL

À

MON PÈRE ET MA MÈRE QUI N'ONT JAMAIS CESSÉ DE ME SOUTENIR ET
POUR QUI J'ÉPROUVE AMOUR ET RESPECT

À

MON MARI QUI À TOUJOURS ÉTÉ À MES COTÉS

À

MA FILLE IMANE QUI ME COMBLE LE CŒUR DE JOIE

À

MES SŒURS ET FRÈRES QUE JE CHÉRIE

À

KADDOUR BEKHADRA

ET

TOUS CEUX QUI M'ONT TENDUS LA MAIN

MERCI

Exploration phytochimique des extraits anti-nosocomiaux de quelques *Astéraceae* médicinales du Sahara Algérien

Résumé

La présente étude a pour objectif d'évaluer les effets antimicrobiens des extraits de plantes médicinales appartenant à la pharmacopée du sud-ouest algérien sur des souches nosocomiales bactériennes et fongiques et de caractériser chimiquement les fractions les plus actives afin d'identifier leurs molécules bioactives.

L'enquête réalisée, auprès de cinq structures hospitalières du sud-ouest algérien situées dans quatre wilayas, concernant les modalités de désinfection, de préparation et de traitements des déchets et du linge, ainsi que l'évaluation de la qualité microbiologique de l'environnement hospitalier ; air, surfaces et dispositifs médicaux, a révélé que l'ensemble des structures hospitalières investiguées présentent des taux de niveaux cible très réduit dont les valeurs mettent la quasi-totalité des services en état d'action et d'alerte, fait qui nécessite, impérativement, l'instauration d'actions correctives que nous avons établi et proposé dans la présente étude. Nous avons mis en évidence un ensemble de groupes microbiens dont les taux les plus élevés étaient représenté par les cocci Gram positif avec 59% et les moisissures avec 85,72%.

L'exploration du portage des souches du genre *Pseudomonas sp* et *Staphylococcus aureus* auprès du personnel hospitalier et celle du dysfonctionnement du complexe *agr* chez les souches de *S. aureus* isolées a mis en évidence des marqueurs prédictifs de la résistance à la méthicilline.

L'enquête ethnopharmacologique a révélé l'usage considérable des espèces appartenant aux familles des *Asteraceae* et des *lamiaceae*, d'où le choix porté sur l'utilisation des parties aériennes de cinq espèces appartenant à la famille des *Asteraceae*: *Bubonium graveolens*, *Cotula cinerea*, *Launaea arborescence* *Launaea nudicaulis*, et *Warionia saharae*. *C. cinerea* a montré le taux d'activité le plus élevé d'une valeur de 50.25%.

Les extraits HCl et aqueux des espèces étudiées ont donné les résultats les plus importants, dont les valeurs sont respectivement de 45.6% et 84,8% . Ces extraits ont montré un effet antibactérien nettement plus prononcé que l'effet antifongique.

L'extrait aqueux de *C. cinerea* fut très actif sur les souches fongiques nosocomiales. Les masses minimales inhibitrices évaluées contre *C. albicans* sont comprises entre 0.65mg/disque pour *C. cinerea* et 1.5mg/disque pour *L. nudicaulis* et *L. arboresens*. Les taux moyens d'inhibition fongique sont compris entre 21.27% et 73.53% respectivement pour *L. nudicaulis* et *C. cinerea vis à vis* des souches *d'Aspergillus flavus* et entre 13.71% et 73.63% pour *L. arboresens* et *C. cinerea vis à vis des souches d'Aspergillus niger*. Les masses minimales inhibitrices obtenues pour les souches nosocomiales de *S. aureus* sont comprises entre 1.10^{-3} g et 5.10^{-4} g.

Les fractions purifiées à partir des extraits aqueux des cinq espèces végétales investiguées ont fait l'objet d'une évaluation de l'effet antibactérien et antifongique, et d'une caractérisation chimique réalisée par chromatographie sur couche mince, chromatographie liquide à haute performance, analyse spectrale infrarouge et analyses spectrales de résonance magnétique RMN Proton ^1H et RMN ^{13}C qui a mis en évidence la richesse des espèces végétales étudiées en molécules bioactives polaires ayant des λ max variables entre 280 et 350 et des temps de rétention compris entre 6,100 et 7, 691min. La caractérisation chimique d'une fraction bioactive obtenue a révélé la présence d'un alcaloïde pyrrolizidinique auquel nous avons attribué cinq structures présentant des similitudes relatives aux résultats obtenus pour les analyses de résonance magnétique RMN ^1H et RMN ^{13}C ; Cette molécule fut isolée à partir de l'extrait aqueux de *L. arborescens* et s'est montrée bioactive sur *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231.

Les résultats obtenus laissent apparaître une importante flore nosocomiale au sein des sites et matériaux investigués, nécessitant une intervention rapide et efficace à différents niveaux. L'utilisation des extraits aqueux des espèces végétales spontanées choisies peut constituer une bonne alternative de lutte afin d'éviter l'usage excessif des produits anti microbiens pouvant conduire à l'apparition de multi résistance.

الاستكشاف الكيميائي النباتي لمستخلصات مضادة لعدوى المستشفيات لبعض النباتات من فصيلة النجميات من الصحراء الجزائرية

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثيرات المضادة للميكروبات من مستخلصات النباتات الطبية التابعة للنباتات المستعملة للعلاج في جنوب غرب النج مير على سلالات المستشفيات الجرثومية والفطرية وتميز كيميائيا الأجزاء الأكثر نشاطا لتحديد جزيئاتها النشطة بيولوجيا.

نقد الاستطلاع بين خمسة مستشفيات في جنوب غرب الجزائر تقع في أربع ولايات فيما يتعلق بطرق التطهير وإعداد ومعالجة النفايات وبياضات المستشفى وتقييم الجودة الميكروبيولوجية لبيئة المستشفى، الهواء، السطوح، الأجهزة الطبية كشفت أن جميع هياكل المستشفيات التي تم فحصها لديها مستويات مستهدفة منخفضة للغاية والتي تضع قيمها جميع الخدمات تقريباً في حالة تأهب وتنبيه، حقيقة تستلزم اتخاذ إجراءات تصحيحية أنشأناها واقتراحناها في هذه الدراسة. لقد عزلنا مجموعات ميكروبية مختلفة مع أعلى نسب للمكورات إيجابية الجرام بنسبة 59٪ والعفن بنسبة 85.72٪.

استكشاف نقل سلالات الجنس بسودوموناس والمكورات العنقودية الذهبية لموظفي المستشفى ودراسة الخلل الوظيفي للمجمع الجيني *agr* أظهر علامات تنبؤية لمقاومة الميثيسيلين في ما يخص سلالات المكورات العنقودية الذهبية المعزولة

كشفت التحقيق في علم الأدوية العرقي عن الاستخدام الكبير للأنواع التي تنتمي لفصيلة النجميات و الشفويات، ومن هنا كان اختيار استخدام الأجزاء الجوية من خمسة أنواع تنتمي إلى عائلة أستراسيا: *B.graveolens*، *C. cinerea*، *L. arborescens*، *L. nudicaulis* و *W. saharae*. أظهرت *C. cinerea* أعلى معدل نشاط قدره 50.25٪. أعطى حمض الهيدروكلوريك والمستخلصات المائية للأنواع التي تمت دراستها أهم النتائج، قيمها على التوالي 84.8٪ و 45.6٪. وأظهرت هذه مستخلصات تأثير مضاد للبكتيريا أكبر بكثير من تأثير مضاد للفطريات.

كان المستخلص المائي لـ *C. cinerea* نشطاً جداً على سلالات المستشفيات الفطرية. يتراوح الحد الأدنى من الكتلة المثبطة المستخدم ضد *C. albicans* من 0.65 مجم / قرص لـ *C. cinerea* إلى 1.5 مجم / قرص لـ *L. nudicaulis* و *L. arborescens*. يتراوح متوسط معدلات تثبيط الفطريات بين 21.27٪ و 73.53٪ على التوالي لـ *L. nudicaulis* و *C. cinerea* ضد سلالات *Aspergillus flavus* وبين 13.71٪ و 73.63٪ لـ *L. arborescens* و *C. cinerea* ضد سلالات *Aspergillus niger*. تركيز الحد الأدنى من الكتلة المثبطة المستخدم ضد سلالات المستشفيات من المكورات العنقودية الذهبية يتراوح بين 1.10^{-3} جم و 5.10^{-4} جم.

تعرضت الكسور المنقات من المستخلصات المائية للأنواع النباتية الخمسة التي تم فحصها لتوصيف كيميائي من خلال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، تحليل كروماتوجرافي سائل عالي الأداء، التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء والتحليل الطيفي للرنين المغناطيسي بروتون الرنين المغناطيسي النووي ^1H و ^{13}C الرنين المغناطيسي النووي الكربون التي أبرزت ثروة الأنواع النباتية التي تمت دراستها في الجزيئات النشطة بيولوجيا القطبية بوجود متغير λ أقصى ما بين 280 و 350 ومرات الاحتفاظ بين 6.100 و 7.61 دقيقة.

كشفت التوصيف الكيميائي لكسر نشط حيويًا تم الحصول عليه عن وجود قلويد بيروليسيديين الذي قمنا بتعيين خمسة هياكل تقدم أوجه تشابه بالنسبة للنتائج التي تم الحصول عليها لتحليل المنطق المغناطيسي ^1H NMR و ^{13}C NMR؛ تم عزل هذا الجزيء عن المستخلص المائي لـ *L. arborescens* وقد ثبت أنه فعال حيويًا ضد *S. aureus* ATCC 25923 و *C. albicans* ATCC 10231.

تكشف النتائج التي تم الحصول عليها عن وجود عدد كبير من الميكروبات في المستشفيات داخل المواقع والمعدات التي تم فحصها، تتطلب تدخل سريع وفعال على مختلف المستويات. قد يكون استخدام المستخلصات المائية للأنواع النباتية التلقائية المختارة بديلاً جيداً للتحكم من أجل تجنب الاستخدام المفرط للمنتجات المضادة للميكروبات التي يمكن أن تؤدي إلى ظهور مقاومة متعددة.

Phytochemical exploration of anti-nosocomial extracts of some medicinal Asteraceae from the Algerian Sahara

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antimicrobial effects of medicinal plant extracts belonging to the pharmacopoeia of southwestern Algeria on bacterial and fungal nosocomial strains and to chemically characterize the most active fractions in order to identify their bioactive molecules.

The survey was carried out among five hospital structures in South-West Algeria located in four wilayas concerning the methods of disinfection, preparation, and treatment of waste and linen as well as the evaluation of the microbiological quality of the hospital environment; Air, surfaces, medical devices revealed that all the investigated hospital structures have very low levels of target levels whose values put almost all services in a state of action and alertness, a fact that imperatively requires implementation of corrective actions that we have established and proposed in this study. We found a set of microbial groups with the highest rates being Gram positive cocci with 59% and mold with 85.72%.

Exploration of the carriage of *Pseudomonas sp* and *Staphylococcus aureus* strains among hospital staff and of *agr* complex dysfunction in isolated *S. aureus* strains revealed predictive markers of methicillin resistance.

The ethnopharmacological investigation revealed the considerable use of species belonging to the families Asteraceae and Lamiaceae, hence the choice to use the aerial parts of five species belonging to the Asteraceae family: *B. graveolens*, *C. cinerea*, *L. arboresence*, *L. nudicaulis*, and *W. saharae*. *C. cinerea* showed the highest activity rate of 50.25%.

The HCl and aqueous extracts of the species studied gave the most important results, with values of 84.8% and 45.6% respectively. These extracts showed a markedly greater antibacterial effect than the antifungal effect.

The aqueous extract of *C. cinerea* was very active on nosocomial fungal strains. The minimum inhibitory mass evaluated for *C. albicans* ranged from 0.65 mg / disc for *C. cinerea* to 1.5 mg / disc for *L. nudicaulis* and *L. arboresens*. The average fungal inhibition rates are between 21.27% and 73.53% respectively for *L. nudicaulis* and *C. cinerea* against strains of *Aspergillus flavus* and between 13.71% and 73.63% for *L. arboresens* and *C. cinerea* against strains of *Aspergillus niger*. The minimum inhibitory mass obtained for nosocomial strains of *S. aureus* between 1.10^{-3} g and 5.10^{-4} g.

The fractions purified from the aqueous extracts of the five plant species investigated were subjected to a chemical characterization performed by thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, infrared spectral analysis and magnetic resonance spectral analyzes NMR proton ^1H and NMR carbon ^{13}C which has highlighted the richness of the plant species studied in polar bioactive molecules with variable λ max between 280 and 350 and retention times between 6.100 min and 7.691 min.

The chemical characterization of a bioactive fraction obtained revealed the presence of a pyrrolisidine alkaloid to which we have assigned five structures presenting similarities relative to the results obtained for the analyzes of magnetic reasoning ^1H NMR and ^{13}C NMR; This molecule was isolated from the aqueous extract of *L. arborescens* and has been shown to be bioactive on *S. aureus* ATCC 25923 and *C. albicans* ATCC 10231.

The results obtained reveal a large nosocomial flora within the sites and materials investigated, requiring rapid and effective intervention at different levels. The use of aqueous extracts of the selected spontaneous plant species may be a good alternative for control in order to avoid excessive use of antimicrobial products that can lead to the appearance of multi-resistance.

Publications et Communications

Cette Thèse à fait l'objet de publications et communications nationales et internationales:

- Berbaoui , H. Cheriti, A. & Ould El Hadj-Khelil, A. **Correlation between the phenotypic expression of dysfunction of the *agr* system and multidrug resistance of *Staphylococcus aureus* strains.** EurAsian Journal of BioSciences. 2019. 13(2): 1369-1374

<http://www.ejobios.org/volume-13/issue-2>

- Berbaoui , H. Cheriti, A. & Ould El Hadj-Khelil, A. **Antibacterial Effect of Some Asteraceae of Southern Algeria on Nosocomial Strains of the Genus *Staphylococcus*.** Journal of Natural Products Chemistry & Research. 2018. 6 (1). 5p.

DOI: 10.4172/2329-6836.1000302

- Berbaoui , H. Cheriti, A. & Ould El Hadj-Khelil, A. **Répartition et polymorphisme des souches nosocomiales du genre *Staphylococcus* isolées dans la région de Bechar.** PhytoChem & BioSub Journal. 2014. 8(4): 253-257

DOI:10.163.pcbjsj/2014.8.4.253

Communication Orale

- Berbaoui , H. Cheriti, A. & Ould El Hadj-Khelil, A. **Qualité de l'air ambiant et de l'eau des humidificateurs des incubateurs du service de néonatalogie de l'hôpital Mohammed Boudiaf de Bechar.** Congrès International : *Eaux, Matériaux et Environnement, SINEM.* 2013 Sidi-Bel-Abbès Algérie.

Communication par affiche

- Berbaoui , H. Cheriti, A. & Ould El Hadj-Khelil, A. **Répartition des souches nosocomiales du genre *Staphylococcus* et polymorphisme de souches de *Staphylococcus aureus* isolé, en milieu hospitalier, sur gélose au sang.** Séminaire national: Algerian Days on Natural Products. 2013 Bechar Algérie.

LISTES

ABRÉVIATIONS

TABLEAUX

FIGURES

PHOTOS

DIAGRAMMES

Liste des Abréviations

AIP :	Alcool isopropylique
ATCC :	American Type Culture Collection
BMR :	Bactéries Multi-Résistantes
BLSE :	Beta Lactamas à Spectre Elargie
CCM :	Chromatographie sur Couche mince
C.CLIN :	Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales
CDC :	Centers for Diseases Control and Prevention
CHU :	Centre Hospitalo Universitaire
CPG :	Chromatographie en phase gazeuse
CYA :	Czapek Yeast Agar
DO :	Densité Optique
G25N :	25% Glycérol Nitrate Agar
GISA :	Glycopeptide intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
HCov :	Corona Virus Humain
IN :	Infection Nosocomiale
IR :	Infra Rouge
MA1 :	Méthode Air 1
MD :	Méthode directe
MDT :	Méthode directe avec usage du Tween
ME :	Méthode avec étape d'enrichissement
MET :	Méthode avec étape d'enrichissement et usage du Tween
MEA :	Malt Extract Agar
MRSA :	<i>Staphylococcus aureus</i> methicilino-résistant
MERS-Cov :	Middle East Respiratory Syndrome - Corona Virus
NCCLS :	Comité national des Normes pour Laboratoires Cliniques Standard
nCoV / SARS-CoV-2 :	Nouveau Corona Virus/ Syndrome Respiratoire Aigu Sévère 2
NS _{NC} :	Nombre de services ayant atteint le niveau cible
NS _T :	Nombre total des services investigués
NV :	Norovirus
Onco :	Oncologie
ORL :	Oto-rhino-laryngologie
PA :	Alcaloïde Pyrrolizidinique

PSM : **P**oste de sécurité **m**icrobiologique
Rf : **R**apport **F**rontal
RMN ¹H: **R**ésonnance **m**agnétique **p**roton ¹H
RMN ¹³C: **R**ésonnance **m**agnétique **c**arbone ¹³C
SHA : **S**olution **H**ydro **A**lcoolique
SMAC : **S**tanding **M**édical **A**dvisory **C**ommittee
SARS : **S**yndrome **R**espiratoire **A**igu **S**évère
TMS : **T**étraméthylsilane
TNC_{SH} : **T**aux de **n**iveau **c**ible pour une **s**tructure **h**ospitalière
VISA : **V**ancomycin *intermediate Staphylococcus aureus*
VRSA : *Staphylococcus Aureus* **R**ésistant à la **V**ancomycine

Liste des Tableaux

Numéro du Tableau	Titre	Page
n° I.1	<i>Germes responsables d'infections nosocomiales</i>	06
n° I.2	Germes nosocomiaux les plus fréquemment rencontrés	07
n° I.3	Classement des dispositifs médicaux et niveau d'entretien requis	14
n° III.A.1	Structures hospitalières investiguées	28
n° III.A.2	Questionnaire global de collecte de données administratives : enquête nosocomiale	29
n° III.A.3	Nombre de services investigués par structures hospitalières	30
n° III.A.4	Conditions opératoires pour les prélèvements de surfaces	32
n° III.A.5	Conditions et points de prélèvements des surfaces investiguées au niveau des différentes structures hospitalières	33
n° III.A.6	Conditions opératoires pour les prélèvements de l'air selon la norme ISO14644-1 [97]	34
n° III.A.7	Conditions opératoires des prélèvements selon la norme ISO14644-1 et ISO/DIS 14698-1, modifiées pour le volume d'air au niveau des incubateurs en néonatalogie	35
n° III.A.8	Répartition des différents blocs opératoires investigués	36
n° III.A.9	Normes des niveaux de biosécurité atteints en salle d'intervention chirurgicale	43
n° III.A.10	Limites recommandées de contamination microbiologique de l'Air	43
n° III.A.11	Limites recommandées de contamination microbiologique des surfaces (bio-contamination des surfaces)	44
n° III.A.12	Antibiotiques testés vis à vis des souches du genre <i>Staphylococcus</i>	46
n° III.A.13	Antibiotiques utilisés pour tester les souches de <i>Pseudomonas</i>	49
n° III-B.1	Illustration des structures hospitalières investiguées	55
n° III-B.2	Structures hospitalières investiguées et étude statistique	56
n° III-B.3	Souches nosocomiales mises en évidence à l'aide de la gélose TCSA et la gélose au sang combinées aux différentes méthodes évaluées	57
n° III-B.4	Illustrations des résultats obtenus avec des différences nettes de types et nombre de colonies fongiques obtenus par le biais des différentes méthodes évaluées	61

Liste des Tableaux (Suite)

Numéro du Tableau	Titre	Page
n° III.B.5	Niveau de Biosécurité atteint par structure hospitalière investiguée	63
n° III.B.6	Illustrations de résultats microbiologiques - bactériologiques et mycologiques obtenus et interprétés en niveau d'action.	65
n° III.B.7	Répartition des groupes bactériens mis en évidence selon la coloration de Gram	68
n° III.B.8	Taux de répartition des groupes fongiques les plus fréquemment rencontrés dans l'environnement hospitalier investigués	70
n° III.B.9	Illustration des diverses fructifications mises en évidence par la technique du drapeau et lactophénol Objectif 40X	71
n° III.B.10	Critères microscopiques et phénotypiques obtenus sur divers milieux de culture et différentes températures pour la souches nosocomiales d' <i>Aspergillus niger</i>	73
n° III.B.11	Critères microscopiques et phénotypiques obtenus sur divers milieux de culture et différentes températures pour la souches nosocomiales d' <i>Aspergillus flavus</i> .	74
n° III.B.12	Résultats obtenus pour l'identification des souches de <i>Candida albicans</i>	75
n° III.B.13	Prélèvements environnementaux au niveau des incubateurs pour prématurés en néonatalogie à niveau de risque 4	78
n° III.B.14	Souches bactériennes et fongiques mises en évidence au niveau de l'eau des réservoirs, utilisés pour l'humidification des incubateurs pour prématurés en néonatalogie	80
n° III.B.15	Etude statistique: Taux des causes de mortalité néonatale	81
n° III.B.16	Résultats des prélèvements environnementaux réalisés au niveau des blocs opératoires	82
n° III.B.17	Résultats des prélèvements bactériologiques de l'air et de surface de l'ensemble des services hospitaliers et niveaux atteints selon les limites recommandées de contamination microbiologique	84
n° III.B.18	Résultats des prélèvements mycologiques de l'air et de surfaces de l'ensemble des services hospitaliers et niveau atteints selon les limites recommandées de contamination microbiologique	85

Liste des Tableaux (Suite)

Numéro du Tableau	Titre	Page
n°III.B.19	Critères phénotypiques des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose au sang après 24h d'incubation à 37°C	87
n°III.B.20	Critères phénotypiques des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> après 48h d'incubation sur gélose au sang	87
n°III.B.21	Taux de répartition des Phénotypes obtenus après 24h et 48h d'incubation à 37°C Sur gélose au sang	88
n° III.B.22	Taux de résistance des différents phénotypes exprimés par les souches de <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose au sang	90
n°III.B.23	Résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> exprimée vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques testés	92
n° III.B.24	Résultats de l'exploration de la population du genre <i>Pseudomonas</i> au niveau des mains et fausses nasales du personnel exerçant en milieu hospitalier	94
n° III.B.25	Résistances aux antibiotiques, exprimées par les souches, du genre <i>Pseudomonas</i>	96
n°III.B.26	Taux du risque de contamination relatifs aux étapes suivies pour la préparation des biberons	101
n°III.B.27	Taux de risque de contamination microbienne probable % des points critiques de contamination relevé lors de la préparation de médicament pour chimiothérapie	106
n°III.B.28	Illustration du protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de Néonatalogie	109
n°III.B.29	Taux de risque de contamination microbienne probable % des points critiques de contamination relevé lors de la désinfection des incubateurs pour prématuré	113
n° III.B.30	Structures hospitalières ayant bénéficié d'un suivi de la gestion des déchets	113
n° III.B.31	Étapes suivies pour la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées	114
n° III.B.32	Illustration d'un ensemble de constatation relatives à la gestion des déchets au sein de structures hospitalières investiguées	117
n° III.B.33	Structures hospitalières concernées par le suivi du circuit du linge	120

Liste des Tableaux (Suite)

Numéro du Tableau	Titre	Page
n°III.B.34	Les étapes de gestions du circuit du linge au sein des structures hospitalières	121
n°III.B.35	Actions correctives proposées : Cas d'une structure hospitalière et une désinfection terminale inefficace sur la flore bactérienne	124
n°III.B.36	Action correctives: Cas d'un service de réanimation et de souches de <i>Candida albicans</i>	125
n° III.B.37	Actions correctives : Cas du personnel exerçant au sein de service à air confiné concomitants à des travaux de réfection	126
n°III.B.38	Actions correctives : Cas d'un service de néonatalogie et d'une flore microbienne prélevée à partir de l'air humidifié des incubateurs pour prématurés	128
n°III.B.39	Cas du Bloc opératoire pour ORL et infection inévitable des plaies des malades opérés	130
n° IV.A.1	Lieux de cueillette des plantes étudiées	142
n° IV.A.2	Solvants utilisés pour la réalisation des différents extraits des plantes étudiées	143
n° IV.A.3	Concentration des disques utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne	147
n° IV.A.4	Collections des souches nosocomiales testées	149
n° IV.A.5	Antibiotiques utilisés pour tester la collection de souches N°2	151
n° IV.A.6	Antifongiques testés	158
n° IV.A.7	Limites d'interprétation des résultats de l'antifongigramme	158
n° IV.B.1	familles de plantes recensées : Répartition, parties utilisées et nombre d'organes traités	165
n°IV.B.2	Taux d'usage des formes d'utilisations	167
n° IV.B.3	Résultat du criblage phytochimique	170
n°IV.B.4	Taux d'activité des différents plantes étudiées sur différents groupes microbiens : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures	173
n° IV.B.5	Activité antimicrobienne et nature de l'extrait	175

Liste des Tableaux (Suite)

Numéro du Tableau	Titre	Page
n°IV.B.6	Activité des plantes étudiées sur l'ensemble des souches de <i>Staphylococcus</i> testées	177
n° IV.B.7	Activité antibactérienne exprimée par les extraits de différentes natures sur l'ensemble des souches de <i>Staphylococcus</i> testées	179
n° IV.B.8	Taux de résistance aux familles d'antibiotiques testés	182
n° IV.B.9	masse minimale inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches du genre <i>Staphylococcus</i>	184
n° IV.B.10	Effet antifongique vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce <i>Aspergillus flavus</i> : Taux d'inhibition fongique, Diamètre moyen des colonies et Moyenne du Rythme De croissance mm/24h pour la concentration 0.04g / ml	187
n° IV.B.11	Effet antifongique vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce <i>Aspergillus niger</i> : Taux d'inhibition fongique, Diamètre moyen des colonies et Moyenne du Rythme de croissance mm/24h pour la concentration 0,04 g/ml	189
n°IV.B.12	Illustrations des tailles des colonies obtenues en présence des différents extraits aqueux des plantes étudiées : J7 concentration 0,04mg / ml	191
n°IV.B.13	Activité exprimée par l'amphotéricine B et le fluconazole vis-à-vis des souches nosocomiales de <i>Candida albicans</i>	192
n° IV.B.14	Taux d'activité et zones d'inhibition montrées par les extraits aqueux des plantes testées vis-à-vis des souches nosocomiales de <i>Candida albicans</i> .	193
n°IV.B.15	CMI obtenues pour l'ensemble des extraits aqueux des plantes étudiées exprimées vis-à-vis des souches nosocomiales de <i>Candida albicans</i>	194
n° IV.B.16	Résultat du control de la pureté des fractions obtenues par chromatographie sur couche mince (CCM)	196
n° IV.B.17	Résultats obtenus pour les analyses par chromatographie par chromatographie liquide à haute performance HPLC	197
n° IV.B.18	Etude comparative de l'effet antifongique et antibactérien des fractions purifiées	198

Liste des Tableaux (Suite)

Numéro du Tableau	Titre	Page
n° IV.B.19 :	Attributions des bandes d'absorptions obtenues par le infrarouge de la fraction bioactive <i>La13_{BF}</i>	200
n° IV.B.20	Résultat de l'analyse RMN ¹ H et RMN ¹³ C: fraction bioactive <i>La13_{BF}</i>	203
n° IV.B.21	Structures et formules des molécules proposées	205
n° IV.B.22	Etude comparative des résultats d'analyse RMN ¹³ C avec ceux des molécules proposées	206
n° IV.B.23	Tableau n° IV.B.23 : Etude comparative des résultats d'analyse RMN ¹ H obtenus avec ceux des molécules proposées	207
n °IV.B.24	Molécules bioactives proposées et sources de provenance	208
n° IV.B.25	Tableau regroupant diverses acticités biologiques des PA	209

Liste des Figures

Numéro de la Figure	Titre	Page
n° II.1	Structures chimiques : pyrrolizidine- senkirkine- rétroirsine- sénécionine	21
n°II.2	Structure chimique de la lysocin E	22
n°II.3	Structure d'une Fluoroquinolone	23
n° II.4	Structures chimiques de quelques antibiotiques de la famille des β lactamines	24
n°II.5	Structures chimiques des principaux antifongiques	25
n° II.6	différentes cible s de quelques antibiotiques	26
n°II.7	les différentes cibles des principaux antifongiques	26
n° III.A.1	: Technique du drapeau pour l'identification du genre des souches fongiques	41
n° III.B.1	: Taux des types de colonies bactériennes mises en évidence sur la gélose TCSA et la gélose au sang GS combinés aux quatre méthodes à évaluer	58
n° III.B.2	Taux de types de souches fongiques mises en évidence sur milieu d'isolement Sabouraud associé aux quatre techniques évaluées	60
n° III.B.3	Etude comparative pour l'évaluation de différentes techniques de prélèvement de surface : Bactériens et fongiques	62
n°III.B.4	Taux de souches de <i>Staphylococcus aureus</i> recensées auprès du personnel hospitalier	86
n°III.B.5	Etapes suivies pour la préparation des biberons en Pédiatrie et en néonatalogie	97
n° III.B.6	Etapes générales de la réalisation d'une chimiothérapie	102
n° IV.A.1	Structure chimiques de la Névadensine et de l' acide caféique	136
n° IV.A.2	Structure d'un Composé chimique isolé à partir de <i>Launaea arboresens</i>	138
n° IV.A.3	Structures de composés chimiques isolés à partir de <i>Launaea nudicaulis</i>	139
n° IV.A.4	Structures de composés chimiques isolés à partir de <i>Warionia saharae</i>	141
n° IV.A.5	Technique de l'inhibition de la croissance radiale	156

Liste des Figures (Suite)

Numéro	Titre	Page
n° IV.A.6	Traitement des données de l'analyse spectrale RMN ¹ H et RMN ¹³ C par le logiciel mestREC	160
n° IV.A.7	Arbre de décisions utilisé pour établir des relations relatives à l'activité antibactérienne / antifongique à trois niveaux "RPA- REA- RMA"	162
n° IV.B.1 :	Taux de répartition des catégories sociales questionnées	164
n°IV.B.2	Taux d'usage des parties utilisées relatif au nombre de familles de plantes répertoriées	168
n° IV.B.3	Rendement des extraits aqueux des <i>Astéraceae</i> étudiées	169
n° IV.B.4	Taux d'activité des différents types d'extraits sur la collection de souches nosocomiales n°1 : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures	175
n° IV.B.5	Taux d'activité des plantes étudiées sur une collection de souches nosocomiales du genre <i>Staphylococcus</i>	177
n° IV.B.6	Zones d'inhibition maximales obtenues par les extraits testés des plantes étudiées sur les souches nosocomiales du genre <i>Staphylococcus</i>	178
n°IV.B.7	Répartition des zones d'inhibition obtenues pour chaque solvant utilisé	180
n° IV.B.8	taux de résistance des souches nosocomiales du genre <i>Staphylococcus</i> montrés vis-à-vis de l'ensemble des familles d'antibiotiques testées et des extraits des <i>Asteraceae</i> étudiées	183
n° IV.B.9	Concentration minimale Inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées	185
n° IV.B.10	Moyenne du Rythme De croissance par mm / 24h des souches nosocomiales d' <i>Aspergillus flavus</i> avec différentes concentrations des extraits aqueux des <i>Asteraceae</i> étudiées	186
n° IV.B.11	Taux moyens de l'effet antifongique des extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches d' <i>Aspergillus flavus</i> testées [0.04g / ml]	188
n° IV.B.12	Taux moyens d'inhibition fongique exprimé par chaque plante vis-à-vis d' <i>Aspergillus niger</i>	190
n° IV.B.13	Spectre obtenu par analyse infrarouge de la fraction bioactive <i>La13_{BF}</i>	200

Liste des Figures (Suite)

Numéro	Titre	Page
n° IV.B.14	Spectre RMN ¹ H : Fraction bioactive <i>La13_{BF}</i>	202
n° IV.B.15	Spectre RMN ¹³ C : Fraction bioactive <i>La13_{BF}</i>	202
n° IV.B.16	Résultats de l'arbre de décision à trois niveaux de relations : RPA:1*Plante//activité 2* Solvant//Activité 3* Molécule //Activité	210
n° IV.B.17	Structure d'une pénicilline avant et après l'action d'une β lactamase	212
n° IV.B.18	Régions réactives des quinolones	212

Liste des Photos

Numéro Photo	Titre	Page
n° I.1	Plan du bîmâristân Arghoun à Alep	5
n° III.A.1	Cadrant utilisé pour la réalisatiion des prélèvements des surfaces	30
n° III.A.2	Surface adoptée pour la réalisation des prélèvements de surfaces	33
n° III.A.3	Prélèvement de l'air au sein des incubateurs pour prématurés	35
n° III.A.4	Culture en étoile par écouvillonnage humide [Résultats]	37
n° III.A.5	Dénombrement des colonies à l'aide d'un compteur de colonies	38
n°III.A. 6	Purification des souches nosocomiales isolées	38
n° III.A.7	Technique du drapeau : préparation/ résultat	40
n° III.A.8	Exploration de la population de souches de <i>Staphylococcus aureus</i> au sein du personnel exerçant en milieu hospitalier	44
n° III.A.9	Localisation du cite de Prélèvement par écouvillonnage humide au niveau de la main	45
n° III.A.10	Exploration de la population du genre <i>Pseudomonas</i> au sein du personnel hospitalier	47
n° III.A.11	Amplification par PCR du gène Oprl spécifique au <i>Pseudomonas</i>	48
n° III.B.1	illustrations de résultats obtenus avec des différences nettes de types et nombre de colonies bactériennes obtenus par le biais des différentes méthodes évaluées	59
n °III.B.2	Illustration de différentes colorations de Gram et de différentes colonies bactériennes mises en évidence à l'occasion des prélèvements environnementaux effectués auprès des structures hospitalières investiguées	69
n° III.B.3	Identification d' <i>Aspergillus niger</i> sur milieux d'identification divers et températures d'incubation diverses	73
n° III.B.4	Identification d' <i>Aspergillus flavus</i> sur milieux d'identification divers et températures d'incubation diverses	74
n° III.B.5	Cas particuliers de colonies obtenus : antibiose - regroupement en cercle - présence exclusive d'un seul type de colonie.	75
n° III.B.6	Prélèvements de l'air et des surfaces internes des incubateurs pour prématurés en néonatalogie (a: Air et b: Surface)	77

Liste des Photos (Suite)

Numéro Photo	Titre	Page
n° III.B.7	Réservoir d'eau supposée stérile utilisée pour l'humidification des incubateurs pour prématurés en néonatalogie (a: Incubateur et b: réservoir d'eau)	79
n°III.B.8	Souches de <i>S. aureus</i> mis en évidence au niveau des mains et des fosses nasales du personnel hospitalier prélevé	86
n° III.B.9	Polymorphisme des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> obtenues après 48h d'incubation à 37°C sur gélose au sang	88
n° III.B.10	caractérisation moléculaire du genre <i>Pseudomonas</i> basée sur l'amplification du gène oprI	95
n° III.B.11	Conditions de préparation des biberons	98
n° III.B.12	Lieu de stockage des médicaments de base pour la préparation d'une chimiothérapie	102
n°III.B.13	Illustration de quelques conditions de préparation d'une chimiothérapie	103
n° III.B.14	Illustration de quelques conditions défectueuses rencontrées lors de l'administration d'une chimiothérapie	104
n° IV.A.1	<i>Buboniumgraveolens</i> (LPSO , 2014)	135
n° IV.A.2	<i>Cotula cinerea</i> (LPSO , 2014)	136
n° IV.A.3	<i>Launaea arborescens</i> (LPSO , 2014)	137
n° IV.A.4	<i>Launaea nudicaulis</i> (LPSO , 2014)	138
n° IV.A.5	<i>Warionia saharae</i> (LPSO , 2014)	140
n° IV.A.6	Disques préparés avec différentes concentrations	145
n° IV.A.7	Evaluation de l'antibiorésistance des souches du genre <i>Staphylococcus</i>	151
n°IV.B.1	Illustration des broyats des plantes étudiées	169
n° IV.B.2	Illustration des résultats obtenus pour la concentration minimale inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches du genre <i>Staphylococcus</i>	184
n° IV.B.3	Résultats des CMI obtenues pour les différents extraits aqueux vis-à-vis de souches nosocomiales de <i>Candida albicans</i>	195

Liste des diagrammes et organigrammes

Numéro Diagramme cause-effet	Titre	Page
n° III.A.1	Etat général du diagramme cause/effet utilisé	51
n° III.B.1	Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape du stockage : Préparation biberon	98
n° III.B.2	Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de préparation des biberons	99
n°III.B.3	Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de l'Opération d'allaitement	99
n° III.B.4	Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de Désinfection et Stérilisation des biberons	100
Org. n°III.B.5	Organisation des étapes de préparation d'un biberon en service de Pédiatrie et de néonatalogie	100
n° III.B.6	Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape du stockage: Chimiothérapie	103
n°III.B.7	Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de Préparation d'une chimiothérapie	104
n° III.B.8	Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape d'administration d'une chimiothérapie	105
n° III.B.9	Points critiques de contamination relevé lors de la désinfection des incubateurs pour prématuré	112
Org. n° IV.1	Différents niveaux décisionnels de l'étude bioguidée	163

TABLE DES MATIÈRES

Titres	Pages
Remerciements	I
Résumé	II
ملخص	III
Abstract	IV
Publications et Communications	V
Liste des abréviations	VI
Liste des tableaux	IX
Liste des figures	XV
Liste des Photos	XVI
Liste des diagrammes et organigramme	XX

Table des matieres

Introduction générale	01
-----------------------	----

Partie I

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Environnement hospitalier et infections nosocomiales

Introduction	04
I.1. Hygiène hospitalière	04
I.2. Infections Nosocomiales	05
I.3. Micro-organismes d'intérêt médical	06
I.3.1. Bactéries d'intérêt médical	06
I.3.2. Mycètes d'intérêt médical	07
I.3.3. Virus d'intérêt médical	09
I.3.4. Parasites d'intérêt médical	10
I.4. Lutte et prévention	10

I.5. Plan d'action international de lutte contre la résistance antimicrobienne	11
I.6. Germes nosocomiaux et Polypharmacorésistance	11
I.7. Protocoles de désinfection en milieux hospitaliers	13
I.7.1. Désinfection de l'air	13
I.7.2. Désinfection des Surfaces	13
I.7.3. Désinfection de dispositifs médicaux	14
I.7.3.1. Désinfection des incubateurs pour nouveau-nés et prématurés	14
I.8. Désinfection des mains	15
Conclusion	17

Chapitre II Plantes médicinales et leurs action sur les souches nosocomiales

II.1. Généralités sur les plantes médicinales	18
II.1.1. Plantes médicinales et ethnobotanique	18
II.1.2. Usage des plantes médicinales en milieux hospitaliers	19
II.1.3. Composants bioactifs des plantes utilisées en thérapeutique	19
II.1.4. Particularité des Astéraceae : Composition et action	20
II.2. Polypharmacorésistance	22
Conclusion	27

Partie II

Etude Expérimentale

Chapitre III Structures hospitalières et infections nosocomiales au sud ouest Algérien

III.A METHODOLOGIE ET MATERIELS	28
III.A.1. Structures hospitalières investiguées	28
III.A.2. Collecte de données	28
III.A.3. Etude de la qualité microbiologique des environnements hospitaliers investigués	29
III.A.3.1. Etude de la qualité microbiologique des surfaces des structures	30

hospitalières

III.A.3.1.1. Choix de la technique de prélèvement de surfaces	30
III.A.3.1.2. Etude de la contamination des surfaces explorées au niveau des différentes structures hospitalières investiguées : Conditions et points de prélèvements	31
III.A.3.2. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des structures hospitalières investiguées : Conditions et points de prélèvements	34
III.A.3.2.1. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des salles non occupées par les malades hospitalisés	34
III.A.3.2.2. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des incubateurs pour prématurés en néonatalogie: Conditions et points de prélèvements	35
III.A.3.2.3. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des blocs opératoires: Conditions et points de prélèvements	36
III.A.3.3. Traitements des prélèvements réalisés	37
III.A.3.3.1. Acheminement	37
III.A.3.3.2. Culture	37
III.A.3.3.3. Incubation des prélèvements réalisés	37
III.A.3.3.4. Dénombrement	38
III.A.3.3.5. Près identification des souches bactériennes nosocomiales isolées	38
III.A.3.3.5.1. Près identification des souches isolées lors de l'évaluation des différentes techniques de prélèvement des surfaces	39
III.A.3.3.5.2. Près identification de l'ensemble des souches bactériennes isolées par la technique choisie	39
III.A.3.3.6. Près identification des souches Fongiques nosocomiales	39
III.A.3.4. Modalités d'interprétation des résultats obtenus à partir des prélèvements environnementaux réalisés: Aérobiocontamination et contamination des surfaces	42
III.A.3.4.1. Niveau de biosécurité atteint par structure hospitalière investiguées	42
III.A.4 Exploration de la population de souches de <i>Staphylococcus aureus</i> au sein du personnel exerçant en milieu hospitalier: dysfonctionnement du system <i>agr</i>	44

et polypharmacorésistance : Conditions et points de prélèvements	
III.A.4.1. Prélèvement	44
III.A.4.2. Acheminement	45
III.A.4.3. Culture	45
III.A.4.4. Incubation	45
III.A.4.5. Lecture	45
III.A.4.6. Près Identification	46
III.A.4.7. Collections des souches du genre <i>Staphylococcus</i> testées	46
III.A.4.7.6. Etude de la relation résistance aux antibiotiques et Polymorphisme exprimé sur gélose au sang après 24h et 48h d'incubation à 37°C	47
III.A.5. Exploration de la population du genre <i>Pseudomonas</i> au sein du personnel	47
III.A.5.1. Prélèvements	47
III.A.5.2. Acheminement	47
III.A.5.3. Culture	47
III.A.5.4. Incubation	47
III.A.5.5. Lecture	47
III.A.5.6. Identification	48
III.A.5.6.1. Caractérisation biochimique	48
III.A.5.6.2. Caractérisation moléculaire	48
III.A.5.7. Collections des souches de <i>Pseudomonas</i> testées	49
III.A.6. Evaluation de la qualité microbiologique de l'eau des humidificateurs des incubateurs en néonatalogie	50
III.A.6.1. Prélèvement	50
III.A.6.2. Culture	50
III.A.6.3. Incubation	50
III.A.6.4. Près identification des souches bactériennes isolées lors de l'étude de la qualité microbiologique des microorganismes isolés à partir de l'eau des humidificateurs des incubateur en néonatalogie	50
III.A.6.5. Près identification des souches fongiques isolées lors de l'étude de la	50

qualité microbiologique des microorganismes isolés à partir de l'eau des humidificateurs des incubateurs en néonatalogie	
III.A.7. Suivi de différents protocoles réalisés au niveau des structures hospitalières investiguées	50
III.A.7.1. Protocole de préparation de biberons dans un service de Pédiatrie et de néonatalogie	51
III.A.7.2. Protocole de préparation de chimiothérapie dans un service d'oncologie	51
III.A.7.3 Protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de néonatalogie	52
III.A.7.4 Traitement des déchets	52
III.A.7.5 Traitement du linge	52
III.A.8. Actions correctives	53
III-B RESULTATS ET DISCUSSION	54
III-B.1. Collecte de données	54
III-B.1.1. Présentation des structures hospitalières investiguées	54
III-B.1.2. Structures hospitalières investiguées et études statistiques	56
III-B.2. Qualité microbiologique des structures hospitalières investiguées	57
III-B.2.1. Evaluation de différentes techniques de prélèvements de surface et choix de la technique à adopter	57
III-B.2.1.1. Résultats des techniques de prélèvements bactériologiques des surfaces	57
III-B.2.1.2. Résultats des techniques de prélèvements mycologiques des surfaces	59
III-B.2.2. Niveau de Biosécurité atteint par structure hospitalière investiguées	62
III-B.2.2.1. Illustrations de résultats microbiologiques - bactériologiques et mycologiques obtenus et interprétés en niveau d'action.	64
III-B.2.2.2. Taux de répartition des groupes bactériens mis en évidence selon la coloration de Gram	67
III-B.2.2.3. Taux de répartition des groupes fongiques les plus fréquemment rencontrés dans les environnements hospitaliers investigués	70

III.B.2.2.4. Résultats de la près identification des souches fongiques nosocomiales utilisées pour évaluer l'effet antimicrobien	72
III.B.2.2.4.1. Identification d' <i>Aspergillus niger</i> sur milieux d'identification divers et températures d'incubation variables	73
III.B.2.2.4.2 Identification d' <i>Aspergillus flavus</i> sur milieux d'identification divers et températures d'incubation diverses	74
III.B.2.2.4.3. Résultats obtenus pour l'identification des souches de <i>Candida albicans</i>	74
III.A.2.2.5. Causes probables à l'origine de la répartition des groupes microbiens obtenus	75
III.B.2.3. Qualité microbiologique de service à niveau de risque élevé: incubateurs pour prématurés en néonatalogie	77
III.B.2.3.1. Résultats des Prélèvements de l'air et des surfaces internes des incubateurs pour prématurés en néonatalogie	77
III.A.2.3.2. Exploration de la qualité microbiologique de l'eau des humidificateurs des incubateurs pour prématurés en néonatalogie	79
III.A.2.3.3. Etude statistique: Taux des causes de mortalité néonatale	79
III.A.2.4. Qualité microbiologique de services à niveau de risque élevé: Blocs opératoires	81
III.B.2.4.1. Divers cas de contamination rencontrés au niveau d'un ensemble de blocs opératoires	83
III.B.2.5. Qualité microbiologique d'un ensemble de services d'une structure hospitalière ayant bénéficié d'une désinfection terminale	84
III.B.2.6. Résultats de l'expression in vitro du dysfonctionnement du system <i>agr</i> d'un ensemble de souches de <i>Staphylococcus aureus</i> et polypharmacorésistance de chaque phénotype exprimé	86
III.B.2.6.1. Recensement des cultures positives	86
III.B.2.6.2. Différents phénotypes exprimés après 24h et 48h d'incubation à 37°C Sur gélose au sang de cheval	87
III.B.2.6.3. Résistance des différents phénotypes exprimés à l'oxacilline, la cefoxitine et la vancomycine	90
III.B.2.6.4. Résistance des différents phénotypes exprimés aux antibiotiques complémentaires	92
III.B.2.7. Résultats de l'exploration de la population du genre <i>Pseudomonas</i> au	94

sein du personnel exerçant en milieu hospitalier	
III.B.2.7.1. Recensement des cultures positives	94
III.B.2.7.2. Résultats de l'identification du genre des souches de <i>Pseudomonas</i> par l'amplification du gène <i>oprI</i> par PCR	94
III.B.2.7.3. Résistance exprimée pour l'ensemble des antibiotiques testés par les souches du genre <i>Pseudomonas</i> isolés à partir du personnel exerçant en milieu hospitalier	96
III.B.3. Résultats des suivis de différents protocoles réalisés au niveau des structures hospitalières investiguées	97
III.B.3.1. Protocol de préparation de biberons dans un service de pédiatrie et de néonatalogie	97
III.B.3.1.1. Stockage	97
III.B.3.1.2. Préparation	98
III.B.3.1.3- Allaitement	99
III.B.3.1.4. Désinfection et Stérilisation	99
III.B.3.1.5. Organisation générale du protocole	100
III.B.3.1.6. Taux de risque de contamination microbienne probable % relatifs à l'ensemble des étapes de préparation de biberons en service de Pédiatrie et de néonatalogie	101
III.B.3.2. Protocol de préparation de chimiothérapie dans un service d'Oncologie	101
III.B.3.2.1 Stockage	102
III.B.3.2.2. Préparation	103
III.B.3.2 .3. Administration	104
III.B.3.2.4. Taux de risque de contamination microbienne probable % lors de la préparation de médicaments pour chimiothérapie	105
III.B.3.3. Protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de Néonatalogie	106
III.B.3.3.1. Etapes suivies pour la réalisation du Protocol de désinfection des incubateurs	106
III.B.3.3.2. Taux de risque de contamination microbienne probable % des points critiques de contamination relevé lors de la désinfection des incubateurs pour prématuré	112

III.B.3.4. Résultats du suivi du traitement des déchets en milieu hospitalier	113
III.B.3.4.1. Etapes suivies pour la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées	114
III.B.3.4.2. Ensemble de constatations relatives à la gestion des déchets au sein de structures hospitalières investiguées	117
III.B.3.5. Résultat du suivi du protocole du traitement du linge en milieu hospitalier	120
III.B.3.5.1. Les étapes de gestion du circuit du linge au sein des structures hospitalières investiguées	120
III.B.3.5.2 Ensemble de constatations relatives à la gestion du circuit du linge au sein des structures hospitalières investiguées	123
III.B.4. Actions correctives proposées	123
III.B.4.1. Cas d'une structure hospitalière et une désinfection terminale inefficace sur la flore bactérienne	124
III.B.4.2 Cas d'un service de réanimation et de souches de <i>candida albicans</i>	125
III.B.4.3. Cas du personnel exerçant au sein de service à air confiné concomitants à des travaux de réfection	125
III.B.4.4. Cas d'un service de néonatalogie et d'une flore microbienne prélevée à partir de l'air humidifié des incubateurs pour prématurés	127
III.B.4.5. Cas du bloc opératoire pour ORL et infection inévitable des plaies des malades opérés	129
Conclusion	132

Chapitre IV : Effet de quelques Asteraceae sur les souches nosocomiales

IV.A. METHODOLOGIE ET MATERIELS	134
IV.A.1. Enquête ethnobotanique	134
IV.A.1.1. Questionnaires établis	134
IV.A.1.2. Matériel biologique végétal	135
IV.A.1.2.1. <i>Bubonium graveolens</i>	135
IV.A.1.2.2. <i>Cotula cinerea</i>	136
IV.A.1.2.3. <i>Launaea arboresens</i>	137

II.A.1.2.4. <i>Launaea nudicaulis</i>	138
IV.A.1.2.5. <i>Warionia saharae</i>	140
IV.A.2. Traitement du matériel biologique végétal	141
IV.A.2.1. Cueillette des plantes	141
IV.A.2.2. Le Nettoyage	142
IV.A.2.3. Le Séchage	142
IV.A.2.4. Le Broyage et Stockage	142
IV.A.2.5. Extraction de substances naturelles	142
IV.A.2.6 Criblage phytochimique	143
IV.A.2.7. Préparation des disques à différentes concentrations à partir des différents extraits obtenus	145
IV.A.2.8. Chromatographie sur couche mince des extraits aqueux bruts	147
IV.A.2.9. Fractionnement des extraits aqueux des plantes étudiées	148
IV.A.2.9.1. Purification des fractions à tester	148
IV.A.3. Collection de souches nosocomiales testées : bactériennes et fongiques	148
IV.A.4. Evaluation des effets antibactérien et /ou antifongique des extraits des plantes étudiées exprimé vis à vis des souches nosocomiales	150
IV.A.4.1. Evaluation de l'activité de l'ensemble des extraits étudiés sur différents groupes bactériens et fongique Cocci/Batonnets Gram +/- et levure: Collection n°1	150
IV.A.4.2. Evaluation de l'effet antibactérien des différents extraits vis à vis d'une collection de souches nosocomiales appartenant au genre <i>Staphylococcus</i> : n°2	150
IV.A.4.3. Evaluation des masses minimales Inhibitrices des l'extraits aqueux des plantes étudiées	152
IV.A.4.4. Evaluation de l'effet antifongique et/ou antibactérien des fractions purifiées	152
IV.A.4.5. Technique utilisée pour l'évaluation de l'effet antibactérien vis à vis des souches nosocomiales	152
IV.A.4.6. Technique utilisée pour l'évaluation de l'effet antifongique vis à vis des souches nosocomiales	154
IV.A.4.6.1. Technique de l'inhibition de la croissance radiale des souches	155

nosocomiales d' <i>Aspergillus</i>	
IV.A.4.6.2. Technique d'évaluation de l'effet antifongique des extraits aqueux testés vis à vis des souches nosocomiales de <i>Candida albicans</i>	156
IV.A.5. Caractérisation chimique des fractions bioactives obtenues	159
IV.A.5.1. Analyses spectrales infrarouge IR	159
IV.A.5.2. Analyses spectrales par résonance magnétique	159
IV.A.5.2.1. Traitement des données de l'analyse spectrale RMN ¹ H et RMN ¹³ C	160
IV.A.6. Relation molécules isolées - Activité	160
IV-B. Résultats et discussion	164
IV-B .1. Enquête ethnobotanique	164
IV-B .1.1. Résultats des répartitions des familles de plantes recensées et de leurs parties utilisées	164
IV-B .1.2. Formes d'utilisation	167
IV-B .1. 3. Parties utilisées	167
IV-B .1.4. Plantes étudiées	168
IV-B .1.4.1. Rendement des extraits aqueux obtenus	169
IV-B .1.4.2 . Criblage phytochimique	170
IV.B.2. Effet antibactérien et antifongique des extraits des plantes étudiées vis-à-vis de souches nosocomiales	171
IV.B.2.1. Effet des différents extraits des plantes étudiées sur la collection de souches nosocomiales n° 1 : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures	172
IV.B.2.2. Effet des plantes étudiées sur une collection de souches nosocomiales de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i> de la collection n°2	176
IV.B.2.2.1. Activité Globale des plantes étudiées sur l'ensemble des souches de <i>Staphylococcus</i> testées	177
IV.B.2.2.2. Activité de chaque extrait de différente nature sur l'ensemble des souches de <i>Staphylococcus</i> testées	179
IV.B.2.2.3. Taux de résistance des souches de <i>Staphylococcus</i> aux antibiotiques appartenant à diverses familles	181

IV.B.2.2.4. Etude comparative de l'activité antibactérienne des extraits aqueux des <i>Asteraceae</i> étudiées et d'un ensemble d'antibiotiques usuels appartenant à différentes familles	183
IV.B.2.2.5. masse minimale inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches du genre <i>Staphylococcus</i>	185
IV.B.2.3. Effet des extraits aqueux des plantes étudiées sur des souches nosocomiales fongiques	185
IV.B.2.3.1. Résultats de l'évaluation de l'effet antifongique des extraits aqueux sur des souches nosocomiales d' <i>Aspergillus flavus</i>	185
IV.B.2.3.2. Résultats de l'effet antifongique des extraits aqueux vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce <i>Aspergillus niger</i>	188
IV.B.2.3.3. Effet antifongique et masses minimales inhibitrices exprimées par les extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce <i>Candida albicans</i>	192
IV.B.3. Résultats du fractionnement et purification des extraits aqueux des plantes étudiées	196
IV.B.3.1. Résultat du control de la pureté des fractions chromatographiques obtenues par chromatographie sur couche mince (CCM) et par chromatographie liquide à haute performance HPLC	196
IV.B.3.2. Résultats de l'évaluation de l'effet antifongique et antibactérien des fractions chromatographiques contrôlées	198
IV.B.3.3. Caractérisation chimique de fraction chromatographique bioactive obtenue	199
IV.B.3.3.1. Caractérisation chimiques de la fraction bioactive <i>La13_{BF}</i>	200
IV.B.3.3.2. Constatations sur l'étude bioguidée	210
Conclusion générale	214

Références bibliographiques

Publications

Annexes

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

L'infection nosocomiale (IN) est une infection contractée à l'occasion d'une hospitalisation dont les premiers signes cliniques n'apparaissent qu'après 48 heures de l'admission en milieu hospitalier. Elle peut surgir éventuellement à l'occasion de soins ou d'exploration invasive, telle que l'échographie ou la mise en place de sonde. Le personnel exerçant en milieu hospitalier est éventuellement exposé au risque de contracter une infection nosocomiale [1,2].

On considère comme nosocomiale une infection qui survient 30 jours après un accouchement et une année après une intervention chirurgicale avec implant [3]. Le facteur de risque majeur de contamination est lié à la durée de l'hospitalisation avec un taux de 70 % en cas d'hospitalisation de plus de six jours [4].

Les infections nosocomiales représentent une cause majeure de décès en milieux hospitaliers évaluée à 80 000 décès par an aux États-Unis. En Allemagne, on signale une infection nosocomiale directement en cause de mortalité dans 7,4% des cas de décès. En France, le nombre de décès imputables à l'infection nosocomiale est compris entre 7000 et 20000 cas par an avec un taux de mortalité globale de 15,3 % [5,6].

On assiste, à un accroissement remarquable de la résistance des germes nosocomiaux aux antimicrobiens dont le spectre d'action est de plus en plus rétréci. En effet des espèces reconnues non pathogènes telle que le *Staphylococcus epidermidis* est incriminé dans les infections nosocomiales des cathéters installés sous la peau, chez les malades ayant recours à l'hémodialyse.[7] *Staphylococcus aureus* fut la première bactérie à présenter une résistance à la pénicilline dès 1947 [8].

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) est responsable de 37% des cas fatals de septicémie au Royaume-Uni en 1999 **Enterococcus faecium* est une bactérie multirésistante à la pénicilline en 1983, à la vancomycine en 1987 et au linezolid à la fin des années 1990. Le linezolid est comparable à la vancomycine pour son efficacité contre les SARM [8,9].

Le coût global des infections a été estimé à 760 millions d'Euros par an pour les pays européens et de 4,2 milliards d'Euros aux États-Unis en 1976. Ces couts sont attribués à la nécessité d'usage de nouvelles molécules bioactives puissantes [10].

Les musulmans ont été les pionniers dans l'usage des plantes médicinales pour la désinfection de l'environnement hospitalier des bîmâristâns par saturation de l'air des locaux par des fumées de plantes médicinales [11,12].

Plusieurs recherches ciblent la réduction du taux d'incidence des infections nosocomiales à la recherche de nouveaux produits désinfectants naturels. En 2005, une étude a démontré l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de Bois de Rose sur le développement des microorganismes nosocomiaux de l'air [13].

L'effet antimicrobien de nombreuses molécules issues des plantes médicinales fournit la possibilité d'utiliser ces dernières pour la lutte contre les infections nosocomiales et éviter l'apparition de résistances acquises.

Dans ce contexte d'idée, nous nous sommes intéressés à évaluer la charge microbienne nosocomiale de différents milieux hospitaliers du sud-ouest algérien et de tester les Asteraceae sur la lutte de ces germes afin d'en extraire des molécules bioactives.

Nous procédons d'abord à une enquête ethnopharmacologique auprès de personnes de différents niveaux sociales à savoir tradipraticiens, vendeurs de plantes médicinales, guérisseurs et personnes ayant recours à l'usage de plantes médicinales pour leur vertus thérapeutiques.

Evaluation de la qualité microbiologique de l'environnement hospitalier : air, surfaces, dispositifs médicaux des différentes structures hospitalières investiguées ainsi qu'à l'exploration du portage des souches du genre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas* auprès du personnel hospitalier.

Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des différents extraits des espèces végétales investiguées qui sera complété par une étude des masses minimales inhibitrices des extraits les plus actifs.

Les extraits les plus actifs feront l'objet de fractionnement et de purification afin de rechercher l'effet antibactérien et antifongique, vis-à-vis de souches bactériennes et fongiques isolées des environnements hospitaliers explorés.

Les fractions bioactives pures confirmées seront sujettes à une caractérisation chimique constituée par la chromatographie sur couche mince, la chromatographie liquide haute performance, les analyses spectrales Infra rouge et les analyses spectrales de résonance magnétique RMN¹H et RMN ¹³C.

La caractérisation chimique effectuée a pour but de renseigner sur la nature chimique des molécules constitutives des fractions pures bioactives isolées et de

rechercher d'éventuels modes d'actions antimicrobiens novateurs pouvant contribuer à l'apport de solutions aux déficits imposés par les microorganismes pathogènes multirésistants.

PARTIE I
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

ENVIRONNEMENT HOSPITALIER ET INFECTIONS NOSOCOMIALES

Introduction

Les structures hospitalières ont pour but primordial de fournir aux patients des actes médicaux, chirurgicaux, soins, traitements, enfin tout acte relevant d'une prise en charge préventive ou curative afin de maintenir ou de recourir à l'état de bonne santé de l'être humain.

Néanmoins, l'environnement hospitalier présente actuellement un risque accru de contamination microbienne de germes nosocomiaux potentiellement dangereux à cause de leur multi résistance aux antimicrobiens usuels. Actuellement, de nouvelles formes de lutte sont appréhendées tel que la phagothérapie [14-16].

I.1. Hygiène hospitalière

Le médecin musulman ERRAZI (844-926) fut le pionnier à porter de l'intérêt à l'hygiène de l'environnement hospitalier.

Il a fondé le concept de la tradition hospitalière Islamique qui a imposé des critères de choix du lieu de construction d'une structure hospitalière. Ces critères étaient conditionné par le délai de putréfaction de nombreuses portions de viande placés dans diverses localisations de la cité ; ainsi que la répartition de l'hôpital en services spécialisés exigeant le maintien d'une propreté extrême [11].

La conception architecturale des bîmâristâns offrait un environnement sain, dispensant calme, tranquillité et sérénité avec présence d'eau, de lumière, de plantes et même de musique. Enfin, dernier détail remarquable, la sortie des patients se faisait par une porte différente de celle de l'entrée [12,17]. **voir photo n° I.1.**

Ce n'est qu'au XIXème siècle que certaines mesures ont été prise afin de lutter contre la diffusion de l'infection nosocomiale telle que la limitation du nombre de malades par chambre, la désinfection des vêtements des malades à l'arrivée, l'isolement des pavillons, la stérilisation des liquides utilisés avant leur rejet.

En effet, l'hygiène hospitalière a vu son essor entre 1850 et 1950 par la simple instauration et généralisation des règles d'hygiène individuelle et collective, mais la découverte des antibiotiques a fait décroître l'intérêt porté à l'hygiène hospitalière malheureusement ce recule a aboutit à l'apparition en 1960 d'une véritable pandémie d'infections nosocomiale staphylococciques résistant à la pénicilline ainsi l'antibiotique

Le facteur de risque majeur est lié à la durée de l'hospitalisation : le risque de contamination va jusqu'à 70 % en cas d'hospitalisation de plus de six jours [4].

Plusieurs études ont montré que le taux de mortalité chez les patients sans infection nosocomiale était trois à dix fois inférieur à celui des patients ayant contracté une infection nosocomiale, quel que soit son type [19].

I.3. Micro-organismes d'intérêt médical

Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de santé, d'un établissement à l'autre et d'un pays à l'autre.

Les taux des agents infectieux responsables d'infections nosocomiales sont regroupés dans le tableau n° I.1.

Tableau n° I.1 : Germes responsables d'infections nosocomiales [20]

Agent infectieux	% de l'Agent infectieux	Exemple
Bactéries	91% 53% Bacille Gram Négatif 33% Cocci Gram positif	Colibacilles Pyocyaniques Staphylocoques
Champignons	6%	Candida
Virus	2%	VHC
Parasites	1%	Sarcopte scabiei

I.3.1. Bactéries d'intérêt médical

Les principaux germes pathogènes incriminés sont :

Les bacilles Gram négatif avec un taux de 60% et Cocci Gram positif avec un taux de 30% dont les 30% sont représentés par *Staphylococcus aureus* [21-23].

Par exemple, dans une étude menée entre 1981 à 1999 à l'hôpital de l'université nationale de Taiwan, 35,580 germes pathogènes ont été identifiés. Les espèces de *Candida* furent classées les premières suivies de *Staphylococcus aureus* puis de *Pseudomonas aeruginosa* [24].

En France, sur les 18074 germes recensés lors d'une enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales de 1996, 16356 micro-organismes ont pu être isolés. Certaines infections n'ont pas fait l'objet d'un diagnostic microbiologique, d'autres ont pu conduire à l'isolement de plusieurs micro-organismes.

Dont neuf représentaient à eux seuls 83 % des micro-organismes isolés [25]. Ces derniers sont répartis dans le tableau n° I.2.

Tableau I.2 : Germes nosocomiaux les plus fréquemment rencontrés [25]

<i>Escherichia coli</i>	20,5 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,4 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10,7 %
<i>Enterococcus</i>	8,1 %
<i>Proteus sp.</i>	6,6 %
<i>Staphylococcus à coagulase négative</i>	6,6 %
<i>Fungi</i>	6,0 %
<i>Klebsiella sp.</i>	4,4 %
<i>Enterobacter sp.</i>	3,7 %

D'après une étude algérienne faite, en 2004 [26], sur la surveillance de la résistance des germes nosocomiaux ; sur un total de 14400 souches bactériennes isolées de patients hospitalisés, 3246 sont des bactéries multi-résistantes (**22.5%**) se répartissant ainsi :

- Entérobactéries à β Lactamase à Spectre Elargie (BLSE) 25.75%
- *Staphylococcus aureus* methicilino-résistant (MRSA) 38.6%
- *Acinetobacter sp* résistant à l'imipeneme 11.2%
- *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) résistants à l'imipénème 7.7%
- *P. aeruginosa* résistants à la ceftazidine 11% [26].

- *Acinetobacter baumannii* est une bactérie opportuniste responsable d'un nombre croissant d'infections nosocomiales ultra-résistantes et souvent mortelles. Cette dernière est passée en une trentaine d'années, d'une susceptibilité à la plupart des antibactériens à une résistance quasi-totale [27].

I.3.2. Mycètes d'intérêt médical

De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections, en cas d'antibiothérapie prolongé et d'immunodépression sévère : *Candida albicans* (*C.albicans*), *Aspergillus spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium*.

Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés.

La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus spp.*, présent dans les poussières et le sol, est également préoccupante, en particulier lors des travaux d'aménagement et de refection effectués au niveau des services hospitaliers [28].

Les levures du genre *Candida* sont à l'origine de la majorité des infections mycosiques invasives [29]. Une étude américaine, publiée en 2001, montre que sur 1586 isolats de *Candida* provenant de patients présentant une mycose profonde, *C. albicans* est l'espèce la plus fréquente (57,7 %), suivie de *C. glabrata* (14,8 %), *C. parapsilosis* (12,5 %), *C.tropicalis* (12,5 %) et *C. krusei* (2,7 %) [30].

L'incidence des infections fongiques invasives a fortement augmenté ces 30 dernières années chez les patients hospitalisés en unités de soins intensifs (Réanimation). Quant à *Aspergillus spp*, il est devenu le deuxième pathogène fongique rencontré en milieu hospitalier [30].

La part des candidémies nosocomiales est importante (> 80 %), qui est en accord avec le contexte dans lequel de telles infections se produisent : patients à haut risque tels que patients en réanimation, avec des hémopathies, présence de cathéters veineux ou urinaires, etc [31].

En Europe, l'étude prospective de la confédération européenne de mycologie médicale menée auprès de 106 institutions de 7 pays européens, a rapporté 0,20 à 0,38 cas de candidémies pour 1000 admissions [32].

Dans certains hôpitaux, l'incidence de l'infection fongique est de 10 à 15% de toutes les hémocultures positives. Ceci résulterait probablement de l'intense utilisation d'agents antifongiques systémiques, spécialement le Fluconazole [33].

I.3.3. Virus d'intérêt médical

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment, ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le Virus respiratoire syncytial, les rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main Bouche et par voie féco-orale).

Les rotavirus sont retrouvés sur les mains du personnel soignant s'occupant d'enfants infectés avec un taux de 76 à 78 % et 20 % de ceux sans contact avec ces enfants [34].

D'autres virus comme le cytomégalo virus, le VIH, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle Zona, sont également transmissibles [35]. La grande majorité des études sur les IN concernent les rotavirus, plus faciles à diagnostiquer par rapport aux autres virus.

L'incidence des IN dues à d'autres virus entériques a été moins étudiée. Les NV retrouvés dans 17 à 46 % des cas, apparaissent comme la deuxième cause d'IN digestive [36].

Il existe des virus enveloppés qui sont fragiles dans le monde extérieur et aux désinfectants tels que les virus des voies respiratoires et les virus nus, résistants, persistent dans le milieu extérieur (Hépatite A, E). La durée de leur phase de vie libre (extracellulaire) dépend des conditions de l'environnement [37].

Nous n'omettons pas de citer les coronavirus qui sont à l'origine de nombreuses épidémies voire Pandémies mortifères telque le SARS-Cov 2002:2003(Chine), le MERS 2012(Arabie Saoudite) et le SARS Cov-2 2019(Chine) qui présentent des taux de létalité respectives de 9,6%, 34% et 3%. Le MERS Cov 2012 à été à l'origine de plusieurs épidémies nosocomiales. Ces derniers sont transmis à l'homme par les animaux.

Il existe quatre autres coronavirus mais qui sont humain (HCov-229E (1966), HCov-OC43(1967) HCov- NL63(2004), et le HCov-HKU1 (2005) qui sont responsables des IVRS (*infection des voies respiratoires supérieures* et sont très rarement létaux).

Une étude phylogénétique des coronavirus a mis en évidence une relation évolutive conservée entre 2019-nCoV / SARS-CoV-2 (2019) et SARS-CoV(2002/2003) de 79.7% plus précisément, les protéines d'enveloppe et de nucléocapside de 2019-nCoV / SARS-CoV-2 sont deux régions conservées évolutivement, avec des identités de séquence de 96% et 89,6%, et une relation évolutive conservée entre 2019-nCoV / SARS-CoV-2 et MERS-CoV(2012) de 31.9% [38].

I.3.4. Parasites d'intérêt médical

Certains parasites tels que *Giardia intestinalis* et *Entamoeba histolytica* se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. *Sarcoptes scabiei* (agent de la gale) est un ectoparasite qui provoque régulièrement des flambées épidermiques dans les établissements de santé [39].

I.4. Lutte et prévention

La croissance phénoménale de l'incidence des infections nosocomiales suscite la prise en considération des points suivants:

Afin de réduire au maximum l'incidence des infections nosocomiales qui devient à nos jours alarmante, plusieurs points sont à envisager :

L'investigation de l'environnement hospitalier qui représente le réservoir principal des germes nosocomiaux tant redoutés.

La prévention et la lutte contre l'infection nosocomiales : Dans ce cadre est intégrée la recherche, auprès des plantes médicinales, de nouvelles molécules bioactives sur ces germes, devenus multi résistants et potentiellement dangereux.

Les actions de prévention se centrent sur le fait d'éviter les circonstances favorisantes qui sont : L'hospitalisation prolongée (notamment avant une intervention chirurgicale), l'antibiothérapie non motivée Antibioprophylaxie prolongées inutilement, actes invasifs non nécessaires (sondage urinaire, ou voies veineuses à titre systématique), le respect des précautions d'hygiène et d'asepsie [40], le contrôle de l'environnement du patient [41].

I.5. Plan d'action international de lutte contre la résistance antimicrobienne

En 1998, une conférence de l'Union Européenne sur la menace microbienne a abouti aux Recommandations de Copenhague.

Cette dernière invitait à agir pour préserver l'efficacité des agents antimicrobiens en limitant l'utilisation au traitement et à la prévention des maladies infectieuses.

Des conclusions similaires ont été tirées par la 51^{ème} Assemblée Mondiale de la Santé de l'OMS, et ont été corroborées par des évaluations nationales de la situation du comité «Standing Medical Advisory Committee (SMAC)» au Royaume-Uni. [42].

Ainsi, la Commission a élaboré une stratégie complète de lutte contre la résistance aux antimicrobiens dans des domaines divers tels que la médecine humaine et vétérinaire [42].

Dans ce contexte, la Commission a défini quatre domaines d'action essentiels :

- * **Surveillance** : systèmes de surveillance précis de la résistance antimicrobienne
- * **Prévention** des maladies transmissibles et lutte contre les infections
- * **Recherche et développement de produits** : recherches de nouvelles molécules à effet antimicrobien efficace.
- * **Coopération internationale** : Une stratégie efficace requiert une coopération étroite [42].

Notre pays, l'Algérie, est intégré dans ce réseau sous le control de l'OMS. La première structure responsable d'appliquer ce programme dans notre pays est l'institut Pasteur d'Alger qui a créé un réseau à travers le territoire national. Nous avons eu l'occasion de prendre part à la mission léguée au laboratoire central de l'hôpital de Bechar 1998 - 2003, faisant partie du réseau national de surveillance de la résistance aux agents antimicrobien [43]. Voir Annexe 1. Ce réseau a été mis en place grâce à un budget OMS - de 1999 à 2013.

I.6. Germes nosocomiaux et Polypharmacorésistance.

Actuellement, le monde assiste à un accroissement notable de la résistance montrée par un ensemble non négligeable d'espèce microbiennes dont figurent des espèces n'ayant pas montré leur pathogénicité auparavant, tel que le *Staphylococcus epidermidis*

qui est devenu l'un des microorganismes responsables des infections nosocomiales des cathéters installés sous la peau chez les malades ayant recours à l'hémodialyse [7].

- *Staphylococcus aureus* fut la première bactérie à présenter une résistance à la pénicilline dès 1947, soit cinq ans après le début de la production de masse de cet antibiotique [8].

- Le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) a été découvert en 1961 en Grande-Bretagne. Le SARM est désormais assez courant en milieu hospitalier: il était responsable de 37% des cas fatals de septicémie au Royaume-Uni en 1999.

- La Vancomycine est l'antibiotique qui reste efficace dans ce cas pour l'instant. Une nouvelle classe d'antibiotiques, les oxazolidinones, est disponible depuis les années 1990 et la première application commerciale, le linézolide est comparable à la vancomycine pour son efficacité contre le SARM [8,9].

- Un VRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine) a été identifié en 1997 au Japon et a été trouvé depuis dans des hôpitaux en Angleterre, France et États-Unis. Le VRSA est aussi désigné sous le terme GISA (*glycopeptide intermediate Staphylococcus aureus*) ou VISA (*vancomycin intermediate Staphylococcus aureus*), indiquant une résistance à tous les antibiotiques glycopéptidiques [8].

- Le premier Entérocoque résistant à la vancomycine est apparu en 1995 [36].

- La résistance d'*E.coli* à la Céfotaxime est passée de 0% entre 1981 et 1986 à 6,1% entre 1993 et 1998. La résistance de *Klebsiella pneumoniae* à la céfotaxime est passée de 4,0% entre 1981 et 1986 à 25,8% entre 1993 et 1999 [24].

- *Pseudomonas aeruginosa* a montré une résistance croissante à la Ceftazidine durant les 19 années d'étude [24].

- *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* ont montré une résistance à l'Imipénème avec une incidence croissante [24].

- *Enterococcus faecium* est une bactérie multirésistante trouvée en milieu hospitalier : résistance à la pénicilline en 1983, à la vancomycine en 1987 et au linezolid à la fin des années 1990.

- *Mycobacterium tuberculosis* est couramment résistant à l'isoniazide et à la rifampicine et parfois complètement résistant aux traitements courants.

D'autres pathogènes offrent certaines résistances comme *Salmonella*, *Campylobacter*, et *Streptococcus* [44].

I.7. Protocoles de désinfection en milieux hospitaliers

I.7.1. Désinfection de l'air

Certains types de bios aérosols ne sont que peu influencés par les conditions extérieures. Ils bénéficient alors de structures qui les protègent des stress dus à leur environnement comme la sécheresse, de fortes températures, de la présence d'U.V ou de radiations solaires et de certains composés chimiques et ioniques dans l'air.

Il s'agit des formes sporulées des bactéries ou des spores de champignons, ainsi que de certains virus : tous sont protégés par une enveloppe lipidique très résistante. Il est généralement admis que seul le 1% des particules totales inertes est composé de bactéries [1].

Néanmoins la désinfection de l'air constitue une étape dont l'objectif final est la désinfection des surfaces en contact direct avec l'air désinfecté.

I.7.2. Désinfection des Surfaces

Généralement la désinfection des surfaces est effectuée par le biais de projection d'un dispersât sur les surfaces et les objets à désinfecter en utilisant un appareil manuel ou automatique. Il existe deux techniques de désinfection qui se résume par ce qui suit :

- La désinfection par spray ou dispersât dirigés :

Application d'un film homogène de désinfectant à l'aide d'un pulvérisateur sur des surfaces nettoyées (taille des particules $> 10 \mu$), réalisée en absence du patient mais en présence du manipulateur qui utilise un pulvérisateur manuel, pneumatique et/ou électrique.

- La désinfection par voie aérienne ou dispersât non dirigés :

Dispersion de microgouttelettes (aérosols) ou de gaz (« brouillard sec ») grâce à un appareil automatique. Le procédé associe un appareil et un produit désinfectant. Réalisée hors présence humaine.

I.7.3. Désinfection de dispositifs médicaux

L'usage de dispositifs médicaux est à nos jours inévitables dans les structures hospitalières. Ces derniers deviennent de plus en plus nécessaires dans le cadre des soins curatifs, préventifs et diagnostics.

L'ensemble des niveaux d'entretien requis pour les dispositifs médicaux figurent dans le tableau n° I.3 :

Tableau n° I.3 : Classement des dispositifs médicaux et niveau d'entretien requis [45]

Destination du matériel	Niveau de		
	classement	risque infectieux	traitement requis
Introduction dans un système vasculaire ou dans cavité ou tissu stérile	critique	haut risque	- usage unique ou, - stérilisation ou, - désinfection de haut niveau. ex : petit matériel médico-chirurgical (pinces, curettes..).
En contact avec muqueuse ou peau lésée superficiellement	semi critique	risque médian	désinfection de niveau intermédiaire ex : bassin de lit urinal, chaise percée, matériel ORL...
En contact avec la peau intacte du résident ou sans contact avec le résident	non critique	risque bas	désinfection de bas niveau ex : tensiomètre, stéthoscope, appareil à ECG, barrières de lit, matériel de rééducation, ...

L'origine de la contamination des dispositifs médicaux provient de biofilms déjà existant chez le patient. Ces derniers coloniseraient de nouvelles surfaces, non protégées par le système immunitaire. Ces biofilm sont souvent très résistants et notamment antibiorésistants. Cette résistance notable est acquise par plusieurs moyens et en particulier par le phénomène de conjugaison [46].

I.7.3.1. Désinfection des incubateurs pour nouveau-nés et prématurés

Un incubateur pour nouveau-nés et prématurés est un dispositif médical qui assure le maintien de celui-ci, au sein d'un habitacle fermé où règne une ambiance hygrométrique et thermique satisfaisante et bien contrôlée permettant la surveillance ainsi que la réalisation des soins [47,48].

Les risques de contamination microbienne à été signalé par de nombreuses études antérieures, qui ont isolé des microorganismes sur les parois, d'autres ont contribué à la modification des manchettes, ainsi que d'autres améliorations afin de limiter le risque de contamination qui guette les prématurés durant leur séjour dans les incubateurs.

Les incubateurs constituent des sources de contamination microbienne qui peut être transmise directement par voie manuportée aux nouveau-nés, ainsi la désinfection des dispositifs médicaux et le lavage des mains constitue une barrière, d'un grand intérêt, à la transmission des microorganismes [49].

Le guide de désinfection des dispositifs médicaux recommande une désinfection entre deux prématurés, une fois par semaine ou par quinzaine lors d'un séjour prolongé [47].

Les produits utilisés pour la désinfection des incubateurs ne doivent impérativement pas présenter une toxicité pulmonaire et ne doit pas provoquer l'altération du matériau : absence de phénols, d'aldéhyde, d'acides fortement organiques, de composés séparés d'halogènes. Un taux d'alcool inférieur à 5% est recommandé [50].

Pour certains pays, l'incubateur et le désinfectant utilisé doivent avoir le marquage CE. Le produit utilisé pour la désinfection d'un dispositif est considéré lui même un dispositif médical selon le décret n°95-292 du 16 mars 1995 [44,48]. Voir **Annexe 2**.

I.8. Désinfection des mains

Avant l'ère Pasteurienne, Ignaz Semmelweiss met au point un procédé prophylactique pour lutter contre la transmission de la fièvre puerpérale chez les accouchées qui consiste à faire laver dans de l'eau chlorée, les mains de ceux qui exercent le toucher, supposant que la fièvre puerpérale est le produit d'une infection par des matières putrides, dont les mains des élèves seraient le véhicule et ce n'est qu'en 2008 que l'organisation mondiale de la santé (OMS) tire l'alarme sur la nécessité d'avoir des mains propre pour éviter et vaincre la maladie on instaurant deux journées mondiale celle du «Lavage des mains» et celle des «Mains propre» le "05/05" de chaque année [51].

Dans les établissements de santé, l'hygiène et la désinfection sont incontournables. L'hygiène des mains est considérée comme la mesure la plus efficace des précautions générales dans la prévention des infections liées aux soins et la dissémination de micro-

organismes multi-résistants car les mains constituent la principale cause de transmission des microorganismes [52].

L'OMS recommande de façon équivalente la friction à la solution hydro alcoolique (SHA) et le lavage des mains à l'eau et au savon [53,54].

Les CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) privilégient la friction à la SHA (liquide ou gel) et recommandent le lavage des mains à l'eau et au savon en cas de souillures macroscopiques des mains [52].

Les SHA ont démontré à la fois leur plus grande efficacité, leur action plus rapide (en 30 secondes) et leur meilleure tolérance cutanée. Elles permettent une meilleure observance à l'hygiène des mains. Leur accessibilité doit être facilitée dans les services afin de permettre un lavage des mains systématique avant et après chaque soin au malade [55].

Il ya XIX siècle notre prophète Mohammed ﷺ, que la paix et la bénédiction soient sur lui, nous à enseigné que l'Islam recommande vivement le lavage des mains et plusieurs hadith conseils le lavage des mains en indiquant le moment, la manière et mêmes les soins qu'il faut pour avoir des mains toujours propre.

Un hadith nous conseil de bien se laver les mains au réveil et indique qu'il ne faut pas tromper les mains dans le récipient qui contient l'eau mais qu'il faut plutôt le verser sur les mains à lavé [56].

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم: " إذا استيقظ أحدكم من نومه، فلا يغمس يده في الإناء حتى يغسلها ثلاثاً، فإنه لا يدري أين باتت يده" « صحيح مسلم.

Un autre hadith conseil de laver les mains avant et après les repas et avertis contre le fait de dormir sans se lavé les mains [57].

- عن سيدنا سلمان الفارسي رضي الله عنه أن النبي صلى الله عليه وسلم قال: "بركة الطعام الوضوء قبله والوضوء بعده". سنن أبي داود.

- قال رسول الله صلى الله عليه وسلم: " من نام وفى يده غمراً ولم يغسله فأصابه شيء فلا يؤمن إلا نفسه" الراوي: أبو هريرة المحدث: أحمد شاكر - المصدر: مسند أحمد.

Un autre conseil d'effectuer la toilette intime avec la main gauche au lieu de la droite afin d'éviter la contamination. Un autre nous conseil de couper les angles régulièrement avec une limite extrême de 40 jours à ne pas dépasser [58].

- قال أنس - رضي الله عنه - "وقت لنا في قص الشارب، وتقليم الأظفار، ونتف الإبط، وحلق العانة، أن لا نترك أكثر من أربعين ليلة".

Même la manière de se laver les mains à bénéficier de hadiths qui nous conseillent de bien laver les parties entre les doigts et les plis des articulations des doigts de la mains, qui sont difficilement accessibles pour l'eau du lavage[59].

- عن عائشة - رضي الله عنها-، قال - صلى الله عليه وسلم - " عشر من الفطرة: قص الشارب، وإعفاء اللحية، والسواك، واستنشاق الماء، وقص الأظفار، وغسل البراجم، ونتف الإبط، وحلق العانة، وانتقاص الماء"

Et un autre nous enseigne que l'hygiène est partie intégrante de notre croyance en Dieu [60]. Nombreux sont les hadiths qui traitent l'hygiène des autres parties du corps [59].

Le Prophète (ﷺ) a dit : « *Perfectionne les ablutions et nettoie bien l'espace entre les doigts des mains et des pieds.*» (Hadith Sahih), le lavage des mains en milieu hospitalier obéit à ce conseil et sa pratique est largement décrite en littérature. Voir Guide pratique pour une manipulation sécurisée dans un laboratoire de microbiologie L1,L2,L3 **Voir annexe 3** [61].

Conclusion

Afin de remédier au risque majeur que présentent actuellement les environnements hospitaliers, une exploration microbienne s'impose afin d'investiguer de plus près les agents infectieux nosocomiaux tant redoutés.

A cette fin, nous avons réalisé une large enquête nosocomiale allant de la collecte de données, le suivi de différents circuits, à la réalisation de prélèvements environnementaux, dans une optique de pouvoir contribuer positivement à l'apport de données réelles des lieux investigués dans un seul et unique but de pouvoir par la suite contribuer à la mise en place d'actions correctives afin de remédier au problèmes des infections nosocomiales qui, sans doutes, s'étend de plus en plus dans nos hôpitaux.

CHAPITRE II

PLANTES MÉDICINALES ET LEURS ACTIONS SUR LES SOUCHES NOSOCOMIALES

II.1.Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales, depuis la nuit des temps, ont été d'un premier secours à l'homme contre les ennemis de son état de bonne santé.

L'homme a trouvé auprès de sa mère nature d'innombrables remèdes sous plusieurs formes allant du simple usage direct de pansement confectionné de feuilles de plantes, de latex, à l'usage après extraction, combustion, pyrolyse, ainsi que l'usage de mélange très complexe d'amalgame végétal et animal tel que le thériaque [62].

II.1.1. Plantes médicinales et ethnobotanique

L'organisation mondiale de la sante répertorie environ 22 000 plantes médicinales sur les 250000 plates de la planète [63]

Les plantes médicinales constituent une source importante pour la recherche pharmacologique; Ces dernières ont fait naitre une nouvelle science qui est l'ethnobotanique ; Elles sont depuis longtemps très utilisées notamment par les populations des pays en voie de développement mais sans aucun critère législatif [63,64]. Nous notons que plusieurs études sont mises en oeuvre afin de contribuer à l'instauration de la réglementation de l'usage des nombreuses plantes médicinales largement utilisées [65].

Des études ethno-pharmacologique concernant le Sahara algérien ont été effectuées où plusieurs espèces végétales ont été répertoriées [66- 69].

Selon les mêmes études, les praticiens utilisent généralement la partie aérienne de la plante sans séparation des fleurs et feuilles, parfois le cortex est utilisé et exceptionnellement le latex ou les racines. Les plantes sont utilisées fraîches ou sèches, sous formes de décoction de macération d'infusion dans l'eau. Parfois l'huile est utilisée pour l'extraction et exceptionnellement le lait.

L'infusion est réservée aux parties fragiles de la plante telle que les fleurs et les plantes à huiles essentielles ou pour des prescriptions pédiatriques [68 , 69].

La décoction était plus ou moins standardisée. Cette dernière était préparée avec une poignée de la matière végétale allant de 20 à 50 g selon la drogue [70].

L'industrie pharmaceutique mondiale s'intéresse de plus en plus à cette richesse naturelle, actuellement des matières végétales dont les constituants actifs purs sont connus et sont utilisés par l'industrie d'extraction sous forme de molécules bioactives isolées.

II.1.2. Usage des plantes médicinales en milieux hospitaliers

Les musulmans ont été les pionniers dans l'usage des plantes pour la désinfection de l'environnement hospitalier des bîmâristâns par saturation de l'air des locaux, par des fumées de plantes médicinales [71,72].

Ainsi le camphre a été souvent utilisé pour la purification et la désinfection de l'air. Ibn al-Wardî, qui meurt de la peste à Alep en 1349, rapporte que les habitants de la ville cherchaient protection avec de l'ambre, du camphre, du bois de cyprès et du bois de santal [72].

Et selon le médecin persan Muwaffaq, qui écrit au plus tard en 377/987 un traité pour l'émir samanide Manşūr ibn Nūḥ, « la fumée de l'ambre jaune, de l'encens et de l'aloès dilue l'air dense et nous défend de l'air cholérique. Elle renforce aussi le cerveau et le cœur [73].

Au Moyen Âge, les pouvoirs désinfectants de la lavande étaient utilisés par fumigations et emplâtres destinés à combattre la peste.

Dans les hôpitaux français, on utilise pendant plusieurs décennies des huiles essentielles dont celle de la lavande, pour désinfecter l'air et enrayer ainsi les infections microbiennes et fongiques [13].

Plusieurs recherches ciblent la réduction du taux d'incidence des infections nosocomiales à la recherche de nouveaux produits désinfectants naturels. En 2005, une étude a démontré l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de *Aniba rosaeodora* Duck var de la famille des Lauraceae sur le développement des microorganismes nosocomiaux de l'air [74].

II.1.3. Composants bioactifs des plantes utilisées en thérapeutique

Les plantes médicinales ont constitué toujours des matières premières pour l'extraction des substances naturelles pures destinées généralement à des indications thérapeutiques majeures. Ce sont des produits qui ont été à l'origine de modèles moléculaires qui ont conduit à la synthèse chimique de lignées de médicaments depuis une centaine d'années, donnant à titre d'exemples:

- La morphine principe du pavot et de l'opium a permis la synthèse des analgésiques.
- La cocaïne principe du coca a donné naissance à la série des anesthésiques locaux.
- La réserpine du *Rauwolfia serpentina* (L), constitue l'un des premiers modèles d'antihypertenseurs d'antidépresseurs et a fortement contribué à la psychopharmacologie.

Chapitre II: Plantes médicinales et leurs actions sur les souches nosocomiales

- La coumarine du mélinot et son produit de dégradation fongique ont permis la découverte d'anticoagulants de synthèse.
- La quinine du quinquina à l'origine des antimalariques.
- La khelline du khella et la théophylline du thé a permis la synthèse des antiasthmatiques.
- L'atropine des sonalaceae est un modèle types des antispasmodiques.
- L'émétine de l'ipéca comme anti dysentérique.
- La digoxine et la digitaline des digitales comme cardiotonique.
- L'ergotamine de l'ergo de seigle comme antimigraineux.
- Les curares des *Chandodendron sp* comme relaxant musculaire.
- La podophyllotoxine de la podohylle comme anticancéreux.

D'autres substances en raison de la complexité de leur formule n'ont pu être reproduites par synthèse chimique.

Généralement, les constituants chimiques issus de métabolisme secondaire et qui sont d'une grande importance en industrie pharmacologique, sont les alcaloïdes, les terpènes, les irridoides, les phénols, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les coumarines, les quinones et les glucosinates, Hipocrate de Cos a décrit l'utilisation de plus de 400 agents naturels dans son Corpus Hippocraticum. [75]

II.1.4. Particularité des Asteraceae : Composition et action

Les *Asteraceae* constituent une grande famille botanique appelée aussi compositae ou composacées. Elle est constituée de 23500 espèces répartie en 1600 genres [76] parmi lesquels nous citons *Cotula*, *Artemisia*, *Launaea*, *Chrysanthemum*, *Astericus*, *Atractylis* [77]. Ces derniers auraient un ancêtre commun unique qui daterait de l'Éocène et serait originaire d'Amérique du Sud selon une étude antérieure [78]. Ce sont des plantes herbacées, arbustive arborées ou rampantes [79].

Les représentants de cette famille sont caractérisés par leur capitule qui est une inflorescence résultant d'un assemblage de fleurs minuscules situées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige [80]. Leur métabolisme secondaire varie ainsi que leur plasticité écologique, qui ont largement contribué à leurs succès évolutif [81], qui ont permis leur répartition cosmopolite principalement dans les régions tempérées [82].

Les principaux représentants de cette famille se développent essentiellement dans les régions sujettes à la sécheresse [82].

Chapitre II: Plantes médicinales et leurs actions sur les souches nosocomiales

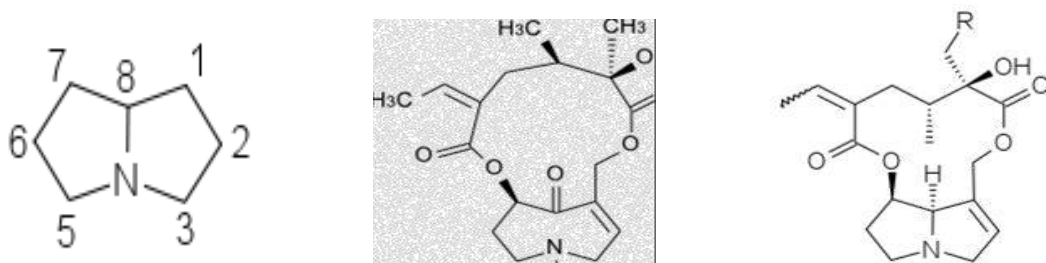
Les *Asteraceae* figurent parmi les familles les plus représentées en Algérie avec 400 espèces, suivi par les *Lamiaceae* [83]. Groupés en 109 genres dont 50 sont localisés au Sahara [77].

Les *Asteraceae* produisent 800 flavonoides différents [84,85] au même titre que les lactones sesquiterpéniques [86].

Les *Asteraceae* renferment une grande variété de métabolites secondaires parmi lesquels les alcaloïdes, avérés pour leurs effet antimicrobien. Des alcaloïdes pyrrolizidiniques ont été identifiés dans la famille des *Asteraceae* [87,88], parmi lesquels nous citon l'échinatine, lycopsamine, intermédiaire, rindérine, jacobine, éruciflorine, sénéciphylline, sénécionine, sénéciphylline, sénécionine, rétrorsine, spatioïdine, usaramine et intéggerrimine.

Ces derniers sont des esters formés entre des aminoalcools et un ou deux acides carboxyliques aliphatiques [89].

Les aminoalcools concernés dérivent de la pyrrolizidine Voir la figure n°II.1 et sont appelés des nécines voir fig n° II.1. Le cycle est toujours substitué par un groupe hydroxyméthyle (-CH₂OH) en C-1 et avec parfois une fonction alcool secondaire (-OH) en C-7 (rétronécine, héliotridine, platynécine) ou en C-2 (rosmarinécine) ou en C-6 (crotanécine). La liaison 1-2 peut être double.



pyrrolizidine senkirkine : *Tussilago farfara* L. R=OH : rétrorsine *Senecio vulgaris* L.

R=H : sénécionine *Senecio jacobaea* L et *Senecio vulgaris* L

Fig n° II.1: Structures chimiques : pyrrolizidine- senkirkine- rétrorsine- sénécionine

Nombreux alcaloïdes pyrrolizidiniques ont été mis en évidence dans des extraits aqueux tels que l'infusion [89].

II.2. Polypharmacorésistance

La polypharmacorésistance des germes nosocomiaux aux antimicrobiens, notamment, aux antibiotiques et aux antifongiques, est actuellement l'une des préoccupations primordiales à l'échelle mondiale.

L'organisation mondiale de la santé souligne que si nous n'agissons pas immédiatement et de manière coordonnée à l'échelle mondiale, nous nous dirigerons vers une ère postantibiotique où des infections courantes pourraient être à nouveau meurtrières. [90]

Aucune nouvelle grande classe d'antibiotiques n'a été découverte depuis 1987 et trop peu d'agents antibactériens sont en cours de mise au point pour combattre la polypharmacorésistance [91]. Telle que la lysocine découverte en 2015 par une équipe de chercheurs de l'université de Tokyo voir la figure n°II.2 . Cette dernière est bactéricide. Elle interagit avec la ménaquinone (ou vitamine K₂) présente dans les membranes bactériennes. Elle est inoffensive pour l'être humain [92].

Elle a un mode d'action différent de celui de tout autre antibiotique connu, ce qui crée ainsi une nouvelle famille d'antibiotiques efficace contre le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline [93].

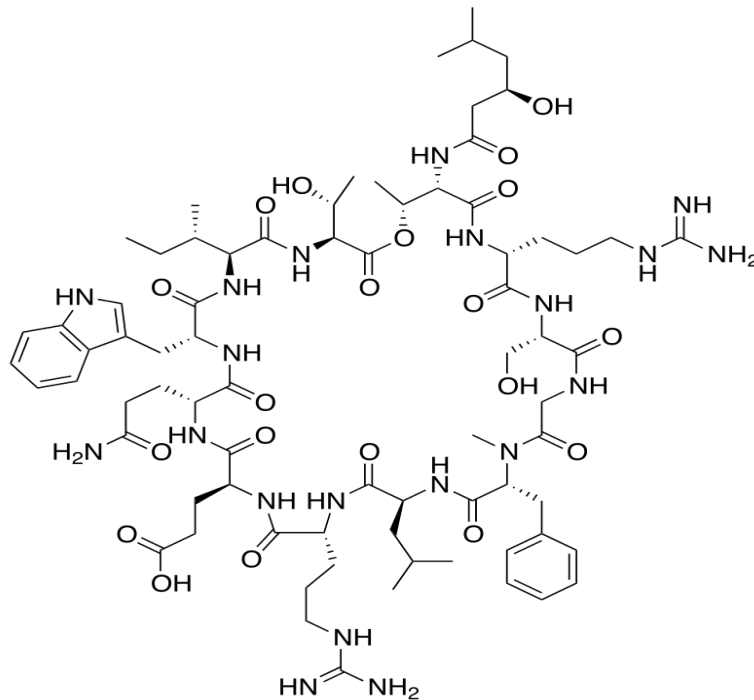


Fig n°II.2: structure chimique de la lysocin E [93]

Chapitre II: Plantes médicinales et leurs actions sur les souches nosocomiales

Les antibiotiques sont synthétisés par divers microorganismes bactériens et fongiques :

Bactérie : *Actinomyces*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas*

Champignon : *Penicillium*, *Fusidium*.

Actuellement, les antibiotiques obtenus par hémisynthèse sont le plus souvent utilisés.

Ceux obtenus par pure synthèse sont rarement obtenus tels que les Quinolones. Souvent constituées d'un groupe de pipérazine. Voir la Figure n°II.3.

Cette dernière est à l'origine de médicament antihelminthique. [94].

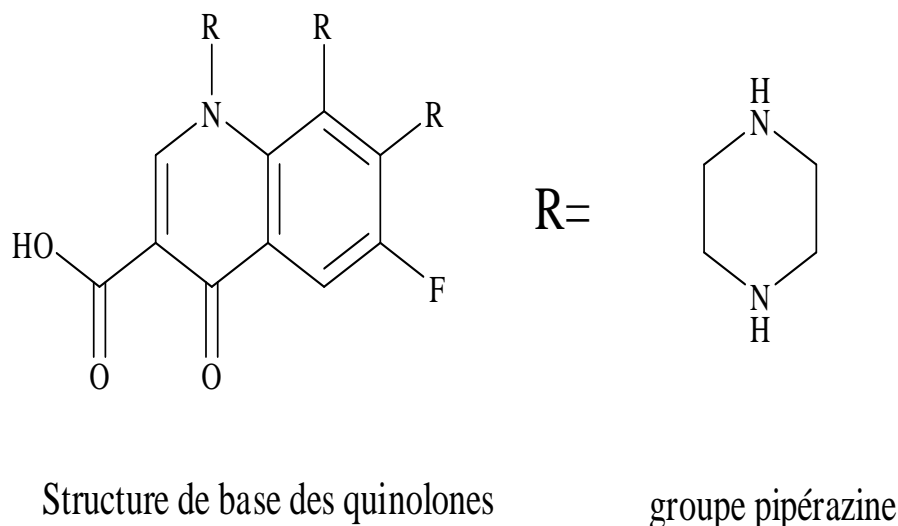


Fig n°II.3 : Structure d'une Fluoroquinolone [94]

Les antibiotiques appartenant à la famille des β lactamines ont été depuis longtemps utilisés en antibiothérapie.

La figure n° II. 3 présente :

- Un ensemble de structures chimiques de divers antibiotiques de la famille des β lactamines parmi lesquels figurent des molécules très utilisées telque l'amoxicilline. Voir la figure n°II.3.
- Un ensemble de structures chimiques de principaux antifongiques telque l'amphotéricine B et le Fluconazole. Voir la figure n°II.4.

Chapitre II: Plantes médicinales et leurs actions sur les souches nosocomiales

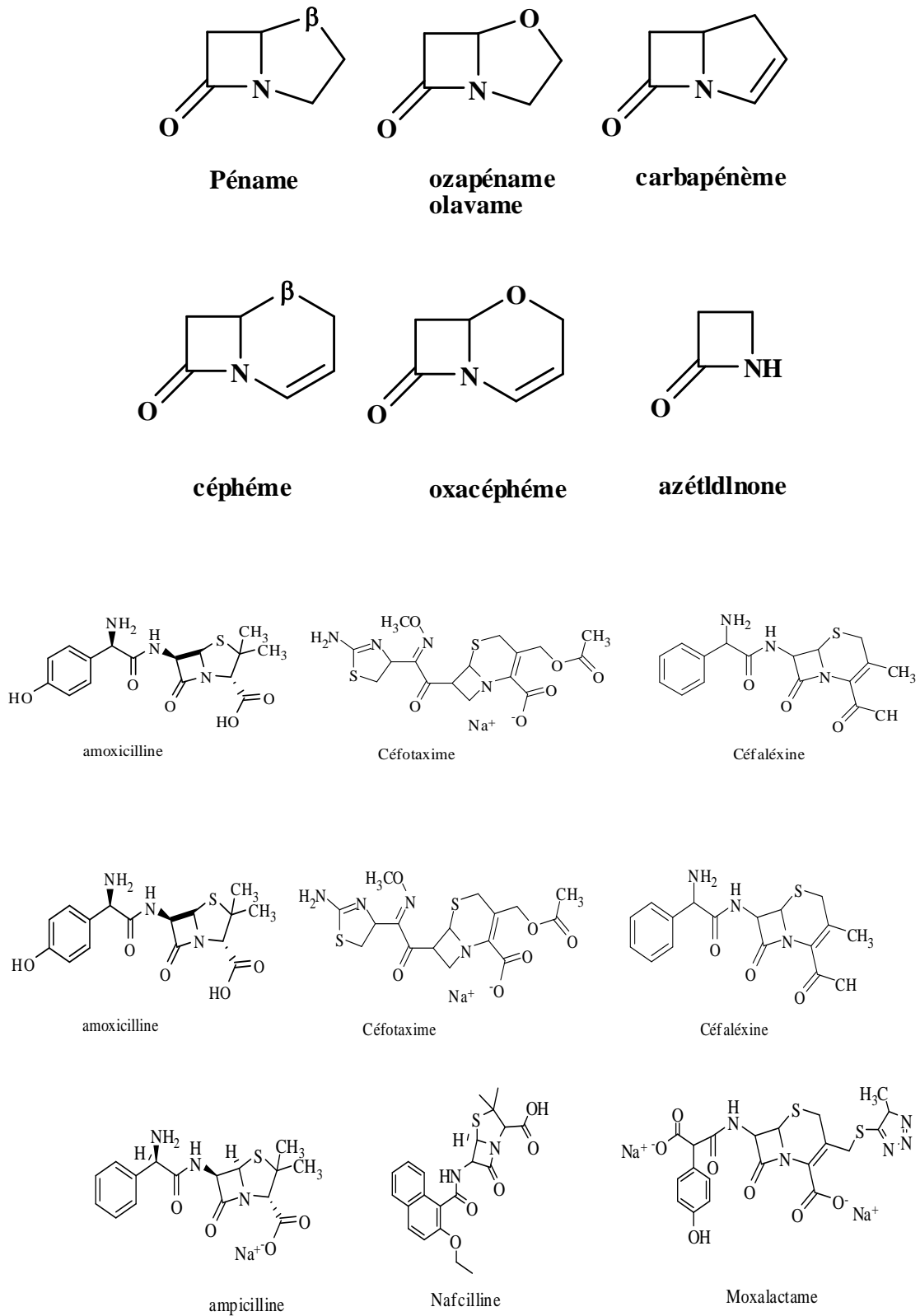


Fig n° II. 3 : Structures chimiques de quelques antibiotiques de la famille des β lactamines

La figure n°II.4 présente :

- Un ensemble de structures chimiques de principaux antifongiques tel que l'amphotéricine B et le Fluconazole.

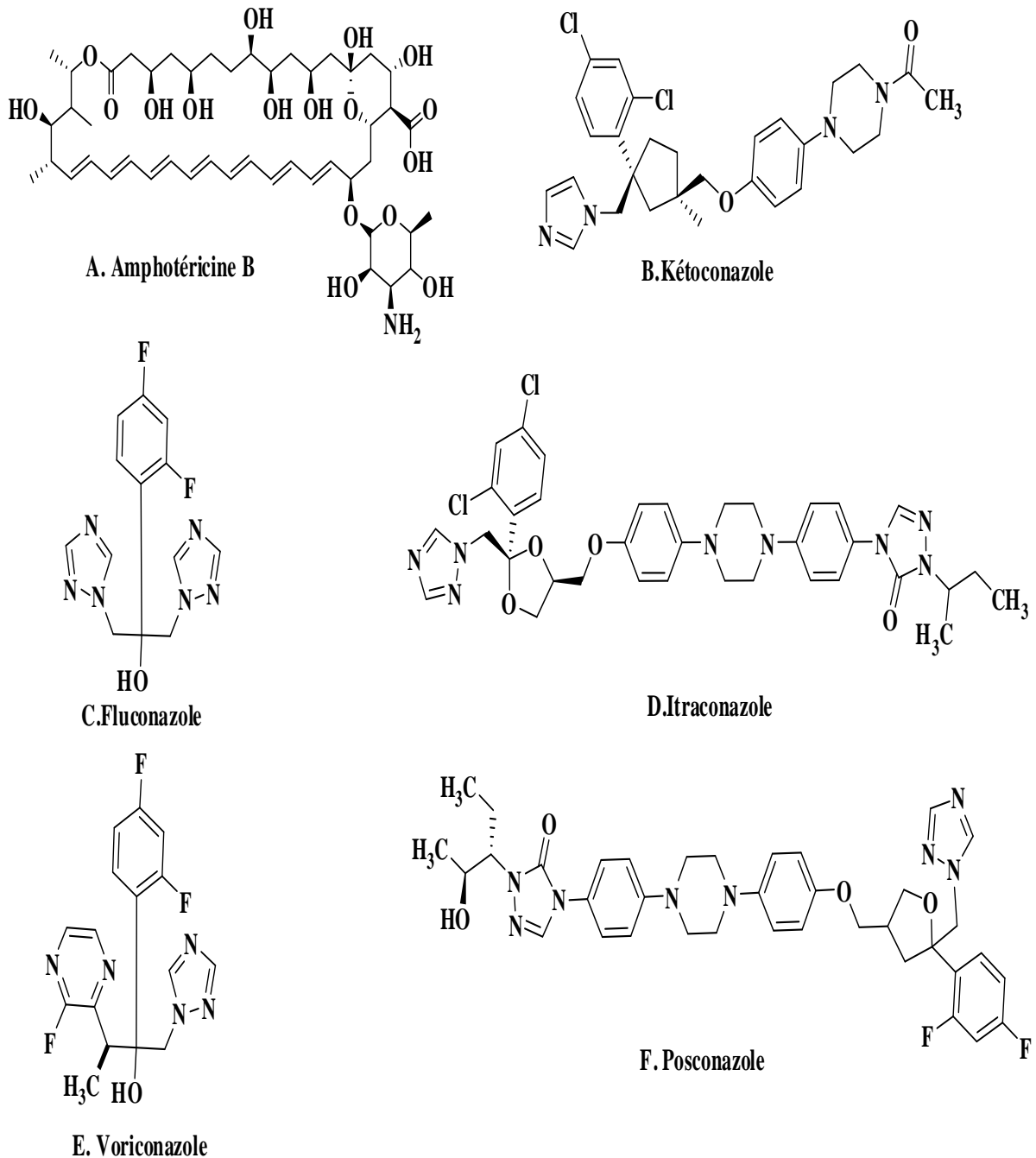


Fig n°II.4 : Structures chimiques des principaux antifongiques [95]

Chapitre II: Plantes médicinales et leurs actions sur les souches nosocomiales

Les antibiotiques agissent par inhibition de la cible spécifique soit de manière réversible tel que Quinolone ou irréversible tel que β lactamines.

Nous présentons par la figure n°II.5 les différentes cibles convoitées par les antibiotiques.

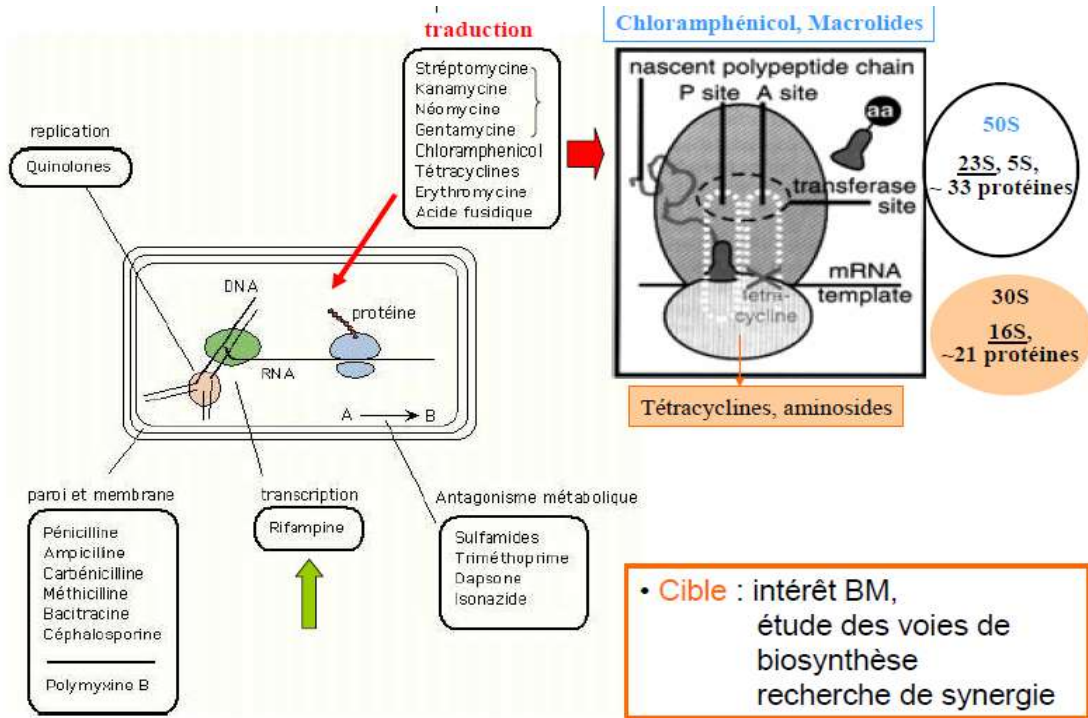


Fig n°II.5 : différentes cibles de quelques antibiotiques [94]

La figure n°II.6 présente les différentes cibles des principaux antifongiques utilisés.

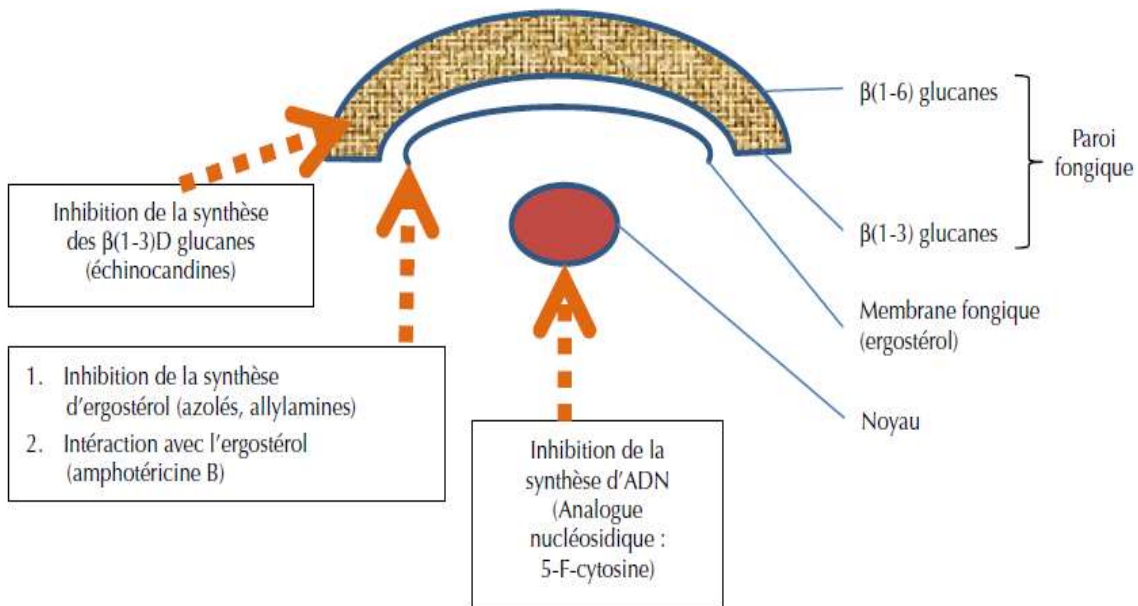


Fig n°II.6 : les différentes cibles des principaux antifongiques [95]

Chapitre II: Plantes médicinales et leurs actions sur les souches nosocomiales

Un développement important est observé dans le domaine de la phytochimie dans le but d'isolement, de purification et d'identification des métabolites secondaires, ainsi des techniques d'extraction conventionnelles et non conventionnelles ont été développées, des couplages avec les méthodes analytiques et spectroscopiques telles que la GC-MS et HPLC-MS ont été mises en œuvre ce qui a permis l'identification des milliers de substances naturelles.

Conclusion

De nombreuses recherches scientifiques sont en quête de molécules naturelles bioactives qui nécessitent le recours à diverses disciplines telles que l'ethnobotanique, l'ethnopharmacologie, la chimie, la biologie avec utilisation accrue de techniques technologiques de pointe tels que la PCR, les Analyses spectrales permettant la caractérisation chimique constitutionnelle et structurale.

La présente étude est axée sur la recherche de nouvelles molécules bioactives isolées et purifiées à partir d'extraits de plantes de la famille des *Asteraceae* par le biais des analyses chromatographiques et spectrales.

PARTIE II
ETUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE III

**STRUCTURES HOSPITALIÈRES ET INFECTIONS
NOSOCOMIALES AU SUD OUEST ALGÉRIEN**

III-A METHODOLOGIE ET MATÉRIELS

III-B RESULTATS ET DISCUSSION

III.A. METHODOLOGIE ET MATERIELS

Nous avons, préalablement, procédé à la collecte de données auprès des différents services avant d'entamer l'étude de la qualité microbiologique bactérienne et fongique des environnements des différentes structures hospitalières investiguées.

III.A.1. Structures hospitalières investiguées

Les structures hospitalières à investiguer sont au nombre de cinq appartenant à quatre wilayas du sud ouest algérien et qui sont présentés par le tableau n° III.A.1 :

Tableau n° III.A.1: Structures hospitalières investiguées

Wilaya	Hôpitaux investigués	Caractéristiques
Bechar	Hôpital Mohamed Boudiaf	Mère –enfant santé publique
	Hôpital Tourabi Boudjemaa	santé publique
Benni Abbes	Hôpital Mohamed Yagoub	santé publique
El-Bayadh	Hôpital Mohamed Boudiaf	santé publique
Adrar	Hôpital Ibn Sinaa	santé publique
Tindouf	Hôpital Si El Haouasse	hôpital mixte « santé publique et militaire »

III.A.2. Collecte de données

Afin de recueillir le maximum d'informations auprès des structures hospitalières en vue d'investigation, nous avons établis un ensemble de questionnaires relatifs, à l'ensemble des étapes de la démarche de notre étude, qui sont présentés en **annexe 4**.

Ces derniers se présentent comme suit :

- Questionnaire relatif au suivi du traitement des Déchets en milieu hospitalier,
- Questionnaire relatif au suivi du traitement du linge en milieu hospitalier,
- Questionnaire relatif à la préparation des biberons et des médicaments pour chimiothérapie,
- Questionnaire relatif au suivi de la désinfection des incubateurs pour prématurés en néonatalogie.

Les questionnaires dressés furent adressés aux différents services des structures hospitalières explorées. Nous avons complété ces derniers par un questionnaire global de collecte de données administratives représentées par le tableau n°III.A.2:

Chapitre III : Structures hospitalières et infections nosocomiales au sud ouest Algérien

Tableau n°III.A.2: Questionnaire global de collecte de données administratives : enquête nosocomiale.

structures hospitalières investiguées	Moyenne d'hospitalisations / an	Nombre de Lits	Population prise en charge	Nombres de Services hospitalier	Ratio de la capacité globale des structures hospitalières par wilaya		
					lits/1000 habitants	médecin spécialiste / habitants	médecin généraliste / habitants
Bechar H. mère/Enfant Mohamed Boudiaf	?	?	?	?	?	?	?
Bechar Tourabi Boudjema	?	?	?	?			
Benni Abbes Mohamed yagoub	?	?	?	?			
El Bayadh Mohamed Boudiaf	?	?	?	?	?	?	?
Adrar Ibn Sinaa	?	?	?	?	?	?	?
Tindouf Si El Haouasse	?	?	?	?	?	?	?

III.A.3. Etude de la qualité microbiologique des environnements hospitaliers investigués

L'étude de la qualité microbiologique des environnements hospitaliers investigués à concerné :

a] L'étude de la contamination des surfaces de locaux près à la réception de nouveaux malades ou de matériels près à un nouveau usage, après éventuel bio-nettoyage et désinfection.

b] L'étude de l'aérobiocontamination des surfaces qui concerne la collecte par dispositif passif de particules qui contaminent les surfaces en provenance de l'air ambiant de locaux près à la réception de nouveaux malades.

Chapitre III : Structures hospitalières et infections nosocomiales au sud ouest Algérien

L'étude de la contamination des surfaces et celle de l'aérobiocontamination des surfaces à concerné un nombre de services variable d'une structure à une autre et qui sont présentés par le tableau n° III.A.3:

Tableau n° III.A.3 :Nombre de services investigués par structures hospitalières

Structure hospitalière	Adrar Ibn Sina	Bechar Tourabi Boudjema	Bechar Mohammed Boudiaf	Benni Abbes Mohamed yagoub	El Bayadh Mohamed Boudiaf
Nombre de services investigués	05	22	09	09	09

Remarque: Les niveaux de biosécurité établis pour chaque structure investiguée relatent l'état microbiologique : bactérien et fongique des services investigués.

III.A.3.1. Etude de la qualité microbiologique des surfaces des structures hospitalières

L'étude de la qualité microbiologique des surfaces est réalisée à partir de prélèvements permettant la mise en évidence des différentes souches bactériennes et fongiques qui persistent après bionétoyage et parfois même après désinfection.

III.A.3.1.1. Choix de la technique de prélèvement de surfaces

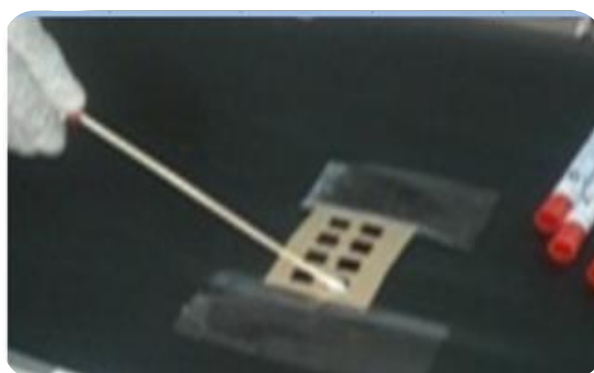


Photo n° III.A.1 : Cadrant utilisé pour la réalisation des prélèvements des surfaces

Afin d'orienter notre choix sur une technique adéquate à adopter pour la réalisation des prélèvements environnementaux en milieux hospitaliers voir photo n° III.A.1, nous

avons évalué quatre techniques différentes afin d'adopter celle mettant en évidence le maximum de souches viables présentes.

Les techniques évaluées se présentent comme suit:

L'ensemble des techniques évaluées sont réalisées par écouvillonnage humide.

- Techniques directes sans enrichissement:
 - sans usage du tween : MD
 - Avec usage du tween : MDT
- Techniques indirectes avec enrichissement:
 - sans usage du tween : ME
 - Avec usage du tween: MET

Les prélèvements ont été effectués en milieu hospitalier auprès de trois services différents. Les prélèvements ont concernés trois chambres pour chaque service. Pour les prélèvements de l'air, on a eu recours aux normes ISO 14698-1 2 et la norme ISO14644-1 tandis que les prélèvements de surfaces ont été effectués au niveau des surfaces de tables ayant subi un bio-nettoyage au niveau de chambres vides prêtes à accueillir de nouveaux malades.

Pour les prélèvements bactériologiques, nous avons utilisé deux milieux de cultures différents et qui sont la gélose au sang et le milieu Trypticase caséine soja agar concernant les prélèvements mycologiques. Nous avons utilisé le milieu de culture Sabouraud, recommandé par la norme NF S 90-351 et la norme ISO14698-1 2.

Les conditions opératoires pour les prélèvements de surface des différentes techniques testées figurent dans le Tableau n° III.A.4 : Conditions opératoires pour les prélèvements de surfaces

III.A.3.1.2. Etude de la contamination des surfaces explorées au niveau des différentes structures hospitalières investiguées : Conditions et points de prélèvements

Après avoir choisi la méthode la plus rentable en qualité et en nombre, nous procéderons à l'étude de la qualité microbiologique des surfaces à étudier de l'ensemble des structures investiguées selon les normes, voir photo n° III.A.2[96] qui seront utilisées pour évaluer la maîtrise de la qualité microbiologique des environnements hospitaliers investigués.

La méthode de choix sera réalisée sur une surface de 25cm² selon les normes de références.

Tableau n° III.A.4 : Conditions opératoires pour les prélèvements de surfaces

Nature des prélèvements	Techniques des prélèvements**	Conditions communes des Prélèvements Effectués	Usage du Tween	étape d'enrichissement	Milieu de culture*	Incubation	Conditions communes de culture pour les Méthodes Directes	Conditions communes pour les Méthodes s		
Prélèvements bactériologiques: PB	MD	Prélèvement par écouvillonnage humide avec l'eau physiologique, par stries serrées balayant toute la surface puis stries perpendiculaires aux premières balayant toute la surface, après avoir tourné l'écouvillon, sur une surface de 2Cm ² .	Non	Non	GS / TCSA	37°C /48H	Incubation pendant	Incubation du BN pendant 24 H à 37° C		
	ME		Non	Oui	GS / TCSA/ BN	J1: 37°C/24H pour BN. J2: 37°C /48H pour GS et TCSA				
	MDT		Oui	Non	GS / TCSA	37°C /48H				
	MET		Oui	Oui	GS / TCSA/BN	J1: 37°C/24H pour BN. J2: 37°C /48H pour GS et TCSA				
	Prélèvements Mycologiques: PM		MD	Non	Non	Sa			30°C pendant 7jours	Déchargement de l'écouvillon à la surface de la gélose sous forme d'étoile épaisse sous forme de stries très serrées, Incubation pendant 48H pour les PB et 7jours pour les PM
			ME	Non	Oui	Sa /Sa liquide			J1: Sa liquide 30°C pendant 24h J2: Sa pendant 7jours	
			MDT	Oui	Non	Sa			30°C pendant 7jours	
			MET	Oui	Oui	Sa./Sa liquide			J1: Sa liquide 30°C pendant 24h J2: Sa pendant 7jours	
		*Gélose au sang cuit * TCSA : Trypticase caséine soja agar * BN: Bouillon nutritif * Sa: Sabouraud *J1 et J2 Premier et Deuxième jour								

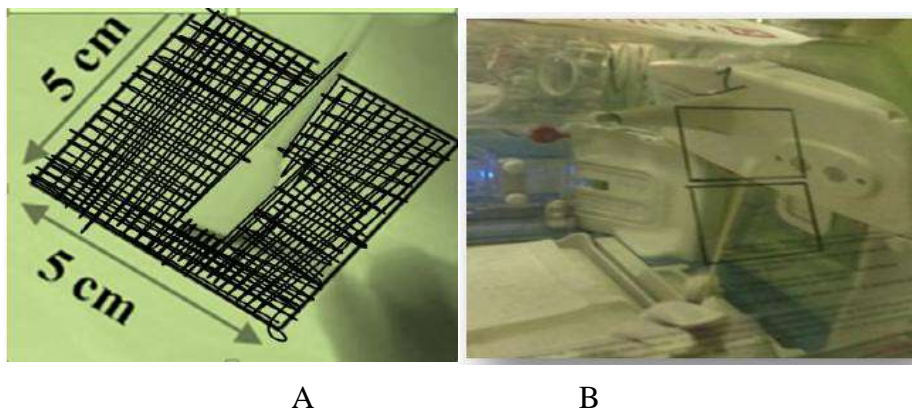


Photo n° III.A.2: Surface adoptée pour la réalisation des prélèvements de surfaces
A: Divers surfaces prélevées. **B:** Surface prélevée au sein d'un incubateur pour prématurés.

Les prélèvements de surfaces ont été effectués au niveau de :

- Chambres vides prêtes à accueillir de nouveaux malades,
- Couveuses désinfectées prêtes à la réception d'un nouveau prématuré,
- Salles de blocs opératoires près à la réception d'un nouveau malade à opérer.

Les services et les points de prélèvements réalisés sont présentés par les tableaux n° III.A.5:

Tableau n° III.A.5 : Conditions et points de prélèvements des surfaces investiguées au niveau des différentes structures hospitalières

Services investigués	Points de prélèvement	Conditions du prélèvement
Services hospitaliers	Tables et Lits Utilisés par les malades	Après bionétoyage
Service de néonatalogie	Face interne des hublots des incubateurs pour prématurés	Après Bionétoyage
Bloc opératoire	- Table d'opération, -Tiroirs, Chariots, - Masques à oxygène, - Aspirateurs, - Tiroirs à médicaments.	Salle, matériels, et dispositifs près à l'usage pour une nouvelle intervention chirurgicale: - Table d'opération, - Masque à oxygène utilisé pour assurer la ventilation artificiel du malade lors de l'opération, - Aspirateurs utilisés pour aspirer les liquides, - Chariots utilisés en salles d'opération pour les instruments chirurgicaux utilisés, - Tiroirs à médicaments contenant drogues d'anesthésies et antibiotiques.

III.A.3.2. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des structures hospitalières investiguées : Conditions et points de prélèvements

Cette étude a concerné ce qui suit:

- Les salles non occupées par les malades hospitalisés, mais prêtes à accueillir de nouveaux malades : divers services d'hospitalisation,
- Les incubateurs pour prématurés : services de néonatalogie,
- Les salles d'intervention chirurgicales : blocs opératoires.

III.A.3.2.1. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des salles non occupées par les malades hospitalisés

L'aérobiocontamination renseigne sur la contamination probable d'une surface déterminée par la sédimentation des particules aéroportées pendant un temps déterminé. Pour cet effet, nous avons adopté la norme ISO14644-1 et la norme ISO/DIS 14698-1 qui se présente comme suit:

***La norme ISO14644-1** qui recommande la collecte directe sur milieu gélosé spécifique des particules viables en suspension dans l'air ambiant, par chute libre sur une surface déterminée et pendant un délai défini.

Le tableau n°III.A.6 présente les conditions opératoires de la méthode de la norme ISO14644-1

Tableau n°III.A.6: Conditions opératoires pour les prélèvements de l'air selon la norme ISO14644-1 [97]

Nature des prélèvements	Techniques des prélèvements **	Milieux de culture*	Moyen de prélèvement***	Temps de prélèvement***
Prélèvements bactériologiques	MA1	GS	Boite de Petrie de 90 mm	4 heures
Prélèvements Mycologiques	MA1	Sa	Boite de Petrie de 90 mm	4 heures
*Gélose au sang cuit et Gélose BHIB * Sa: Sabouraud ** MA1 : Méthode Air 1 *** Norme ISO14644-1				

Les prélèvements sont effectués dans des salles non occupées par les malades, mais prêtes à accueillir de nouveaux malades.

*** La norme ISO/DIS 14698-1 [100]**

- Les points de prélèvements au sein de chaque salle ont été choisies selon la norme ISO/DIS 14698-1, qui recommande trois points de prélèvements et qui sont :

- à l'entrée,
- dans un secteur où le personnel se situe de manière permanente,
- dans un secteur peu fréquenté.

III.3.A.2.2. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des incubateurs pour prématurés en néonatalogie: Conditions et points de prélèvements



Photo n° III.A.3 : Prélèvement de l'air au sein des incubateurs pour prématurés

Les prélèvements réalisés sont effectués selon la norme ISO14644-1 et la norme ISO/DIS 14698-1 dont nous avons modifié les paramètres espace et temps relatifs au volume d'air restreint des incubateurs pour prématurés. Voir photo n°III.A.3.

Les modifications effectuées sont présentées par le tableau n°III.A.7:

Tableau n°III.A.7 : Conditions opératoires des prélèvements selon la norme ISO14644-1 et ISO/DIS 14698-1, modifiées pour le volume d'air au niveau des incubateurs en néonatalogie

Paramètres	Norme	Durée /emplacement* Initial(e)	Durée /emplacement* Modifié(e)
Temps	ISO14644-1	4 heures	1heure**
Espace	ISO/DIS 14698-1	Entrée	Coté tête
		Secteur où le personnel se situe de manière permanente	Centre de l'habitable
		dans un secteur peu fréquenté	Coté pieds
* Durée du temps d'exposition de la boîte de pétri contenant le milieu de culture à l'air pour la sédimentation des particules en suspension.			
*endroit de dépôt de la boîte de pétri à exposer pour recueillir les particules biologiques en suspension par sédimentation.			
** Relatif à la hauteur moyenne d'une couveuse			

Chapitre III : Structures hospitalières et infections nosocomiales au sud ouest Algérien

La modification de la durée du temps d'exposition de la boîte de Pétri, contenant le milieu de culture à l'air pour recueillir les particules biologiques en suspension par sédimentation, a été calculé en tenant compte de la hauteur de la couveuse qui est d'une valeur moyenne de 1 mètre. Les modifications ont été effectuées selon la logique suivante:

Donc, si on suppose que pour une salle d'une hauteur moyenne de 4 mètres la durée d'exposition est de 4 heures, celle d'une hauteur de 1 mètre sera d'une durée d'une heure seulement.

III.A.3.2.3. Etude de l'aérobiocontamination des surfaces des blocs opératoires: Conditions et points de prélèvements

Nous avons adopté la même technique que celle utilisée pour l'évaluation de l'aérobiocontamination des surfaces des salles des services hospitaliers. Notre exploration microbiologique a concerné un ensemble de onze salles d'interventions chirurgicales de blocs de différentes spécialités réparties au niveau de différentes structures hospitalières du sud-ouest algérien.

Le tableau n°III.A.8 présente la répartition des différents blocs opératoires investigués:

Tableau n°III.A.8 : Répartition des différents blocs opératoires investigués:

Hôpital	Bloc opératoire du service de	Nombre de salle d'intervention chirurgicale	niveau de risque*	Conditions de prélèvements	
Tourabi Boudjemaa Bechar	Traumatologie	1	4	Prélèvements réalisés dans des salles d'intervention chirurgicales prêtes pour la réception de nouveaux opérés	
	ORL	1	3		
	Chirurgie générale	3	3		
mère-Enfant Mohammed Boudiaf Bechar	Chirurgie infantile	1	4		
	Gynécologie - Obstétrique	2	3		
Mohammed yagoub Benni Abbes	Chirurgie générale	1	3		
Mohammed Boudiaf D'El Bayadh	Chirurgie générale	1	3		
Ibn Sinna Adrar	Chirurgie générale	1	3		
* niveau de risque de contamination 1 :Réduit * niveau de risque de contamination 2: Moyen * niveau de risque de contamination 3: élevé, * niveau de risque de contamination 4: Potentiellement élevé.					

III.A.3.3. Traitements des prélèvements réalisés

III.A.3.3.1. Acheminement

Les prélèvements sont directement acheminés au laboratoire de la structure hospitalière investiguée.

Les milieux de culture et réactifs utilisés figurent en **Annexe 6**

III.A.3.3.2. Culture

*Prélèvement de l'air

Les prélèvements sont directement incubés après leur réception au laboratoire de microbiologie de la structure hospitalière investiguée.

* Prélèvement de surface

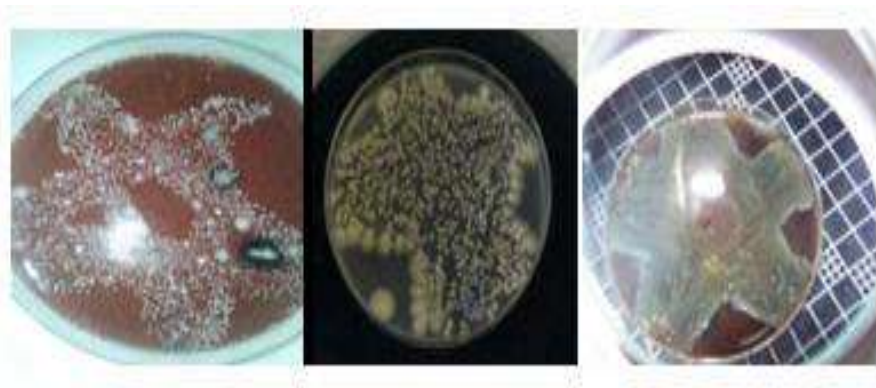


Photo n° III.A.4 : Culture en étoile par écouvillonnage humide [Résultats]

Afin de décharger les écouvillons utilisés pour la réalisation des prélèvements, nous avons eu recours à la technique de culture en étoile constituée à partir de stries très serrées. voir photo n° III.A.4.

III.A.3.3.3. Incubation des prélèvements réalisés

* Les cultures bactériennes sont incubées à 37°C pendant 24h à 48h

* Les cultures fongiques sur milieu Sabouraud sont incubées à 30°C pendant 7 jours. La lecture sera effectuée quotidiennement [98] selon la norme NF S 90-351 [99] et la norme ISO 14698-1 2 [100].

III.A.3.3.4. Dénombrement



Photo n° III.A.5 : Dénombrement des colonies à l'aide d'un compteur de colonies

Concernant les cultures bactériennes, on a deux cas :

-1 Un dénombrement simple est effectué après 24h d'incubation à 37°C par simple comptage du nombre de colonies mises en évidence qui sera interprété par nombre D'UFC, c'est-à-dire Unité Formant Colonie. voir Photo n° III.A.5.

-2 Un dénombrement d'UFC et recensement des types de colonies mises en évidence est effectué après 48h d'incubation à 37°C, car après ce délai d'incubation le recensement des différents types de colonie est plus aisé à cause de l'apparition de couleur et d'hémolyse tardive, ce qui permet une lecture plus aisée.

III.A.3.3.5. Près identification des souches bactériennes nosocomiales isolées



Photo n°III.A. 6 Purification des souches nosocomiales isolées

Les souches soumises à la près identification sont dans un premier temps isolées et purifiées.

Les réactifs et techniques utilisés figurent en **annexe 5**.

III.A.3.3.5.1. Près identification des souches isolées lors de l'évaluation des différentes techniques de prélèvement des surfaces

Les tests utilisés pour la près identification des souches isolées lors de l'évaluation des différentes techniques de prélèvement des surfaces se présentent comme suit:

- 1- Test de catalase,
- 2- Test d'oxydase,
- 3-Api 10 S,
- 4- Api NH,
- 5- Test de Staphylocoagulase,
- 6-Tests d'agglutination au Latex pour l'identification de *Staphylococcus aureus* Pastorex™ Staph Plus,
- 7-Tests d'agglutination au Latex pour l'identification de *Streptococcus* Pastorex™ Strep Bio-Rad Laboratories.

III.A.3.3.5.1. Près identification des souches isolées au près de l'ensemble des structures hospitalières investiguées

La réalisation de la coloration de Gram nous a permis de définir les taux des différents groupes bactériens mis en évidence que nous avons répartis en Cocci ou Bâtonnets Gram Positif ou Négatif.

III.A.3.3.6. Près identification des souches Fongiques nosocomiales

III.A.3.3.6.1 Levures

Pour les colonies à délais de croissance réduit et qui conserve une petite taille similaire a celle des bactéries, même après des délais d'incubation prolongés, nous avons procédé à une simple identification par observation microscopique d'un état frais à l'objectif 40X afin de mètre en évidence la présence des spores isolées ou bourgeonnantes des levures identifiées :

Présence de spores isolées ou bourgeonnantes, absence de formation de filaments mycéliens. [101]

Cas particulier : Identification de levures utilisées pour tester l'effet antifongique : *Candida albicans*

- délai de croissance des colonies
- Critères macroscopique des colonies obtenues sur gélose Sabouraud
- Critères microscopique : test de blastèse

III.A.3.3.6.2 Moisissures

Afin d'identifier les moisissures nosocomiales isolées, nous avons utilisé deux techniques qui sont La technique du drapeau et La méthode Pitt et Ramirez.

a) La technique du drapeau

L'identification microscopique est orientée par une identification macroscopique des colonies présentes sur gélose Sabouraud relative aux caractères cultureux morphologiques ainsi qu'au délai de croissance.

Les limites d'identification de cette technique se traduisent par l'identification du genre de la souche fongique identifiée.

Afin d'observer les différentes fructifications des moisissures, on a recours à la technique du drapeau décrite ci-dessous [110, 111]. Voir **Fig n° III.A.1.**

- A partir d'une vieille culture fongique réalisée sur milieu Sabouraud, on prélève à l'aide de ruban adhésif transparent, qu'on applique légèrement sur les bords de la colonie fongique afin d'y accoler les spores ou fructifications fongique à observer.

Les fructifications mises en évidence permettent l'orientation sur l'identification du genre des colonies fongiques identifiées.

- Le ruban adhésif transparent qui a servi au prélèvement est appliqué sur une lame porte objet sur laquelle, on a préalablement mis une goutte de Bleu coton dans la composition figure en **annexe 5.**

- Réalisation d'une observation microscopique à l'aide du microscope optique objectif 40X: Afin de rechercher les spores des levures et les différentes fructifications et spores des moisissures. Voir Photo n° III.A.7.



Photo n° III.A.7 : Technique du drapeau : préparation/ résultat

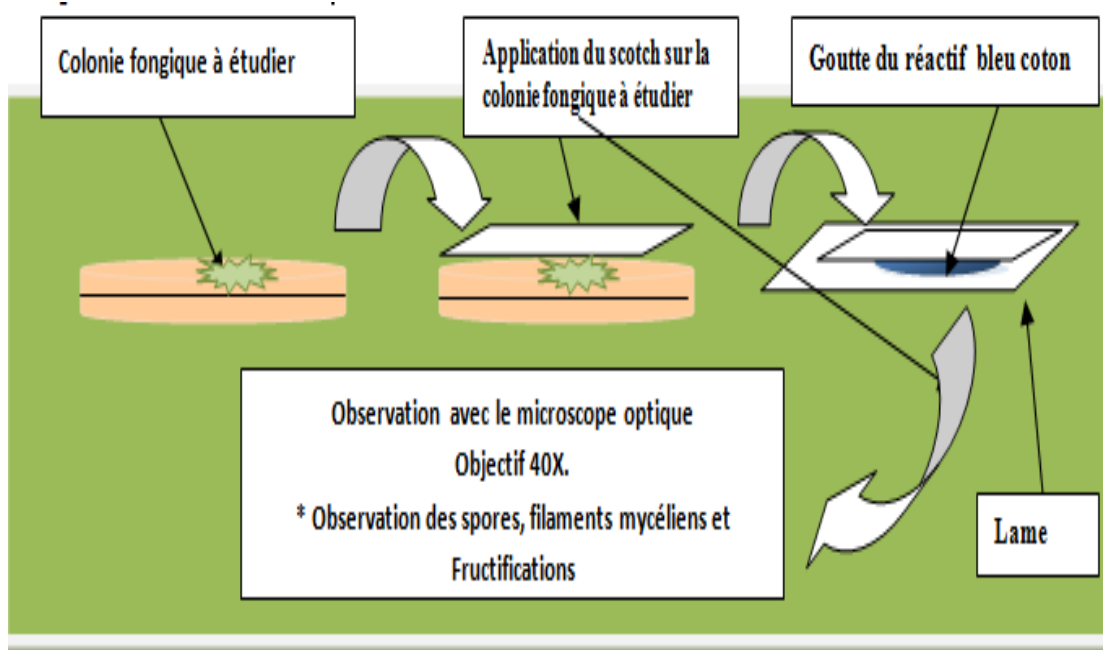


Fig n° III.A.1 : Technique du drapeau pour l'identification du genre des souches fongiques

b) La méthode de Pitt et Ramirez

Afin de près identifier les espèces nosocomiales du genre *Aspergillus* par le biais desquelles sera testé l'effet antifongique, nous avons eu recours à la méthode décrite par Pitt et Ramirez [110,111] qui consiste à l'inoculation de quelques spores prélevée avec une pipette Pasteur à partir d'une culture, d'un délai de cinq jours, dans des tubes à hémolyse contenant une suspension semi solide à base de 0,2% d'Agar et 0,05ml de Tween 80, afin d'homogénéiser la répartition des spores inoculées, on procède à une forte agitation, par le biais du vortex.

À partir desquels, on effectue un ensemencement sur trois milieux de cultures différents permettant l'identification des espèces du genre *Aspergillus* à savoir :

- * MEA: Malt Extract Agar : Fournie des informations sur la couleur du thalle à 25°C.
- * G25N: 25% Glycérol Nitrate Agar : à A_w faible donne une vitesse de croissance qui varie en fonction de l' A_w à une température constante de 25°C.
- * CYA: Czapek Yeast Agar : donne une vitesse de croissance qui varie en fonction de l' A_w à des températures variables de 5°C et 37°C.

La lecture se fait après 7 à 14 jours d'incubation en se référant aux clefs d'identification de Pitt et Ramirez [112, 113].

III.A.3.4. Modalités d'interprétation des résultats obtenus à partir des prélèvements environnementaux réalisés: Aérobiocontamination et contamination des surfaces

Le traitement de l'ensemble des prélèvements environnementaux, air et surface effectués auprès des structures hospitalières investiguées, a concerné le dénombrement des colonies obtenues, qui est par la suite converti en unité formant colonie UFC dont les valeurs seront traitées afin d'évaluer les niveaux de biosécurité microbiologique.

III.A.3.4.1. Niveau de biosécurité atteint par structure hospitalière investiguées

Les niveaux de biosécurité présentés lors de la présente étude représentent les taux de services répondant aux normes de biosécurité requise, qui se traduit par le niveau cible et les taux de services qui ne répondent pas aux normes de sécurité requise et qui se traduisent par le niveau d'alerte et niveau d'action.

Nous avons établi ces derniers à partir des limites de sécurité microbiologiques de la norme ISO 14644-1 [97] pour les prélèvements de l'air et ceux des normes du Guide de Bionétoyage [96] concernant les prélèvements de surface.

Ils sont basés sur le nombre d'UFC (Unité Formant Colonie) obtenu pour chaque prélèvement effectué au niveau des services et structures hospitalières investiguées. Ces derniers sont interprétés comme suit:

Niveau cible : Ce niveau est recherché car il confirme la maîtrise de l'environnement investigué. Ce niveau est obtenu lorsque le nombre d'UFC obtenu est inférieur ou égale aux limites recommandées par les normes appliquées.

Niveau d'alerte : Ce niveau est atteint lorsque le nombre d'UFC dépasse légèrement les normes appliquées. Ce dernier fait généralement appel à la réalisation de nouveau prélèvements dans les plus brefs délais accompagnés d'une vigilance dans la mise en marche des protocoles déjà instaurés.

Niveau d'action: Ce niveau de biosécurité est atteint lorsque le nombre d'UFC obtenu dépasse largement les limites recommandées par la ou les normes appliquées ou lorsqu'il y a dans l'environnement présence de germes potentiellement pathogène tel que *Aspergillus*. Ce niveau est le plus redouté car il implique la mise en œuvre des actions correctives immédiates afin d'éviter les conséquences graves de contamination microbienne probable à haut risque.

Le taux de niveau cible pour une structure hospitalière a été obtenu comme suit:

Chapitre III : Structures hospitalières et infections nosocomiales au sud ouest Algérien

$$TNC_{SH} = \frac{NS_{NC}}{NS_T} \times 100$$

TNC_{SH} : Taux de niveau cible pour une structure hospitalière

NS_{NC} : Nombre de services ayant atteint le niveau cible

NS_T : Nombre total des services investigués

Remarque : - Cette formule est valable pour les autres niveaux de biosécurité

NB: Dans certaines situations particulières le niveau d'alerte et celui d'action sont confondus.

Les normes appliquées sont données par les tableaux n° III.A.9, n° III.A.10 et n° III.A.11.

Tableau n° III.A.9: Normes des niveaux de biosécurité atteints en salle d'intervention chirurgicale [106]

Type de salles	Aspergillus ou autre champignons filamenteux	Germes totaux
Salle d'opération	Cible : inf 1	Cible: inf ou égale à 5 et absence de germe pathogène
	Alerte: 1	Action: Sup à 5 ou présence de germe pathogène
	Action: 1	

Tableau n° III.A.10 : Limites recommandées de contamination microbiologique de l'Air [97]

Limites recommandées de contamination microbiologique (Valeurs moyennes en colonies formants Unité UFC)		
Grade	ISO	Boite de Pétri (90mm dia.) UFC/4h
	14644-1	
A	Niveau 4	<1
B	Niveau 3	5
C	Niveau 2	50
D	Niveau 1	100

Tableau n° III.A.11 Limites recommandées de contamination microbiologique des surfaces (bio-contamination des surfaces) [96]

Risque	Colonies par 25 cm ²
4 et 3	< 5
2	< 50
1	<125

III.A.4. Exploration de la population de souches de *Staphylococcus aureus* au sein du personnel exerçant en milieu hospitalier: dysfonctionnement du system *agr* et polypharmacorésistance : Conditions et points de prélèvements

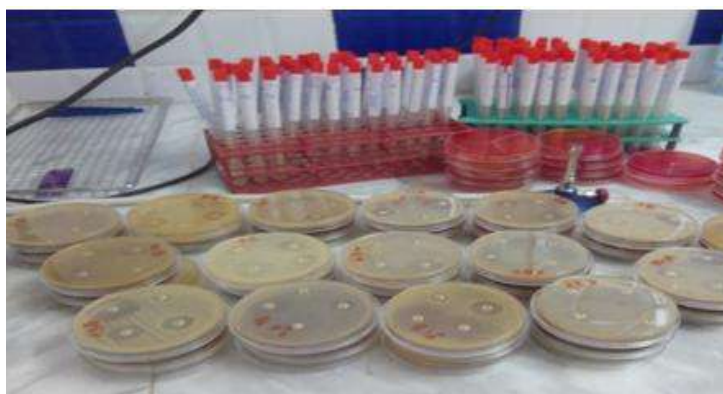


Photo n° III.A.8 : Exploration de la population de souches de *Staphylococcus aureus* au sein du personnel exerçant en milieu hospitalier

Ce volet d'étude est un suivi de l'expression in vitro du dysfonctionnement du système *agr* et de la pigmentation jaune, sur gélose au sang des souches de *S. aureus* colonisant le personnel hospitaliers, afin d'établir une corrélation entre les phénotypes exprimés et la capacité de colonisation ainsi que la résistance de ces dernières à une gamme d'antibiotiques prescrits à leur rencontre.

III.A.4.1. Prélèvements

Les souches testées seront prélevées auprès du personnel hospitalier exerçant en milieu hospitalier et cela au niveau de deux structures hospitalières du sud-ouest algérien de la wilaya de Bechar.

*Hôpitaux concernés : Hôpital Tourabi Boudjemaa et hôpital mère- enfant Mohammed Boudiaf.

*Personnel concerné :

Chapitre III : Structures hospitalières et infections nosocomiales au sud ouest Algérien

- Personnel Médical médecins au nombre de 10,
- Personnel para Médical infirmiers et infirmières au nombre de 10
- Personnel servants de salles femme de ménage agents de sécurité nombre 10
- Personnel administratif : secrétaire, standardistes, agents de bureau nombre 10.

Un ensemble de 160 prélèvements furent réalisés par la technique d'écouvillonnage humide au niveau de la main droite plus précisément au niveau des plis situés entre le pouce et l'index et d'écouvillonnage sec au niveau des fosses nasales.

* Portage nasal : prélèvement réalisé au niveau des fosses nasales par écouvillonnage sec après avoir demandé à la personne de se moucher le nez efficacement.

* Portage manuel : plis entre les doigts des mains, entre le pouce et l'index . Voir **Photo n° III.A.9.**

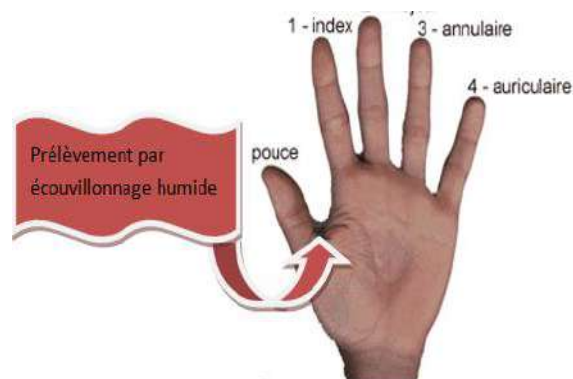


Photo n° III.A.9: Localisation du site de Prélèvement par écouvillonnage humide au niveau de la main

III.A.4.2. Acheminement

Acheminement immédiat des prélèvements réalisés vers le laboratoire de la structure investiguée.

III.A.4.3. Culture

Culture directe des échantillons recueillis sur un milieu sélectif qui est le milieu Chapman à 6% de NaCl afin d'isoler les souches de *Staphylococcus aureus*.

III.A.4.4. Incubation

Incubation à 37°C pendant 24H

III.A.4.5. Lecture

Lecture Après 24 heures recensement des cultures positives.

III.A.4.6. Près Identification

Afin de près identifier les souches isolées sur milieu de culture Chapman, nous avons effectué les tests suivants:

- 1 - Test de la Staphylocoagulase [107, 108].
- 2 - Api Staph [109]
- 3 -Tests d'agglutination au Latex pour l'identification de *Staphylococcus aureus* Pastorex™ Staph Plus.

III.A.4.7. Collections des souches du genre *Staphylococcus* testées

Nous avons constitué une collection de 35 souches du genre espèce *Staphylococcus aureus* que nous avons soumis aux tests suivants:

- 1- Dépistage des souches présentant un dysfonctionnement du system *agr* par mise en évidence de l'hémolyse sur gélose au sang de cheval [110].
- 2- Dépistage des souches productrices de pigmentation jaune.
- 3- Dépistage des souches résistantes à la méticilline par le biais du test de la résistance à la céfoxitine et à l'oxacilline [111 ,112].
- 4- Dépistage des souches résistantes à la vancomycine [112].
- 5- Antibiogramme complémentaire constitué d'un ensemble de molécules antibiotiques recommandées pour tester les souches du genre *Staphylococcus spp* [113].

Le tableau n° III.A.12 regroupe l'ensemble des antibiotiques testés vis à vis des souches du genre *Staphylococcus*:

Tableau n° III.A.12 : Antibiotiques testés vis à vis des souches du genre *Staphylococcus*

Antibiotiques	Famille	Charge des disques
Vancomycine	Glycopeptide	30 µg
Céfoxitine	bêta-lactamines	30 µg
Oxacilline	bêta-lactamines	5 µg
Gentamicine	Aminoside	15 µg (10 UI)
Ciprofloxacine	Fluoroquinolone	5 µg
Fosfomycine	Autres	50 µg
Ofloxacine	Fluoroquinolone	5 µg
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	Sulfamides	1,25+23,75 µg

III.A.4.7.6. Etude de la relation résistance aux antibiotiques et Polymorphisme exprimé sur gélose au sang après 24h et 48h d'incubation à 37°C

La technique utilisée pour la réalisation des tests d'antibiogramme fut celle recommandée par L'OMS dans le cadre du suivi de la résistance des bactéries en milieu hospitalier [114].

III.A.5. Exploration de la population du genre *Pseudomonas* au sein du personnel hospitalier

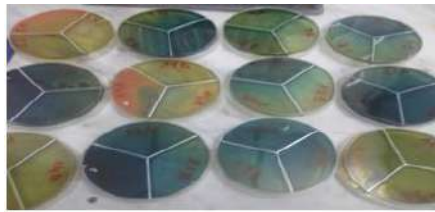


Photo n° III.A.10 : Exploration de la population du genre *Pseudomonas* au sein du personnel hospitalier

Ce volet d'étude est une exploration de la population des bâtonnets Gram négatifs, particulier le genre *Pseudomonas*, isolés à partir de prélèvement effectués auprès du personnel exerçant au sein de deux structures hospitalières et ce afin d'évaluer le portage de ces derniers par le personnel prélevé. Les souches prélevées seront soumises à un antibiogramme.

III.A.5.1. Prélèvements

- Nous avons suivi le même protocole que celui adopté pour les prélèvements des souches *Staphylococcus aureus*.

III.A.5 .2. Acheminement

Acheminement immédiat des prélèvements réalisés vers le laboratoire de la structure investiguée.

III.A.5.3. Culture

Culture directe des échantillons recueillis sur un milieu sélectif, qui est le milieu sélectif pour l'isolement des bâtonnets Gram négatifs, qui est le milieu Heacktoen.

III.A.5.4. Incubation

Incubation à 37°C pendant 24H

III.A.5.5. Lecture

Lecture Après 24 heures recensement des cultures positives.

III.A.5.6. Identification

III.A.5.6.1. Caractérisation biochimique

Afin de caractériser biochimiquement les souches obtenues, nous avons utilisé les tests suivants:

- 1- Galeries biochimiques API 10 S [115],
- 1-Test d'oxydase,

III.A.5.6.2. Caractérisation moléculaire



Photo n° III.A.11: Amplification par PCR du gène *Opri* spécifique au *Pseudomonas*

Les souches isolées ont fait l'objet de caractérisation moléculaire par amplification du gène *Opri* par le biais de la PCR [116].

Les étapes de la procédure suivie se présentent comme suit:

1- Préparation du mélange réactionnel :

- Master mix 10 μ l
- H₂O Free nucléique 6 μ L

Nous notons que les volumes indiqués concernent la manipulation d'une unique souche bactérienne.

2 - Amorce diluée avec H₂O Free nucléique 2 μ l

3 - ADN : Prélevé à partir d'un léger raclage d'une colonie purifiée.

4- Mélange de 1+2 puis homogénéisation par le biais d'un vortex puis on distribue dans des microtubes pour PCR

5- On ajoute dans chaque tube l'ADN de la souche à tester

6- Amplification par un thermocycleur réglé à 40 cycles :

- * une température de 94°C pendant 30 secondes : Dénaturation
- * puis 60°C pendant 30 secondes : Hybridation
- * puis 72°C pendant 3 minutes : élongation

La température doit diminuer jusqu'à 12°C à la fin de l'amplification

7- Préparation du gel d'agarose

Chapitre III : Structures hospitalières et infections nosocomiales au sud ouest Algérien

On déverse 50 ml de gel d'agarose liquéfié dans un bac spécial dans lequel on place auparavant un peigne qui permet de délimiter les puits spécifiques pour chaque souche à tester. Ce dernier est retiré après la solidification du gel d'agarose.

8- On place le bac contenant le gel d'agarose solidifié dans un générateur, puis on couvre complètement le gel par le tampon TEA qui assure un pH neutre facilitant la migration.

9- Puis, on met dans chaque puits, à part, un mélange de réactif de bleu de mélangé à ce qui suit :

- Un témoin : mélange réactionnel sans ADN + Marqueur de taille (bleu)
- ADN d'une souche de référence
- ADN d'une souche à tester.

10- Puis, on met en marche le générateur réglé à 100V pendant 30 mn.

11- Lecture des résultats :

-Résultat positif traduit par l'apparition d'une bande à 112 identique à celle révélée par le marqueur de taille spécifique pour le genre *Pseudomonas* préalablement mise dans le tube n°1.

- Résultat négatif traduit par l'absence de la bande fluorescente à 212.

III.A.5.7. Collections de souches de *Pseudomonas* testées

Nous avons constitué une collections de 10 souches du genre *Pseudomonas* préalablement caractérisées par PCR, que nous avons soumis aux test de l'antibiogramme, constitué de six antibiotiques dont cinq sont recommandés par L'OMS [114] et la colistine recommandée par la société française de microbiologie [11 3]. Les familles et le charges de ces derniers figurent dans le tableau n° III.A.13 :

Tableau n° III.A.13 : Antibiotiques utilisés pour tester les souches de *Pseudomonas*

Antibiotiques	Famille	Charge des disques
Ceftazidine	β lactamines	30 μ g
Amikacine	Aminosides	30 μ g
Colistine	Polypeptides	10 μ g
Gentamicine	Aminoside	15 μ g (10 UI)
Imipenem	β lactamines	10 μ g
Ofloxacine	Fluoroquinolone	5 μ g

III.A.6. Evaluation de la qualité microbiologique de l'eau des humidificateurs des incubateurs en néonatalogie

Cette partie d'étude est un complément à la partie qui traite la qualité microbiologique des surfaces internes des hublots et celle de l'aérobiocontamination des surfaces des incubateurs.

III.A.6.1. Prélèvement

Nous avons réalisé le prélèvement de l'eau de quatre humidificateurs d'air des incubateurs de couveuses.

III.A.6.2. Culture

Nous avons réalisé une culture par étalement de 1ml d'eau provenant d'humidificateur supposée être stérile sur une gélose enrichie de sang de cheval pour les prélèvements bactériologiques et une gélose Sabouraud pour les prélèvements mycologiques.

III.A.6.3. Incubation

- 24 H à 37°C pour les prélèvements bactériologiques,
- de 24 h à Sept jours à 30°C pour les prélèvements mycologiques.

III.A.6.4. Près identification des souches bactériennes isolées lors de l'étude de la qualité microbiologique des microorganismes isolés à partir de l'eau des humidificateurs des incubateur en néonatalogie

Test de catalase

Test d'oxydase

Api 10 S

Test de Staphylocoagulase

III.A.6.5. Près identification des souches fongiques isolées lors de l'étude de la qualité microbiologique des microorganismes isolés à partir de l'eau des humidificateurs des incubateur en néonatalogie

Nous avons eu recours aux mêmes tests d'identification pour les souches fongiques relatés antérieurement.

III.A.7. Suivi de différents protocoles réalisés au niveau des structures hospitalières investiguées

Cette partie a pour but d'effectuer un suivi de différents protocoles de préparation de désinfection et de traitements afin d'en connaître les étapes et de détecter les points

critiques de contamination microbienne probable et d'évaluer leur taux à partir du diagramme causes effet dont la figure n° III.A.1 représente l'état général:

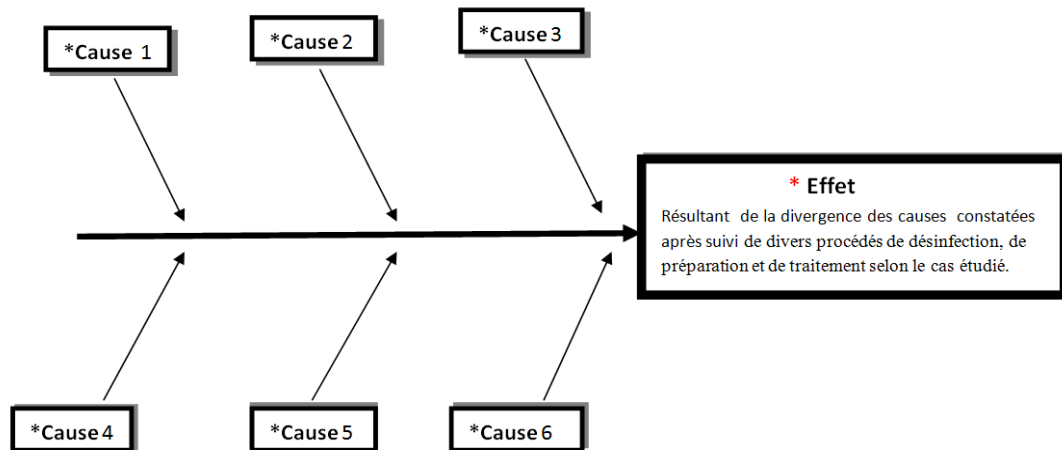


Diagramme n° III.A.1: Etat général du diagramme cause/effet utilisé

III.A.7.1. Protocol de préparation de biberons dans un service de Pédiatrie et de néonatalogie

Cette partie a pour objectif d'effectuer un suivi relatif à la préparation des biberons destinés à l'allaitement de malades hospitalisés au niveau de deux services situés à l'hôpital mère- enfants Mohammed Boudiaf de Bechar : service de Pédiatrie et service de Néonatalogie.

Ce suivi à pour fin l'évaluation des risques de contamination microbiologique probable au niveau des services concernés au cours des étapes suivi pour la préparation des biberons pour nourrissons et prématurés.

L'évaluation des risques de contamination microbiologique sera présentée par:

- **Diagrammes Cause-Effet**
- **Etude statistique** des points critiques relevés relatifs à l'opération de préparation de biberons en service de Pédiatrie et de néonatalogie

III.A.7.2. Protocol de préparation de chimiothérapie dans un service d'oncologie

Cette partie a pour objectif d'effectuer un suivi relatif à la préparation des médicaments pour chimiothérapie, afin d'évaluer les risques de contamination microbiologique probable en s'appuyant sur les points critiques de contamination microbienne probable relatifs à l'ensemble des étapes suivi pour la préparation d'une chimiothérapie dans un service d'oncologie.

L'évaluation des risques de contamination microbiologique sera présentée par:

- **Diagrammes Cause-Effet**
- **Etude statistique** des points critiques relevés relatifs à la préparation d'une chimiothérapie dans un service d'oncologie.

III.A.7.3. Protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de néonatalogie

Cette partie d'étude concerne le suivi du protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de néonatalogie unité de l'hôpital mère-enfant Mohammed Boudiaf afin d'évaluer les risques de contamination microbienne probable.

L'évaluation des risques de contamination microbiologique sera présentée par :

- **Illustration** des étapes du protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en néonatalogie dans un ordre chronologique
- **Diagrammes Cause-Effet**
- **Etude statistique** des points critiques relevés relatifs à la préparation d'une chimiothérapie

III.A.7.4. Traitement des déchets

Cette partie d'étude a pour but de suivre les étapes du Protocole adopté par les structures investiguées, afin de traiter les déchets générés en milieux hospitaliers.

Ce suivi se présente comme suit:

- **Etapes** suivis pour la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées.
- **Illustration** d'un ensemble de constatation faites, relatif à la gestion des déchets au sein de structures hospitalières investiguées.
- **Constatations** relatives à la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées.
- **Propositions** relatives à la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées.

III.A.7.5 Traitement du linge

Cette partie d'étude a pour but le suivi des étapes du circuit du linge en milieux hospitaliers, afin de relever les points critiques de contamination microbienne probables.

Ce suivi se présente comme suit:

- **Etapes** suivies pour la gestion du linge au sein des structures hospitalières investiguées.
- **Illustration** d'un ensemble de constatation faites, relatif à la gestion du linge au sein de structures hospitalières investiguées.
- **Constatations** relatives à la gestion du linge au sein des structures hospitalières investiguées.

Les divers suivis effectués ont permis l'établissement de diagrammes cause/effet spécifiquement représentatifs de chaque cas.

III.A.8. Actions correctives

L'ensemble des actions correctives établies et proposées sont le résultat d'une analyse préalable des situations rencontrées reposant sur une enquête menée auprès des structures ou services concernés, ou suite à des constatations faites.

Les enquêtes étaient entamées suite à des résultats obtenus à partir des prélèvements environnementaux comme cela à été le cas pour l'hôpital Mohamed Yagoub et les incubateurs pour prématurés ou suite à une demande par le personnel du service concerné.

Nous avons noté que chaque situation nécessite d'être prise en charge selon le cas présenté après réflexion, analyses et enquête qui doit être bien menée avec la coopération du personnel hospitaliers, qui est essentiel pour la recherche de solutions réalisables pouvant remédier au problème posé.

III-B RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce volet d'étude, nous présentons les résultats obtenus lors de :

- 1- La collecte des données relatives aux structures hospitalières investiguées,
- 2- L'étude de la qualité microbiologique relative à la recherche de souches bactériennes et fongiques nosocomiales auprès de l'environnement et du personnel hospitalier.
- 3- Du suivi des différents protocoles :
 - Désinfection,
 - Préparation,
 - Traitements des déchets,
 - Traitements du linge.

Nous exposerons des actions correctives que nous avons établies suite à des situations de contamination microbiologique particulières rencontrées.

III-B.1. Collecte de données

III-B.1.1. Présentation des structures hospitalières investiguées






Les structures hospitalières investiguées étaient au nombre de six appartenant à différentes wilayas du sud-ouest algérien. Ces dernières ont fait l'objet de collecte de données par le biais de questionnaires que nous avons établis lors de la présente étude. Voir Annexe 4

Les cinq structures ayant fait l'objet de prélèvements environnementaux en vue de l'étude de leur qualité microbiologique sont : l'hôpital mère-Enfant Mohamed Boudiaf et l'hôpital Tourabi Boudjema de Bechar, l'hôpital Mohamed Boudiaf d'El Bayadh, l'hôpital Mohamed Yacoub de Benni Abbas et l'hôpital Ibn Sinaa d'Adrar. Tableau n° III-B.1

L'hôpital mixte 'Santé publique et militaire' a été concerné uniquement par la collecte de données.

Les données issues de notre enquête sont présentées sous forme de tableaux récapitulatifs à titre comparatifs entre les différentes structures hospitalières investiguées.

Tableau n° III-B.1: Illustration des structures hospitalières investiguées

Wilaya	Structures hospitalières	
Bechar	Mohamed Boudiaf	Tourabi Boudjema
		
	Wilaya déléguée Benni Abbas	
	<p data-bbox="703 696 938 730">Mohamed yagoub</p> 	
	ElBayadh : Mohamed Boudiaf	// Adrar : Ibn Sinaa
		
	<p data-bbox="209 1749 245 1895">Tindouf</p> <p data-bbox="252 1693 288 1951">Si El Haouasse</p>	 <p data-bbox="839 1704 1302 1995">hôpital mixte « santé publique et militaire » cet hôpital à été concerné uniquement par la collecte de Données par le biais de questionnaires que nous avons établit lors de la présente étude</p>

III-B.1.2. Structures hospitalières investiguées et études statistiques

Le tableau n° III-B.2 expose les données que nous avons recueillies concernant les structures hospitalières investiguées.

Tableau n° III-B.2 : Structures hospitalières investiguées et étude statistique

structures hospitalières investiguées	Moyenne d'hospitalisations / an	Nombre de Lits	Population prise en charge	de Services hospitalier	Ratio de la capacité globale des structures hospitalières par wilaya		
					lits/1000 habitants	médecin spécialiste / habitants	médecin généraliste / habitants
Bechar H. mère/Enfant Mohamed Boudiaf	Maternité 8799 Pédiatrie 2771	150	316 156	09	2,8*	01/ 2047**	01/1303**
Bechar Tourabi Boudjemaa	7414	240	316 156	14			
Benni Abbes Mohamed yagoub	3075	122	42 000	12			
El Bayadh Mohamed Boudiaf	/	240	120.000	13	0,72*	01/ 7949 *	01/ 2900 *
Adrar Ibn Sinaa	8580	120	139964	13	1,9 *	01/7355*	01/ 1183*
Tindouf Si El Haouasse	8780	200	63 623	14	3,14*	01 / 3534*	01 /1353*
* [117]							
* [118]							

On note un manque remarquablement important dans le nombre de lits disponibles pour la prise en charge de la population de chaque wilaya du sud-ouest et des hauts plateaux à l'exception de Tindouf. Mais, si on comptabilise le nombre de la population des camps de réfugiés, le nombre de lits sera diminué considérablement.

En général, le manque touche le nombre de lits disponible par population prise en charge, ainsi que le nombre de médecins spécialistes et même celui de médecin généralistes disponibles pour les populations de l'ensemble des wilayas investiguées.

Effectivement, le Pr ABID rapporte que 70 % des médecins spécialistes du secteur public sont concentrés dans les wilayas siège des villes de faculté de médecine, là où il y a déjà un nombre plus qu'appréciable de spécialistes hospitalo-universitaires [117].

III-B.2. Qualité microbiologique des structures hospitalières investiguées

III-B.2.1. Evaluation de différentes techniques de prélèvements de surface et choix de la technique à adopter.

III-B.2.1.1. Résultats des techniques de prélèvements bactériologiques des surfaces

Afin d'orienter notre choix sur une technique adéquate à la réalisation des prélèvements environnementaux en vue, nous avons testé quatre différentes techniques qui nous ont permis l'obtention de différents genres espèces de souches bactériennes que nous présentons par le tableau n° III-B. 3:

Tableau n° III-B. 3 : Souches nosocomiales mises en évidence à l'aide de la gélose TCSA et la gélose au sang combinées aux différentes méthodes évaluées

Milieu de culture	TCSA
en mises évidence	
Milieu de culture	GS
en mises évidence	
<p>S.a: <i>Staphylococcus aureus</i> / E.c : <i>Escherichia coli</i> / P.v: <i>Proteus vulgaris</i>/ K.p : <i>Klebsiella pneumoniae</i>/ P.a: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>/ P.m: <i>Proteus mirabilis</i>/ S.p : <i>Streptococcus pneumoniae</i> / A.b :<i>Acinetobacter baumannii</i>/ B.sp: <i>Bacillus sp</i> / N.sp: <i>Neisseria sp.</i></p>	
<p>MD : <i>Methode directe</i> / MTD : <i>Methode avec usage du tween pour le prélèvement et culture directe</i> / ME : <i>Methode avec étape d'enrichissement avant la culture</i> / MTE: <i>Methode avec usage du tween pour le prélèvement et étape d'enrichissement avant la réalisation culture sur gélose.</i></p>	

La figure n° III.B.1 présente les taux des types de colonies bactériennes mises en évidence sur la gélose TCSA et la gélose au sang GS obtenues pour l'ensemble des techniques évaluées relatives à deux milieux de cultures différents GS et TCSA.

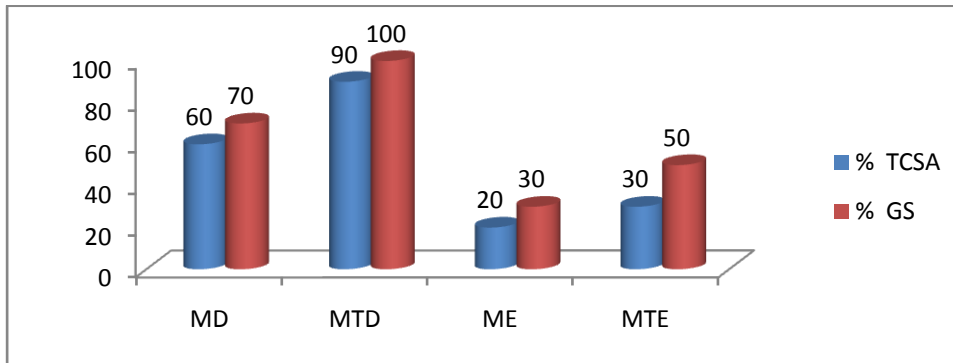


Fig n° III.B.1 : Taux des types de colonies bactériennes mises en évidence sur la gélose TCSA et la gélose au sang GS combinés aux quatre méthodes à évaluer

Nous avons obtenu un ensemble de 10 types de colonies bactériennes de caractères cultureux différents après 48 heures d'incubation à 37°C.

Afin d'évaluer la performance de chaque technique de prélèvements testées, nous avons comparé les taux de types de colonies obtenus pour chaque technique par rapport à l'ensemble des types obtenus pour l'ensemble des techniques évaluées relatives à chaque milieu de culture testé.

Concernant la culture en milieu TCSA, on a obtenus un taux de 60% type de colonies par le biais de la technique directe sans usage du tween et un taux de 70 % pour la technique directe avec usage du tween, pour la technique faisant appelle à l'étape d'enrichissement un taux de 20 % sans l'usage du tween et de 30% avec usage du tween.

Certaines souches ne sont pas isolées par cette gélose à partir de l'environnement investigué telque *A.baumannii* .

Les techniques avec étape d'enrichissement ne mettent en évidence qu'un faible taux de souches présentes.

Concernant la culture en milieu GS, la totalité des souches nosocomiales répertoriées a été obtenue par la technique avec usage du tween pour la réalisation des prélèvements et la culture directe, par ailleurs un taux de 90% de souches a été obtenu par la méthode directe sans tween.

Nous notons que la lecture à partir de la gélose au sang est nettement plus aisée que celle effectuée sur gélose TSCA, qui présente des colonies avec des différences de caractères cultureux difficilement décelables par rapport aux colonies mises en évidence par la gélose au sang.

On en conclut à partir des résultats obtenus qu'une nette performance a été montrée par la technique directe avec usage du tween en milieu Gélose au sang car cette dernière a permis la mise en évidence de 100% des genres mis en évidence. Ceci relate la contamination microbienne viable réelle et que l'étape d'enrichissement favorise nettement le genre *Bacillus* généralement indénombrable au dépend des autres genres présents dans l'environnement exploré ce qui ne relate pas réellement la nature de la population microbienne contaminant viable.

La photo n°III.B.1 présentent quelques résultats obtenus avec des différences nettes de types et nombre de colonies obtenus par le biais des différentes méthodes évaluées à partir de surfaces très rapprochées (Voir partie matériels et méthodes).



Prélèvement Sans tween

Culture directe

Nombres de types de colonies réduit



Prélèvement Avec tween

Culture directe

Généralement apparition de nouveau types de colonies



Culture Après enrichissement

**Réduction des types de colonies
Généralement à un seul type plus un ou deux autres types avec considérable augmentation du nombre de colonies**

Photo n° III.B.1 : illustrations de résultats obtenus avec des différences nettes de types et nombre de colonies bactériennes obtenus par le biais des différentes méthodes évaluées

III.B .2.1.2. Résultats des techniques de prélèvements mycologiques des surfaces

Nous avons obtenu un ensemble de 8 types de colonies fongiques de caractères cultureux différents après 7 jours d'incubation à 30°C.

Afin d'évaluer la performance des techniques de prélèvements testées, nous avons établi une étude comparative des taux de types de colonies fongiques obtenus qui représentent le nombre de colonies obtenus pour chaque technique par rapport au nombre totale des colonies obtenue pour l'ensemble des techniques évaluées.

Les taux obtenus sont présentés par la figure n° III.B.2 :

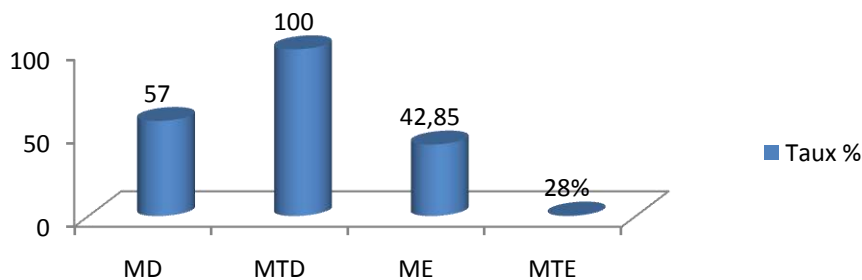


Fig n° III.B.2 Taux de types de souches fongiques mises en évidence sur milieu d'isolement Sabouraud associé aux quatre techniques évaluées

On constate que la méthode, avec usage du tween sans étape d'enrichissement (MTD) utilisée, pour la réalisation des prélèvements, a permis l'obtention de la totalité 100% des types de souches fongiques mises en évidence suivis par la méthode directe sans usage du Tween avec un taux de 57%. Nous avons constaté que les souches appartenant au genre *Aspergillus* sont retrouvées surtout pour les prélèvements effectués avec usage du tensioactif Tween. Ce dernier favorise probablement leur collecte à partir des surfaces.

Par contre, on constate que l'étape d'enrichissement diminue considérablement le taux de diversification des colonies fongiques obtenue à 42,85% pour la méthode avec uniquement l'étape d'enrichissement (ME) et 28% pour la méthode avec usage du tween associé à l'étape d'enrichissement.

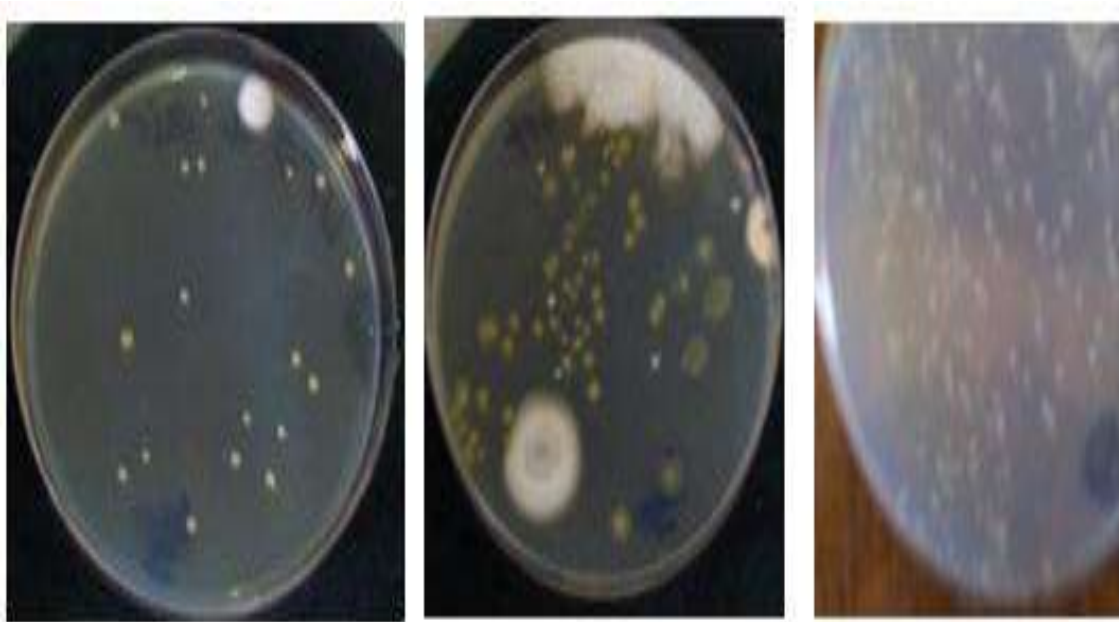
Nous avons noté que l'étape d'enrichissement favorise considérablement les types de souches fongiques à temps de génération rapide telle que les levures dont le nombre est considérablement augmenté et même si le prélèvement ne présente pas de levures.

On assiste à la disparition de certains types au dépend d'autres et parfois même à des cultures négatives après usage de Tween est étape d'enrichissement pour un délai de 7 jours d'incubation à 30°C.

Ceci, nous amène à supposer que probablement l'usage du Tween pour la réalisation des prélèvements associé à l'étape d'enrichissement, sur bouillon Sabouraud pendant 24h à 30°C avant la mise en culture sur gélose Sabouraud, à un effet négatif sur la croissance des souches fongiques surtout celle des moisissures.

Le tableau n° III.B.4 présente quelques illustrations des résultats obtenus avec des différences nettes de types et nombre de colonies obtenus par le biais des différentes méthodes évaluées à partir de surfaces très rapprochées (Voir partie matériels et méthodes).

Tableau n° III.B.4 : illustrations des résultats obtenus avec des différences nettes de types et nombre de colonies fongiques obtenus par le biais des différentes méthodes évaluées



Prélèvement Sans tween

Prélèvement Avec tween

Culture Après enrichissement

Culture directe

Culture directe

Réduction considérable de la variabilité des types de colonies Généralement à un seul type plus un ou deux autres types avec considérable augmentation du nombre de colonies

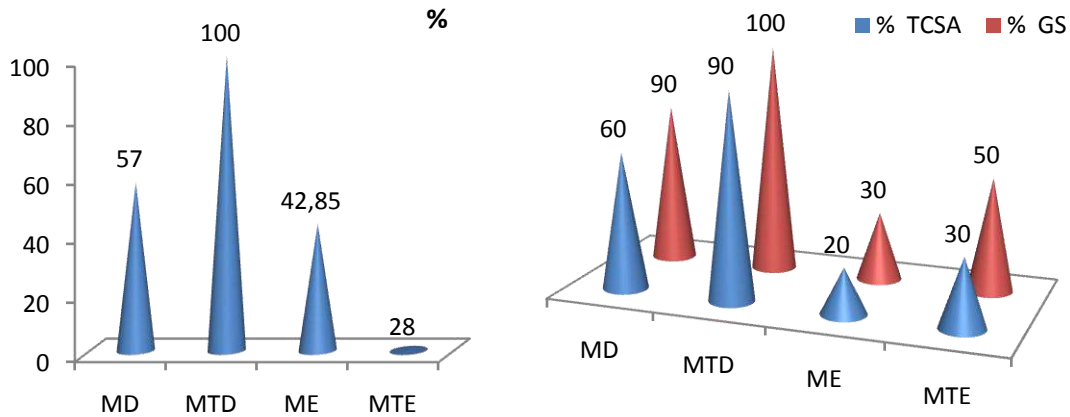
Réduction du nombre et de la variabilité des colonies obtenues.

Augmentation du nombre et de la variabilité des colonies obtenues.

III.B .2.1. 3. Technique de prélèvement de surface à adopter

Afin d'orienter notre choix pour la méthode à adopter et de réaliser les prélèvements environnementaux de surface au sein des structures hospitalières en vue

d'investigation, nous avons établi une étude comparative dont les résultats sont présentés par la figure n° III.B.3.



Taux de types de souches fongiques mises en évidence sur le milieu d'isolement Sabouraud associé à quatre méthodes de prélèvement de surface.

Taux de types de souches bactériennes mises en évidence sur gélose TCSA et sur gélose au sang GS.

Fig n° III.B.3 : Étude comparative pour l'évaluation de différentes techniques de prélèvement de surface : Bactériens et fongiques

Notre choix fut porté sur la méthode **MTD** (méthode avec tween Directe sans étape d'enrichissement) car cette dernière permet l'obtention du maximum de type de souches présentes en maintenant leurs réelles proportions relatives.

Ce qui induirait probablement à l'obtention de résultats relativement proches de la contamination microbienne (Bactérienne et fongique) viable réelle.

III.B.2.2. Niveau de Biosécurité atteint par structure hospitalière investiguées

Les niveaux de Biosécurité établis pour chaque structure relatent l'état microbiologique: bactérien et fongique des services investigués par structure hospitalière à partir des limites de sécurité microbiologiques de la norme ISO 14644-1 [119] pour les prélèvements de l'air et ceux des normes du Guide de Bionétoyage [96] concernant les prélèvements de surface par rapport au nombre global des services investigués par structure hospitalière. Voir tableau n° III.B.5.

Tableau n° III.B.5 : Niveau de Biosécurité atteint par structure hospitalière investiguée

Structure hospitalière	Nombre de services investigués	Valeurs maximales du nombre d'UFC atteints: Souches bactériennes	Valeurs maximales du nombre d'UFC atteints: Souches fongiques	Taux de niveaux cibles atteint par structure hospitalière*		
				Air Normes : ISO 14644-1[119] Et ISO 14698-1 [100]	Surface Norme Guide de Bionétoyage [96]	Observations
Bechar Tourabi Boudjema	22	Air 232 Surfaces Innombrable	Air 60 Surfaces 130	4,76 %	00%	Niveau de sécurité atteint pour les services dotés de système de ventilation artificielle qui fonctionne 24h sur 24h
Bechar Mohammed Boudiaf	09	Air 165 Surfaces innombrable	Air 67 Surfaces 148	00%	00%	Aucun service de cette structure n'a atteint le niveau cible
Benni Abbes Mohamed yagoub	08	Air 567 Surfaces innombrables	Air 21 Surfaces 12	Bactério 12,5% Mycologie 75%	Bactério 00 Mycologie 100%	La majorité des services de l'hôpital à été désinfecté 24h avant la réalisation de nos prélèvements. CAS PARTICULIER
El Bayadh Mohamed Boudiaf	09	Air 128 Surfaces Innombrable	Air 69 Surfaces 102	00%	11,11%	Seul le service de traumatologie a atteint le niveau cible pour les prélèvements de surface.
Adrar Ibn Sina	05	Air 77 Surfaces Innombrable	Air 50 Surfaces 130	20%	00%	Seul la qualité de l'air du bloc opératoire à atteint le niveau cible.

* le niveau cible atteint pour chaque lieu selon le niveau de risque : Valeurs d'UFC obtenues pour les prélèvements Air, Surface, Bactériologiques et mycologiques confondus. Formis l'hôpital de Benniabbes

Les taux des niveaux cibles atteints pour la structure hospitalière de Benni Abbes sont nettement supérieurs à ceux des autres structures hospitalières investiguées, probablement, à cause de la désinfection terminale qui a précédé la réalisation des prélèvements. Les résultats obtenus pour cette structure révèlent une efficacité notable de la désinfection vis à vis des souches fongiques avec des taux de 75% pour l'air et 100% pour les surfaces.

La désinfection réalisée s'est révélée inefficace vis à vis des souches bactérienne avec des taux cible de 12,5% pour les prélèvements de l'air et 00% pour ceux des surfaces prélevées: Voir détails (I.2.3.3 Qualité microbiologique d'un ensemble de services d'une structure hospitalière ayant bénéficié d'une désinfection terminale).

On constate que le reste des structures hospitalières investiguées présentent des taux de niveaux de biosécurité cible mycologiques et bactériologiques confondus très réduits avec des valeurs comprises entre 00% et 20% pour les prélèvements de l'air, pour lesquels nous avons noté que les services ayant atteints le niveau cible étaient ceux, qui sont dotés de système de ventilation artificielle qui fonctionne 24h sur 24h.

L'unique structure ayant atteint le niveau cible pour les prélèvements de surfaces est celle d'El Bayadh avec un taux de 11,11% pour le service de traumatologie, aucun service des structures restantes n'a atteint le niveau cible pour les prélèvements de surfaces.

Nous avons noté que la majorité des services investigués présentent des valeurs d'UFC largement supérieurs à celles recommandées par les normes, évoquant ainsi des niveaux de biosécurité d'alerte, voir même d'action pour certains, ce qui impose l'instauration urgente de dispositifs de control, rigoureux et effectifs permettant d'établir des actions correctives spécifique à chaque situation rencontrée.

Dans notre étude, nous avons établi un ensemble d'actions correctives relatives à diverses situations rencontrées (voir I.4 Actions correctives établies suite à des situations particulières rencontrées).

III.B.2.2.1. Illustrations de résultats microbiologiques - bactériologiques et mycologiques obtenus et interprétés en niveau d'action.

Nous présentons, par le tableau n° III.B.6, des illustrations de quelques résultats microbiologiques - bactériologiques et mycologiques obtenus et interprétés en niveau d'action, selon les deux normes adoptées pour la réalisation des prélèvements et l'interprétation des résultats obtenus.

Tableau n° III.B.6 Illustrations de résultats microbiologiques - bactériologiques et mycologiques obtenus et interprétés en niveau d'action.




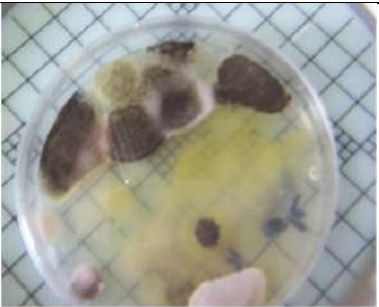
Source du prélèvement illustré	Illustrations de résultats obtenus interprétés en niveau d'action	Nombre et nature des colonies	Observations
Services hospitaliers Surfaces Tables et lits	 <p>C. fongiques / C. bactériennes</p>	Inombrables Colonies bactériennes et fongiques	Qualité microbiologique des tables Et lits dans des salles hors présence humaine après bionetoyage en attente de la réception de nouveaux malades.
Bloc opératoire	 <p>C. bactériennes</p>	Inombrables Colonies bactériennes De tailles et couleurs diverses	Qualité microbiologique de Blouses prêtes à être portées par les malades justes avant l'intervention chirurgicale.
Air Centre de chirurgie Infantile CCI	 <p>C. fongiques</p>	Envahissement de colonies fongiques de tailles et couleurs diverses avec une colonie presentant une antibiose	Qualité microbiologique de l'air recueilli dans les chambres d'hospitalisation d'enfants avant et après intervention chirurgicale
Lingerie Etagère	 <p>C. fongiques</p>	09 Colonies fongiques parmi lesqu'elles figurent <i>Aspergillus niger</i> et <i>Aspergillus flavus</i> .	Etagère de stockage du linge propre après lavage avant sa remise aux services concernés


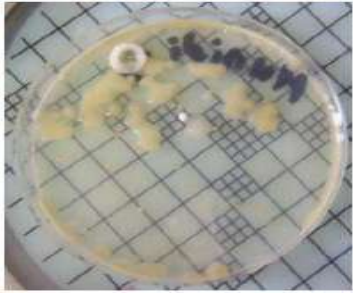

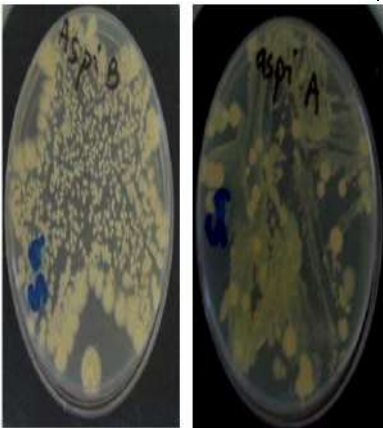
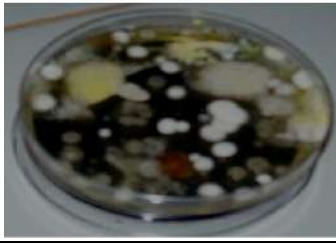
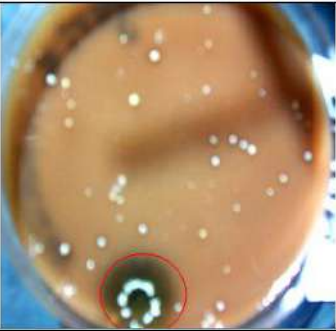
Tableau n° III.B.6 (Suite)			
Air Service de réanimation	 <p style="text-align: center;">C. fongiques</p>	<p>06 Colonies fongiques Parmi lesquelles Figure <i>Aspergillus sp</i></p>	<p>Présence de nombreuses et différentes souches fongiques parmi lesquelles figurent <i>Aspergillus</i>. Notons que les malades du service de réanimation présentent une immunodéficience en raison d'usage intensif de corticothérapie.</p>
<p>Service de Néonatalogie</p> <p>Eau humidificateur pour incubateurs de prématurés</p>	 <p style="text-align: center;">Colonies fongiques</p>	<p>22 Colonies fongiques: 21 Levures et 01 mosissure</p>	<p>Qualité microbiologique de l'eau des humidificateurs après avoir noté que le nombre d'UFC obtenu à partir de l'air des couveuses en présence d'humidité était supérieur à celui en absence d'humidité.</p>
Maternité Pèse Bébé	 <p style="text-align: center;">Colonies fongiques</p>	<p>Presence de colonies de la souche de <i>Candida albicans</i> 3à colonies à droite et innombrables colonies à gauches</p>	<p>Les pèses bébé utilisés pour la pesé juste après la naissance en service de maternité étaient pour une grande part contaminés par la souche <i>Candida albicans</i></p>
Bloc opératoire Aspirateurs des salles des Blocs opératoires	 <p style="text-align: center;">Colonies fongiques</p>	<p>Innombrables Colonies fongiques de tailles divers et de couleur jaune pale.</p>	<p>Qualité microbiologique Des aspirateurs utilisés en salle d'intervention chirurgicale, normalement près pour usage d'une nouvelle intervention chirurgicale. Ces derniers sont liés directement aux malades avec un dispositif stérile jetable pendant l'intervention chirurgicale.</p>

Tableau n° III.B.6 (Suite)			
Pharmacie centrale Surface de stockage		Très nombreuses colonies avec un nombre supérieur à 90 colonies de tailles et couleurs divers	Présence de très nombreuses colonies fongiques prélevées à partir des surfaces de stockage des médicaments destinés aux différents services.
	Colonies fongiques		
Prélèvement de surfaces		47 Colonies bactériennes Blanchâtres et jaunâtres de moyennes et grandes tailles Avec 08 colonies blanchâtres regroupées en cercle.	Présence de colonies bactériennes présentant un mode de regroupement "caractéristique" de colonies obtenues sur gélose au sang : petites colonies blanchâtres regroupées en cercle à l'intérieur d'une zone d'hémolyse bêta nettement franche.
	Colonies bactériennes		

III.B.2.2.2. Taux de répartition des groupes bactériens mis en évidence selon la coloration de Gram



Les différences des caractères phénotypiques des colonies sur gélose au sang étaient facilement repérables après incubation de 48h au lieu de 24h en utilisant une loupe pour une meilleure distinction.

Les différences phénotypiques des colonies présentées, nous ont permis le repérage des différents types de colonies mises en évidence. À partir de chaque type, nous avons procédé à la réalisation de la coloration de Gram pour chaque type à part afin d'évaluer les différents groupes bactériens présents pour chaque structure hospitalière investiguée.

Les répartitions des groupes bactériens mis en évidence selon la coloration de Gram sont données par le tableau n° III.B.7:

Tableau n° III.B.7: Répartition des groupes bactériens mis en évidence selon la coloration de Gram

Structure hospitalières investiguées	Taux de répartition				Observation
	Cocci		Bâtonnet		
	Gram Positif	Gram négatif	Gram Positif	Gram négatif	
Bechar Tourabi Boudjema	62,57	16,2	5,30	15,92	Les Cocci à Gram positif ont présenté le taux de répartition le plus élevé pour l'ensemble des structures hospitalières investiguées
Bechar Mohamed Boudiaf	53,73	28,04	7,02	11,2	
Benni Abbes Mohammed yagoub	78.33	3,34	11,65	6,7	
ElBayadh Mohammed Boudiaf	60,39	16,73	4,2	18,71	
Adrar Ibn Sinaa	40	18.33	8.33	33.33	
Taux de répartition global	59	16,52	7,3	11,05	

D'après les résultats obtenus de l'ensemble des prélèvements pour chaque structure hospitalière investiguée, nous notons que les communautés microbiennes sont hétérogènes composées de Cocci et bâtonnets à Gram positif et Gram négatif, néanmoins, il est notable pour l'ensemble des environnements des structures investiguées que les Cocci Gram positif sont les plus représentatifs atteignant des taux de 40 à 78.33%. Ce dernier taux a été obtenu pour une structure hospitalière ayant bénéficiée de désinfection terminale.

L'omniprésence et la persistance des cocci Gram positifs essentiellement représentés par des souches du genre *Staphylococcus* révèlent la capacité de colonisation de ce dernier ainsi qu'une probable résistance aux germicides utilisés pour le traitement de désinfection.

La Photo n°III.B.2 illustre différentes colonies bactériennes mises en évidence à l'occasion des prélèvements environnementaux effectués auprès des structures hospitalières investiguées.

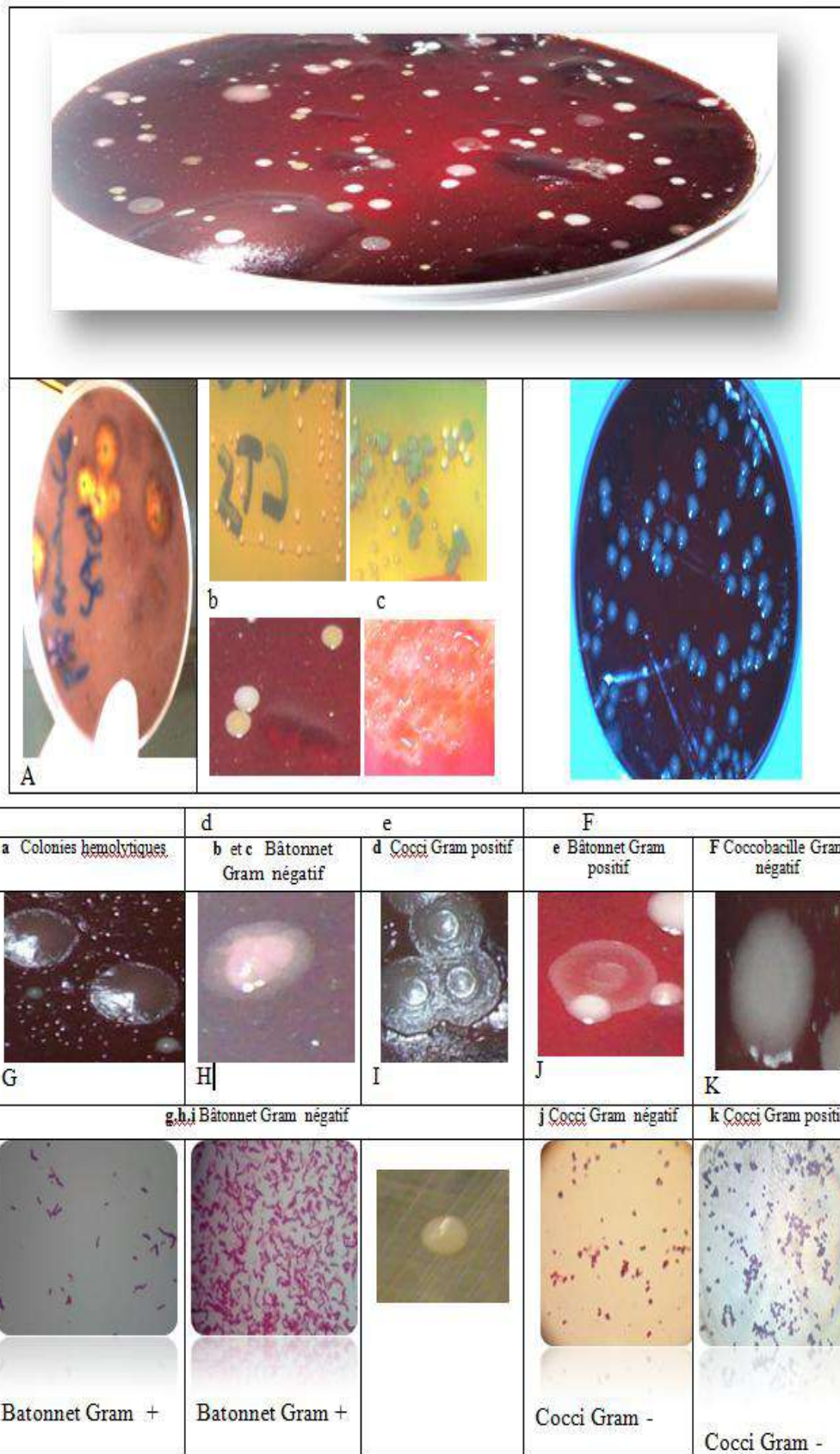


Photo n °III.B.2 : Illustration de différentes colorations de Gram et de différentes colonies bactériennes mises en évidence à l'occasion des prélèvements environnementaux effectués auprès des structures hospitalières investiguées

III.B.2.2.3. Taux de répartition des groupes fongiques les plus fréquemment rencontrés dans les environnements hospitaliers investigués

Les prélèvements fongiques effectués auprès des différentes structures hospitalières investiguées, nous en permis de mettre en évidence un ensemble de souches fongiques présentés par 54 types de colonies de souches fongiques de morphologie et taille et de couleur distinctes sur le milieu d'isolement Sabouraud, utilisé pour la réalisation de nos prélèvements de l'air et de surfaces.

Nous avons exploré les fructifications des colonies fongiques obtenus afin d'établir leur répartition, que nous présentons par le tableau n° III.B.8 :

Tableau n° III.B.8 : Taux de répartition des groupes fongiques les plus fréquemment rencontrés dans l'environnement hospitalier investigués


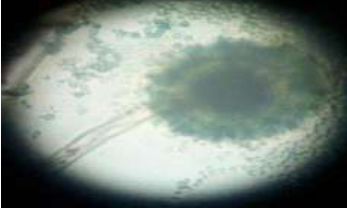




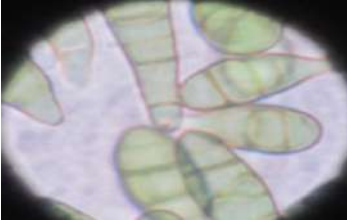
Groupes	Taux de répartition*	Genre	Taux de répartition	Taux Globale des groupes fongiques les plus fréquents
<i>Moisissures</i>	85,72%	<i>Aspergillus</i>	10,04%	45,74%
		<i>Penicillium</i>	21,42%	
<i>Levures</i>	14,28%	/		
* Relatif à l'ensemble des souches fongiques isolées				


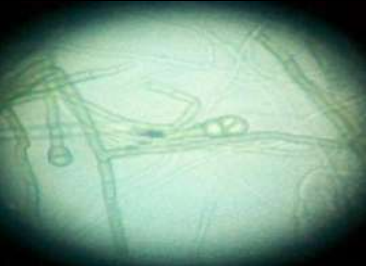

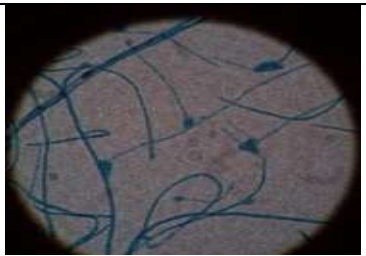
Les souches fongiques mises en évidence sont représentées par des levures et des moisissures avec des taux respectifs de 14,28% et de 85,72%.

Les souches des moisissures les plus fréquemment rencontrées appartiennent aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* avec des taux respectifs de 10,04% et 21,42%.

Le tableau n° III.B.9 illustre un ensemble de fructifications de souches fongiques résultant des prélèvements de l'air et de surfaces effectués:

Tableau n° III.B.9 : Illustration des diverses fructifications mises en évidence par la technique du drapeau et lactophénoï Objectif 40X

Famille	Genre	Fructification
Trichocomaceae	Aspergillus	
		
	Penicilium	
Mucoraceae	Mucor	
	Absidia	
		
Pleosporaceae	Alternaria	

Pleosporaceae	Alternaria	
		
Saccharomycetaceae	Candida	
**	Arthrodermataceae	<i>Microsporum</i>
		

III.B.2.2.4. Résultats de la près identification des souches fongiques nosocomiales utilisées pour évaluer l'effet antimicrobien

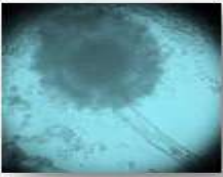




Nous présentons dans ce qui suit la près identification des souches fongiques nosocomiales d'interet médical *Aspergillus niger* et d'*Aspergillus flavus*, qui seront ultérieurement utilisées pour l'évaluation de l'effet antifongique (Chapitre IV Effet de quelques Asteraceae sur les souches nosocomiales).

Les critères phénotypiques obtenus sur divers milieux de culture et différentes températures pour les souches nosocomiales d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus flavus* sont présentés par les tableaux n°III.B.10. et III.B.11.

III.B.2.2.4.1. Identification d'*Aspergillus niger* sur milieux d'identification divers et températures d'incubation variables:

Les critères microscopiques et phénotypiques obtenus sur divers milieux de culture et différentes températures pour la souches nosocomiales d'*Aspergillus niger* sont donnés par le tableau n° III.B.10.






Tableau n° III.B10: Critères microscopiques et phénotypiques obtenus sur divers milieux de culture et différentes températures pour la souches nosocomiales d'*Aspergillus niger*

Aspergillus niger	
Tests	Illustrations: n° III.B.3
Examen microscopique	
Aspect macroscopique sur milieu CYA incubé à 37°C	
Aspect macroscopique sur milieu CYA incubé à 5°C	
Aspect macroscopique sur milieu MEA incubé à 25°C	
Aspect macroscopique sur milieu G₂₅N incubé à 25°C	

III.B.2.2.4.2 Identification d'*Aspergillus flavus* sur milieux d'identification divers et températures d'incubation variables:

Les critères microscopiques et phénotypiques obtenus sur divers milieux de culture et différentes températures pour la souches nosocomiales d'*Aspergillus flavus* sont donnés par le tableau n° III.B.11

Tableau n° III.B11: Critères microscopiques et phénotypiques obtenus sur divers milieux de culture et différentes températures pour la souches nosocomiales d'*Aspergillus flavus*.

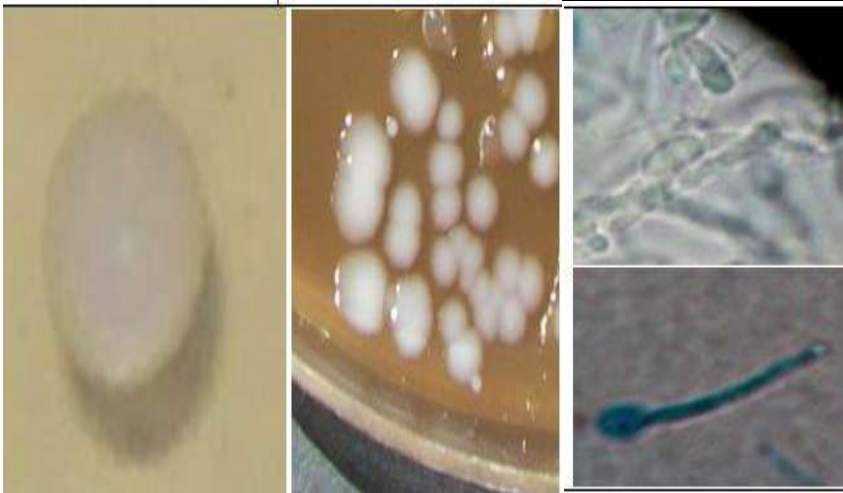
Aspergillus flavus	
Tests	Illustrations :n° III.B.4
Examen microscopique	
Aspect macroscopique sur milieu CYA incubé à 37°C	
Aspect macroscopique sur milieu CYA incubé à 5°C	
Aspect macroscopique sur milieu MEA incubé à 25°C	
Aspect macroscopique sur milieu G₂₅N incubé à 25°C	

III.B.2.2.4.3. Résultats obtenus pour l'identification des souches de *Candida albicans*

Les résultats obtenus pour l'identification des souches de *Candida albicans* sont présentées par le tableau n° III.B.12 qui présente :

- L'aspect des colonies de *C. albicans* sur milieu de culture Sabouraud,
- Le test de Blastèse,
- La taille et délais de croissance des colonies de *C. albicans*.

Tableau n° III.B.12 : Résultats obtenus pour l'identification des souches de *Candida albicans*

Aspect des colonies sur Sabouraud	Taille	Test de blastèse	Délais de croissance
Blanche crémeuse	2mm	Présence de germination sur sérum de lapin après 3heures d'incubation à 37°C	Apparition de colonies typiques au bout de 24 heures d'incubation à 30 °C ou 37°C
			

III.A.2.2.5. Causes probables à l'origine de la répartition des groupes microbiens obtenus

Les taux de répartition obtenus sont probablement le résultat d'une sélection de souches nosocomiales par les facteurs environnementaux régnant en milieux hospitaliers, tel que types ou natures d'antibiotiques et antifongiques utilisés, nature de germicides utilisés pour la désinfection ainsi qu'une sélection naturelle résultant de l'antibiose entre les populations microbiennes présentes.

La photo n° III.B.5 illustre des cas particuliers de colonies obtenus :

A1- Antibiose fongique

B- regroupement en cercle de colonies bactériennes

A2 - présence exclusive de colonies de levures:

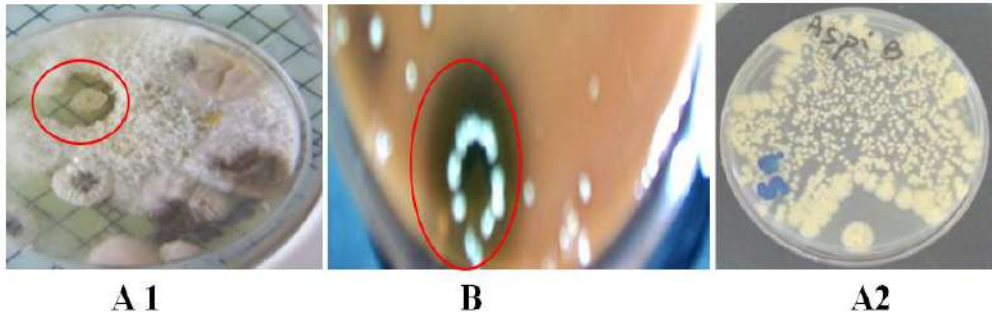


Photo n° III.B.5 : cas particuliers de colonies obtenus : antibiose - regroupement en cercle - présence exclusive d'un seul type de colonie.

A1: Une colonie fongique exerçant une antibiose contre une autre colonie apparemment envahissante culture de 5 jours d'incubation de 30°C. Cette dernière colonie est retrouvée parfois exclusivement seule tel que présentée par la photo **A2** qui illustre le résultat d'une culture d'un prélèvement effectué au niveau d'un aspirateur utilisé en salle d'intervention chirurgicale.

B: Cas rare, présence d'un ensemble de colonies présentant les mêmes critères phénotypiques apparents regroupées sous forme de cercle et présentant une hémolyse bêta franche à l'intérieur du cercle et à l'extérieur du cercle formé par les colonies.

Interprétation

La présence d'un seul type révèle une probable antibiose vis-à-vis des autres types présents dans la même boîte de Pétri, mais le regroupement sous forme de cercle nettement transparent à l'intérieur reste à interpréter par des études plus approfondies, néanmoins nous avons pris comme première interprétation que probablement:

* Présence initiale d'une particule inerte sur laquelle un même type d'UFC était installé mais pas sous forme de biofilm car on a obtenu des colonies accolées les unes aux autres pour former un cercle. Notons que les bords des colonies du cercle sont bien limités pour chaque colonie.

* Présence initiale d'une particule biologique invisible à l'œil nu, initialement responsable de ce mode de regroupement.

* Une force provoquée par les colonies elles-mêmes à l'intérieur du cercle à partir d'un gradient de concentration de molécule(s) résultant d'un éventuel quorum sensing spécifique au type des colonies ayant présenté ce phénomène de regroupement de colonies bactériennes que nous jugeons rare car ce dernier n'a été rencontré qu'au cours de deux prélèvements de surfaces par rapport à l'ensemble des prélèvements effectués aux niveaux des cinq structures hospitalières investiguées.

Nous proposons comme perspective la réalisation d'une étude plus approfondie de ce type de regroupement de colonies bactériennes.

III.B.2.3. Qualité microbiologique de service à niveau de risque élevé: incubateurs pour prématurés en néonatalogie

Les résultats évoqués sont relatifs à la qualité microbiologique des incubateurs : air, surfaces et eau des humidificateurs accompagnés d'une étude statistique des causes de mortalité survenues dans le service concerné.

III.B.2.3.1. Résultats des Prélèvements de l'air et des surfaces internes des incubateurs pour prématurés en néonatalogie



a



b

Photo n° III.B.6 : Prélèvements de l'air et des surfaces internes des incubateurs pour prématurés en néonatalogie (a: Air et b: Surface)

Les résultats des prélèvements environnementaux effectués au niveau des incubateurs pour prématurés aux seins des services de Néonatalogie sont répertoriés dans le tableau n° III.B.13.

Tableau n° III.B.13 : Prélèvements environnementaux au niveau des incubateurs pour prématurés en néonatalogie à niveau de risque 4

Type de prélèvements	Limites d'UFC	Conditions de prélèvements	Prélèvements environnementaux au niveau des incubateurs pour prématurés en néonatalogie à niveau de risque 4				
Air	< 1UFC	Sans humidification	Nature microbiologique des prélèvements	Limites d'UFC atteintes	% niveau Alerte	% niveau Action	% niveau Cible
			Bactériologiques	0 -14	25	43,75	31,25
			Mycologiques	0-3	12,5	00	87,5
		Avec humidification	Bactériologiques	0 - 31	12,5	62,5	25
			Mycologiques	0- 12	31,25	12,5	56,25
		Surfaces	<5 UFC*	/	Bactériologiques	0-10	62,5
Mycologiques	0-2				6,25	00	93,75
<p>* Remarque : Le nombre d'UFC est exprimé en UFC par 25 cm² pour les prélèvements de surfaces et en UFC par boîte de Pétri de 90 mm pour les prélèvements d'Air.</p>							

D'après les résultats trouvés, nous constatons que les taux des niveaux cibles atteints les plus élevés étaient obtenus pour la qualité mycologique, avec un taux de 93,75% concernant les prélèvements des surfaces, 87,5% concernant les prélèvements de l'air sans humidification et 56,25% concernant les prélèvements de l'air avec humidification.

Concernant les prélèvements bactériologiques, les taux les plus élevés ont concerné le niveau alerte avec 62,5% pour les prélèvements des surfaces. Le niveau action a été atteint avec des taux de 62,5% pour les prélèvements de l'air avec humidification et 43,75% pour les prélèvements de l'air sans humidification.

D'une manière globale, ces résultats renseignent sur l'inefficacité de la désinfection effectuée au sein du service de néonatalogie notamment sur la flore bactérienne qui a atteint des taux de niveaux d'action très élevés 62,5%.

Néanmoins, ces résultats renseignent sur une certaine efficacité de la désinfection des surfaces sur la flore fongique avec un taux de 93,75% de niveau cible et 6,25% de niveau d'alerte et 00% de niveau d'action.

Ces résultats mettent en évidence une nette diminution des taux du niveau cible atteint relatifs aux prélèvements effectués avec humidification, ce qui renseigne sur une probable contamination microbiologique induite par l'humidification des incubateurs.

Afin d'identifier la source de la contamination microbienne mise en évidence après la mise en marche des humidificateurs des incubateurs pour prématurés. Nous avons ultérieurement effectué un ensemble de prélèvements afin de contrôler l'eau des humidificateurs.

III.A.2.3.2. Exploration de la qualité microbiologique de l'eau des humidificateurs des incubateurs pour prématurés en néonatalogie

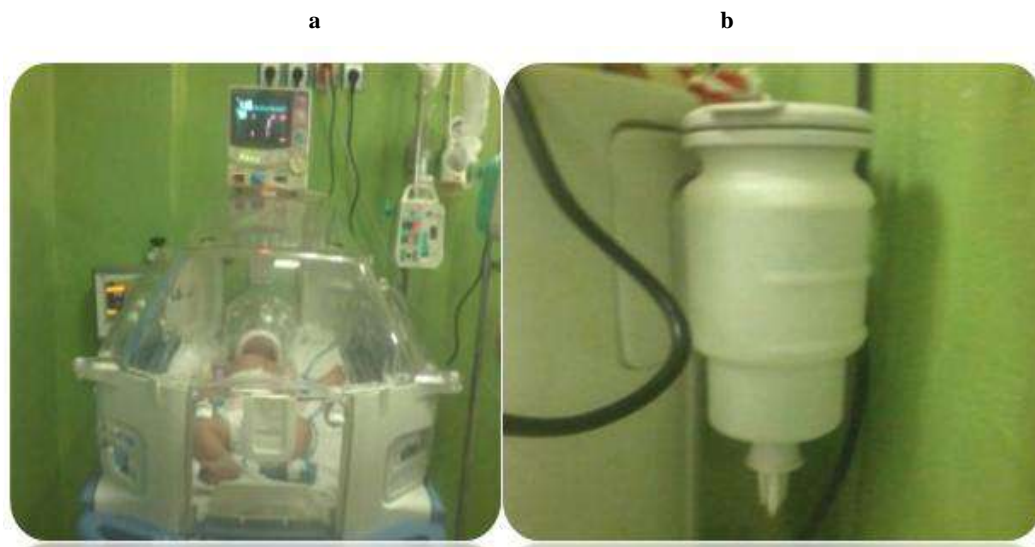


Photo n° III.B.7 : Réservoir d'eau supposée stérile utilisée pour l'humidification des incubateurs pour prématurés en néonatalogie (a: Incubateur et b: réservoir d'eau)

Les prélèvements ont concernés un nombre réduit de quatre réservoirs d'eau pour incubateurs de prématurés par causes d'entrave administratives rencontrées.

Pour cette cause, nous présentons les résultats trouvés uniquement par groupes microbiens identifiés.

Les résultats trouvés concernant l'eau des humidificateurs des incubateurs pour prématurés en néonatalogie sont présentés par le tableau n° III.B.14:

Tableau n° III.B.14 : Souches bactériennes et fongiques mises en évidence au niveau de l'eau des réservoirs, utilisés pour l'humidification des incubateurs pour prématurés en néonatalogie

Prélèvements de l'eau stérile des réservoirs des humidificateurs pour incubateurs en néonatalogie				
Nature des prélèvements	Bactériologique		Mycologique	
Microorganismes identifiés	Gram positif	Gram négatif	Levures	Moisissures
	<i>Streptococcus sp</i> <i>Staphylococcus sp</i>	- <i>Pseudomonas sp</i> - <i>Acinetobacter baumannii</i>	Cinq types de colonie à morphologie distinctes	- <i>Penicillium</i> - <i>Aspergillus</i>
Quelques illustrations des résultats obtenus				

Les résultats trouvés ont révélé une contamination microbienne bactérienne et fongique notamment par les levures et *Pseudomonas s. Le Pseudomonas maltophilia* serait, selon plusieurs études antérieures, responsable de troubles respiratoires mortel en milieu hospitalier [120 ,132].

Nous notons que l'eau analysée est supposée être stérile car elle est destinée à humidifier l'air de l'habitacle des incubateurs pour prématurés en néonatalogie avec une hygrométrie pouvant atteindre 10 %HR selon la *normes 601-2-19 et 601-2-21* pour incubateurs fixe [120].

La contamination des nouveau-nés dans les incubateurs, par des souches du genre *Pseudomonas* et celui d'*Acinetobacter* a été signalée par les travaux de l'équipe de Ritter [133].

III.A.2.3.3. Etude statistique: Taux des causes de mortalité néonatale

Nous avons par la suite mené une étude statistique afin de connaître les taux de mortalité mensuels et annuel ainsi que les taux présentés par chaque cause de mortalité déclarée.

Les résultats établis figurent dans le tableau n° III.B.15.

Tableau n° III.B.15 : Etude statistique: Taux des causes de mortalité néonatale

Année: 2012	Nombre de prématurés	Décès	Taux de décès	DR	SF	IN	AP	Ii
Janvier	13	04	30,76	75	25	0	0	0
Février	36	10	62,5	60	10	0	0	0
Mars	34	10	29,41	60	10	10		0
Avril	16	08	50	25	12,5	25	0	0
Mai	19	05	26,31	40	0	40	0	0
Juin	20	09	45	44,44	44,44	0	0	0
Juillet	21	7	33,33	71,42	0	14,28	14,28	0
Aout	19	5	26,31	60	40	0	0	0
Septembre	14	04	28,57	50	25	0	25	0
Octobre	22	09	40,90	66,66	22,22	11,11	0	0
Novembre	17	13	76,47	61,53	15,38	7,69	0	15,38
Decembre	21	07	33,33	28,57	14,28	28,57	28,57	0
Taux moyen	252	91	40,24	53,63	18,16	11,38	5,65	1,28
DR: Détresse respiratoire, SF: Souffrance fœtale, IN: Infection néonatale, AP: Asphyxie prénatale, Ii: Iso immunes								

D'après l'étude statistique menée, nous avons noté un taux de mortalité assez élevé de 40,24%, le taux moyen le plus élevé fut présenté par la cause de détresse respiratoire de 53,63% probablement associé à la qualité de l'air humide ambiant au sein des incubateurs; Suivi par la Souffrance fœtale avec un taux de 18,16%, l'Infection néonatale avec un taux de 11,38%, les autres causes ont présenté des taux assez faibles.

III.A.2.4. Qualité microbiologique de services à niveau de risque élevé: Blocs opératoires

Les résultats des prélèvements environnementaux réalisés au niveau des blocs opératoires sont présentés par le tableau n° III.B.16.

Tableau n° III.B.16 : Résultats des prélèvements environnementaux réalisés au niveau des blocs opératoires

Prélèvements bactériologiques de surfaces				
Points de prélèvements	UFC limites atteintes	% Niveau Cible	% Niveau Alerte	% Niveau Action
Table d'intervention chirurgicale	0-50	63,63	18,18	18,18
Aspirateur	9-nappe	00	9,09	90,90
Chariot	17-nappe	00	18,18	81-81
Masque	1-65	27,27	54,54	18,18
Tiroir à médicaments	1-nappe	9,09	72,72	27,27
Prélèvements mycologique Surfaces				
Points de prélèvements	UFC limites atteintes	% Niveau Cible	% Niveau Alerte	% Niveau Action
Table d'intervention chirurgicale	0-86	72,72	9,09	18,18
Aspirateur	4 -nappe	00	36,36	63,63
Chariot	2- 254	27,27	27,27	45,45
Masque	0- 42	36,36	18,18	45,45
Tiroir à médicaments	00-nappe	54,54	18,18	27,27
Prélèvements de l'Air				
Nature des prélèvements	UFC limites atteintes	% Niveau Cible	% Niveau Alerte	% Niveau Action
Bactériologique	2-52	63,63	27,27	9,09
Mycologique	0-10	72,72	18,18	9,09

On constate que le taux le plus élevé concernant le niveau cible a été atteint pour la qualité microbiologique des tables d'intervention chirurgicales avec une valeur de

63,63% pour les prélèvements bactériologiques et 72,72% pour les prélèvements mycologiques, par contre ce niveau n'a pas été atteint pour les aspirateurs et les chariots qui ont atteint le niveau d'action avec les taux les plus élevés avec des valeurs respectives de 90.90% , 81.81% pour les prélèvements bactériologiques et 65,65%, 45,45%.

On constate que le niveau cible a été atteint avec des valeurs relativement élevées de 72,72% pour les prélèvements mycologiques et 63,63%, le niveau action a été atteint mais avec un faible taux de 9,09%.

III.B.2.4.1. Divers cas de contamination rencontrés au niveau d'un ensemble de blocs opératoires

Dans ce qui suit, nous présentons des situations de contamination rencontrées lors de la réalisation de nos prélèvements microbiologiques au niveau d'un ensemble de blocs opératoires de structures hospitalières du sud ouest Algérien.

* Cas d'un bloc opératoire de chirurgie générale et contamination des tiroirs à médicament de la salle d'opération.

* Cas de poussières cumulées au niveau du plafond d'une salle d'opération d'un service de gynécologie.

* Cas d'une contamination par un agent biologique potentiellement pathogène au niveau d'une surface de chariot utilisé come support pour le matériel utilisé pendant la réalisation d'une intervention chirurgicale an niveau d'un bloc d'orthopédie à niveau de biosécurité le plus élevé qui est de 4.

* Cas des aspirateurs près pour un nouveau usage pour intervention chirurgicale, utilisés dans de nombreuses salles d'intervention chirurgicales qui ont à 100% montré une contamination de surface avec nombre d'UFC par 25 Cm² : Innombrable UFC (Unité Formant colonie), les résultats obtenus pour l'ensemble sans exception des prélèvements étaient sous formes de nappes microbiennes nettement visibles après 24h d'incubation.

III.B.2.5. Qualité microbiologique d'un ensemble de services d'une structure hospitalière ayant bénéficié d'une désinfection terminale

Nous présentons, ci- dessus en détails, les résultats obtenus pour une structure qui a montré des taux de cible atteignant des valeurs de 100% concernant les prélèvements mycologiques de surfaces ; on note que cette structure à bénéficier d'une désinfection terminale de la majorité des services investigués 48h avant la réalisation de nos prélèvements. Il s'agit de la structure hospitalière de Mohamed yagoub de Benni Abbes. Les résultats obtenus figurent dans les tableaux n°III.B.17 et n°III.B.18.

Tableau n°III.B.17 : Résultats des prélèvements bactériologiques de l'air et de surface de l'ensemble des services hospitaliers et niveaux atteints selon les limites recommandées de contamination microbiologique

Prélèvements bactériologiques		Services investigués							
		PED	MED	UMC	HD	ORL	CH	REA	MAT
Niveau de risque		3	3	3	3	3	3	3	2
Surfaces	Lit	21	Inombrable	21	3	10	6	200	400
	Table	0	0	11	7	7	12	250	36
	Table d'accouchement	/	/	/	/	/	/	/	47
Limites recommandées de contamination microbiologique		<5UFC							<50UFC
Niveau atteint		Alerte	Action	Alerte	Alerte	Alerte	Alerte	Action	Action
Air		2	33	7	9	6	8	24	567
Limites ISO 14644-1		5UFC							50UFC
Niveau atteint		Cible	Action	Alerte	Alerte	Alerte	Alerte	Action	Action

Aucun service n'a atteint le niveau cible concernant les prélèvements bactériologiques des surfaces, par contre le niveau alerte a été atteint avec un taux de 62,5% et celui d'action avec un taux de 37,5%.

Seul le service pédiatrie a atteint le niveau cible pour les prélèvements de l'air bactériologique, tandis que le reste des services ont atteint le niveau Alerte avec un taux de 50% et celui d'Action avec un taux de 37,5%.

Les services pour lesquels le niveau d'action a été montré concernant les prélèvements de l'air n'ont pas fait l'objet de désinfection terminale.

Les nombres d'UFC élevé ont été montrés par les prélèvements effectués au niveau des lits par rapport à ceux des tables probablement car les lits ne sont pas nettoyés régulièrement comme le désignent les tables utilisés par les malades. Cette constatation a été faite pour l'ensemble des structures investiguées.

Tableau n°III.B.18 : Résultats des prélèvements mycologiques de l'air et de surfaces de l'ensemble des services hospitaliers et niveau atteints selon les limites recommandées de contamination microbiologique.

Prélèvement Mycologique		Services investigués							
		PED	MED	UMC	HD	ORL	CH	REA	MAT
Niveau de risque		3	3	3	3	3	3	3	2
Surfaces	Lit	0	2	1	0	0	0	1	0
	Table	0	0	2	1	1	1	0	12
	Table d'accouchement	/	/	/	/	/	/	/	2
Limites recommandées de contamination microbiologique		<5UFC							<50UFC
Niveau atteint		Cible	Cible	Cible	Cible	Cible	Cible	Cible	Cible
Air		3	0	3	6	2	3	6	21
Limites ISO 14644-1		<5UFC							<50UFC
Niveau atteint		Cible	Cible	Cible	Alerte	Cible	Cible	Alerte	Cible

Le niveau cible a été atteint pour 100% des prélèvements de surfaces des services investigués. Les prélèvements mycologique de l'air ont révélé le niveau cible avec un taux de 75%.

Suite aux résultats trouvés, nous avons établis une action corrective avec plusieurs recommandations : Voir Partie [I.4 Actions correctives établis suite à des situations particulières rencontrées].

III.B.2.6. Résultats de l'expression in vitro du dysfonctionnement du system agr d'un ensemble de souches de *Staphylococcus aureus* et polypharmacorésistance de chaque phénotype exprimé.



Photo n°III.B.8 : Souches de *S. aureus* mis en évidence au niveau des mains et des fosses nasales du personnel hospitalier prélevé.

III.B.2.6.1. Recensement des cultures positives

La figure n° III.B.4 Présente les taux de souches appartenant au genre espèce *S. aureus* mis en évidence au niveau des mains et des fosses nasales du personnel hospitalier prélevé.

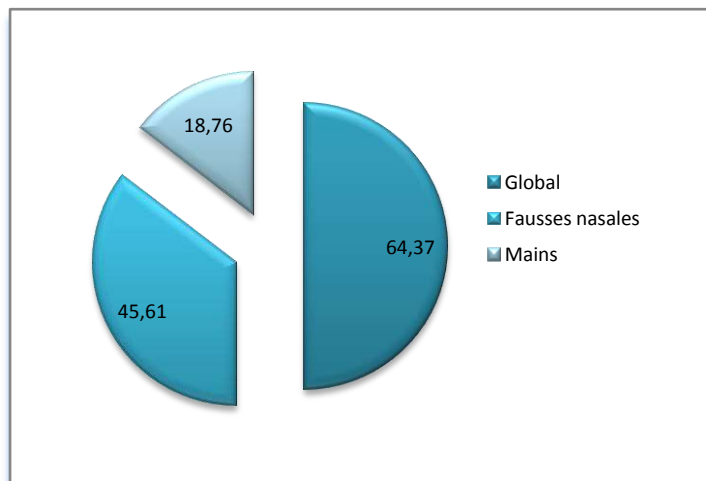


Fig III.B.4 : Taux de souches de *Staphylococcus aureus* recensées auprès du personnel hospitalier

Un taux de 64,37% de l'ensemble des prélèvements effectués a révélé la présence de *S. aureus* dont un taux de 45,61% est attribué aux prélèvements effectués au niveau des fosses nasales et 18,76% est attribué aux prélèvements effectués au niveau des mains.

III.B.2.6.2. Différents phénotypes exprimés après 24h et 48h d'incubation à 37°C Sur gélose au sang de cheval

a) Différents phénotypes exprimés après 24h d'incubation

L'ensemble des colonies obtenues sur gélose au sang ont exprimé un polymorphisme après 24h et notamment 48h d'incubation à 37°C.

Le tableau suivant présente l'aspect des colonies de *S. aureus* sur gélose au sang après 24h d'incubation.

Tableau n° III.B.19: Critères phénotypiques des colonies de *Staphylococcus aureus* sur gélose au sang après 24h d'incubation à 37°C

Critères phénotypiques 24 h	Halo d'hémolyse	Couleur	Taille relative *	Elévation
1	Présente	Blanche	Grande	Bombée
2	Absente	Blanche	Naine	Plate
3	Absente	Blanche	Moyenne	Bombée

* Taille relative par rapport à l'ensemble des taille obtenues en 24h, non déterminée en mm, les tailles obtenues après 48h d'incubation sont mesurées en mm voir tableau n° III.B.19.

Les colonies obtenues après incubation de 24h à 37°C ont donné 3 phénotypes **1,2** et **3** avec des taux respectifs de 26,21%, 64,07% et 9.70%. Ces derniers ont exprimé après 48h d'incubation quatre phénotypes **A, B, C** et **D** avec des taux respectifs de 15,53%, 32,03%, 16,50% et 38,83% qui sont présentés par le tableau n° III.B.21.

b) Différents phénotypes exprimés après 48h d'incubation

Tableau n° III.B.20 : Critères phénotypiques des colonies de *Staphylococcus aureus* après 48h d'incubation sur gélose au sang

Critères phénotypiques 48 h	Halo d'hémolyse	Couleur	Taille Mm	Elévation
A	Absence	Blanche	2	Plate
B	Absente	Blanche	1	Bombée
C	Absente	Jaune vif	2	Plate
D	Présente	Jaune pale	1,5	Bombée

Les phénotypes obtenus après 48h sont illustrés par la Photo n° III.B.9.

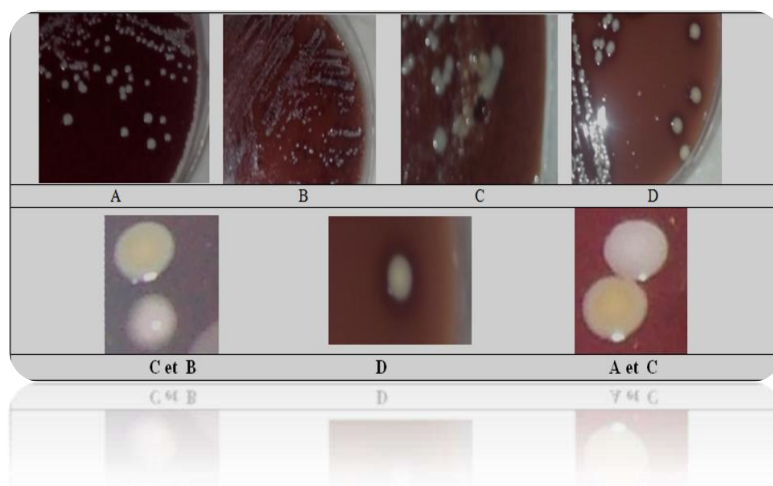


Photo n° III.B.9 : Polymorphisme des colonies de *Staphylococcus aureus* obtenues après 48h d'incubation à 37°C sur gélose au sang

c] Répartition des Phénotypes obtenus après 24h et 48h d'incubation à 37°C Sur gélose au sang

La répartition des Phénotypes obtenus après 24h et 48h d'incubation à 37°C Sur gélose au sang est présentée par le tableau suivant :

Tableau n° III.B.21 : Taux de répartition des Phénotypes obtenus après 24h et 48h d'incubation à 37°C Sur gélose au sang

Phénotypes mis en évidence après 24h	%	Phénotypes mis en évidence après 48h	%	Critères particuliers Après incubation à 37°C	Répartition générale des phénotypes obtenus après 48h	Taux de Souches déficientes en hémolysine %
Type 1	26.21	1D	100	Apparition de l'hémolyse après 24 h et d'une pigmentation jaune pale après 48h.	A	15,53
Type 2	64.07	2A	21,21	Absence d'hémolyse et de pigmentation au bout de 48h.	B	32,03
		2B	50	Absence d'hémolyse et de pigmentation au bout de 48h.		
		2C	13,63	Pigmentation de la colonie en jaune vif après 48h.	C	16,50
		2D	18,18	Apparition de l'hémolyse et de la pigmentation de la colonie en jaune pale après 48h.		
Type 3	9.70	3A	80	Absence d'hémolyse et de pigmentation au bout de 48h.	D	38,83
		3C	20	Pigmentation de la colonie en jaune vif après 48h.		
						64,06

Les critères phénotypiques mis en évidence après 24h d'incubation sont relativement semblables à quelques différences près telle que taille, élévation, halo d'hémolyse.

Les critères des phénotypes mis en évidence après 48h les plus pertinents sont l'apparition de l'hémolyse à partir du type **2** et l'apparition de la pigmentation jaune à partir du type **1, 2 et 3**.

Les colonies des phénotypes **1** obtenues après 24h d'incubation ont exprimé après 48h d'incubation le phénotype **D** avec un taux de 100%.

Les colonies du phénotype **2** ont exprimé après 48h d'incubation le phénotype **A** avec un taux de 21,21%, **B** avec un taux de 50%, **C** avec un taux de 13,63% et **D** avec un taux de 18,18%. Nous notons que le phénotype **B** est obtenu exclusivement à partir des colonies du type **2**.

Le phénotype **3** a exprimé le phénotype **A** avec un taux de 80 % et **C** avec un taux de 20%.

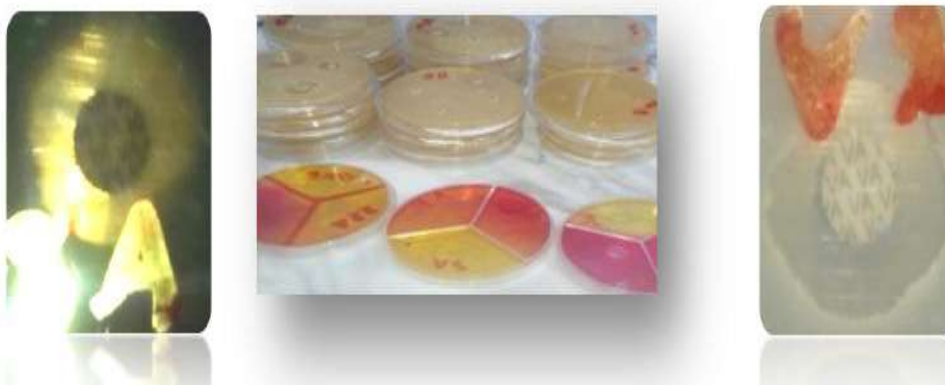
64,06% des souches de *S. aureus* mise en évidence étaient déficientes en hémolysine. Cette dernière a été évoquée dans des travaux antérieurs [169], elle présenterait un rapport avec la biofilmisation, ce qui explique le taux élevé de souches déficientes en hémolysine [109 ,170].

L'hémolyse a été observée après 24 heures d'incubation avec un taux de 26.21% des souches ayant exprimé le phénotype **1**, alors qu'un taux de 18,18% des souches du types **2** a manifesté une hémolyse après 48heures d'incubation évoquant ainsi une hémolyse retardée évoquée par des travaux antérieurs de Vandenesch [109].

La pigmentation jaune est obtenue après 48h d'incubation par les phénotypes **D** issue du type **2** et du phénotype **C** issus des types **2** et **3**. Ces résultats corroborent avec ceux de Schweizer et al qui note que certaines souches de *S. aureus* expriment une pigmentation jaune et d'autre ne l'expriment pas [171].

Nous avons noté que cette dernière n'est nettement observable qu'à partir d'un délai d'incubation de 48h et que les colonies pigmentées ayant exprimé simultanément une hémolyse sont d'un jaune pâle, alors que les colonies pigmentées et n'exprimant pas une hémolyse sont d'un jaune vif.

III.B.2.6.3. Résistance des différents phénotypes exprimés à l'oxacilline, la cefoxitine et la vancomycine



Les taux de résistance des différents phénotypes mis en évidence sont présentés par le tableau n° III.B.22.

Tableau n° III.B.22: Taux de résistance des différents phénotypes exprimés par les souches de Staphylococcus aureus sur gélose au sang

Phénotypes mis en évidence**	Taux de résistance %								
	Cefoxitine 30 µg			Oxacilline 5 µg			Vancomycine 30 µg		
	avec zone critiques ≤ 22 [14]mm***	Résistance Totale ****	Taux de résistance globale	avec zone critiques ≤ 10 [14] m***	Résistance Totale ****	Taux de résistance globale	avec zone critiques ≤ 15 [14]mm***	Résistance Totale ****	Taux de résistance globale
1D	00	Abs*	22,85	00	00	22,85	2,85	Abs*	11,42
2A	2,85			2,85	00		2,85		
2B	11,42			5,71	5,71		00		
2D	2,85			00	2,85		00		
2C	00			00	00		2,85		
3A	5,71			5,71	00		00		
3C	00			00	00		2,85		
* abs : absente ** : Numéro du type de 24h et Lettre du type de 48h *** : Résistance Relative à l'ensemble des souches testées **** : Zone d'inhibition égale à 00 mm									

On a constaté qu'aucune résistance totale avec des zones d'inhibition nulles n'a été montré vis-à-vis de la céfoxitine, néanmoins une résistance interprétée avec limites critique a été noté avec un taux de 22,85% dont un taux de 17,12% est exprimé par les souches du phénotype 2 avec 11,42% attribué uniquement à son phénotype exclusif B.

Les souches testées ont montré une résistance globale de 22,85% à l'oxacilline avec une résistance totale 8,56% attribuée au phénotype 2 avec un taux de 5,71% pour le phénotype 2B et 2,85% pour le phénotype 2D, une résistance relative aux limites critiques a été exprimé par les phénotypes 2A, 2B et 3A avec des taux respectifs de 2,85% et 5,71%.

Une résistance globale à la vancomycine a été observée avec un taux de 11,42% dont un taux de 8,57% est attribué aux souches déficientes en hémolysine. Nos résultats corroborent avec les travaux de Vuong *et al* et ceux de Vandenesch qui avancent que la détection des souches déficientes pour l'hémolysine peut être utilisé comme marqueur prédictif d'infections persistantes et/ou de souches pouvant devenir GISA, c'est-à-dire souche de *S. aureus* de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides [134,135].

Des souches ayant exprimé le Phénotype 2A ont montré une résistance simultanée à la céfoxitine, l'oxacilline et la vancomycine avec un taux de 2,85%.

On constate que les phénotypes 2A et 2B ont exprimé des résistances marquées. Pour le phénotype 2A, on a noté la présence de souches capables de résister simultanément aux trois antibiotiques testés. En effet, l'équipe de Schweizer et celle de Perichon avancent l'existence de souches présentant une résistance simultanée à l'oxacilline et à la vancomycine [136,137].

Par contre, le phénotype 2B a donné un nombre de souches résistantes à la céfoxitine et à l'oxacilline, relativement supérieur à celui montré par les autres phénotypes ainsi que la capacité de montrer une résistance totale avec des zones d'inhibition nulles vis-à-vis de l'oxacilline.

Les souches de *S. aureus* résistant à la méthicilline sont présentées avec une fréquence de 22,85% dont les 11,42% appartiennent au phénotype 2B dont les colonies obtenues sur gélose au sang n'expriment pas une pigmentation jaune et sont déficientes en hémolysine, de taille nettement réduite relativement aux tailles obtenues pour les autres phénotypes. D'après ces résultats, la déficience de ces deux critères ainsi que la taille réduite des colonies de *S.aureus* obtenues sur gélose au sang après 48h d'incubation peuvent être utilisés comme marqueurs prédictifs de la résistance à la méthicilline des souches de *Staphylococcus aureus* avec une probabilité de 49,97%.

Lors de cette étude, nous notons que 100% des souches ayant montrées une résistance aux trois antibiotiques testés appartiennent à des phénotypes exprimant

simultanément une déficience en hémolysine et une absence de la pigmentation jaune au bout de 48h d'incubation.

III.B.2.6.4. Résistance des différents phénotypes exprimés aux antibiotiques complémentaires



La résistance exprimée par les souches de *S.aureus* vis-à-vis des antibiotiques complémentaires recommandés [138]: Ciprofloxacine, Fosfomycine, Ofloxacine et Triméthoprime/sulfaméthoxazole est donnée par le tableau n° III.B.23.

Tableau n° III.B.23 : Résistance des souches de *Staphylococcus aureus* exprimée vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques testés

ANTIBIOTIQUES	Charge du disque	Zone d'inhibition minimale mm	Taux de résistance totale %	% Phénotype concerné	Taux de Résistance avec limites critiques	Phénotype concerné	Taux de souches à résistance hétérogène	Phénotype concerné résistance hétérogène
Gentamycine	15 µg (10 UI)	09	00	/	8,57	B2 8,57	00	/
Ciprofloxacine	5 µg	00	8,57	D2 5,71 B2 2,85	28,57	D1 5,71 B2 5,71 A3 5,71 D2 5,71 A2 2,85 C2 2,85	2,85	3C
Fosfomycine	50 µg	00	2,85	A3 2,85	8,57	B2 2,85 D1 2,85 D2 2,85	2,85	2C
Ofloxacine	5 µg	23	00	/	00	00	00	/
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25+23,75 µg	00	14,28	D1 2,85 A3 2,85 A2 2,85 D2 5,71	/	/	2,85	3C
Les % sont calculés par rapport à l'ensemble des souches ayant exprimé une résistance à l'antibiotique considéré.								

Aucune résistance n'a été notée vis-à-vis du fluoroquinolone ofloxacine avec une zone d'inhibition minimale de 23mm. Les souches testées n'ont pas exprimé une résistance totale vis-à-vis de la gentamicine avec zone minimale de 9mm avec une

résistance interprétée par les limites critiques de 8,57%, exprimée à 100% par les souches du phénotype 2B.

Les souches du phénotype A3 ont exprimé une résistance totale vis-à-vis de la fosfomycine avec un taux de 2,85% et une résistance avec limites critiques de 8,57% exprimée par B2, D1 et D2 avec un taux de 2,85% pour chacun. On a noté une résistance hétérogène exprimée vis-à-vis de la fosfomycine exprimée par le phénotype 2C avec un taux de 2,85%.

Une résistance totale a été notée vis-à-vis du Triméthopime/sulfaméthoxazole avec un taux de 14,28% attribuée au phénotype D1 avec un taux de 5,71 et aux phénotypes 2A, A3 et D1 avec un taux de 2,85% avec une résistance hétérogène manifestée par le phénotype 3C avec un taux de 2,85%.

Une résistance totale a été notée vis-à-vis de la Ciprofloxacine avec un taux de 8,57% attribuée au phénotype D2 5,71% et B2 avec un taux de 2,85%. La résistance avec zones critiques était d'une valeur de 28,57% attribuée au phénotype D1, D2, A3, B2 avec un taux de **5,71** pour chaque phénotype et A2 et 2C avec un taux de 2,85%, le phénotype 3C a manifesté une résistance hétérogène à la Ciprofloxacine.

On conclut que d'après les résultats obtenus le portage des souches de *Staphylococcus aureus*, par le personnel hospitalier prélevé est évalué à 64,37% issus de 58,33% des prélèvements des mains et 70,83% issus des fosses nasales.

Nous avons obtenu quatre phénotypes **A, B, C et D** nettement distinctifs avec des taux respectifs de 15,53%, 32,03%, 16,50% et 38,83% , au bout de 48h d'incubation issus de trois phénotypes **1, 2 et 3** avec des taux respectifs de 26,21%, 64,07% et 9,70%. Ces derniers sont obtenus après 24h d'incubation à 37°C et sont difficilement distinguables.

Les souches ayant exprimé les phénotypes C et D ont exprimé une pigmentation jaune relativement moins intense lorsqu'elle est associée à l'expression d'hémolyse.

Les souches ayant exprimé les phénotypes A, B et C ont exprimé une déficience en hémolysine.

64,06% des souches isolées étaient déficientes en hémolysine, ce qui évoque une probable relation avec la capacité de colonisation de ces dernières. Un taux de 18,18% a exprimé une hémolyse retardée.

Nos résultats évaluent la fréquence des souches de *S. aureus* résistant à la méthicilline à 22,85%, et recommande d'utiliser simultanément la déficience en hémolysine, l'absence de pigmentation jaune ainsi que la taille réduite des colonies de

Staphylococcus aureus obtenus sur gélose au sang après 48 h d'incubation, comme marqueurs prédictifs de la résistance à la méthicilline des souches de *S. aureus* avec une probabilité de 49,97%.

Une résistance globale à la vancomycine a été observée avec un taux de 11,42% dont un taux de 8,57% est attribué aux souches déficientes en hémolysine. Ces résultats corroborent avec des travaux antérieurs [139,140].

Les souches du phénotype C n'ont manifestée aucune résistance totale à l'ensemble des antibiotiques testés. Par contre, ces dernières ont exclusivement manifesté une résistance hétérogène à la Ciprofloxacine, la Fosfomycine et le Triméthoprime/sulfaméthoxazole.

Les souches de *S.aureus* testées n'ont montré aucune résistance vis-à-vis de l'ofloxacine, seules des souches appartenant au phénotype 2B ont manifesté une résistance à la gentamicine.

Nous notons que 91,46% des souches ayant manifesté une résistance aux antibiotiques testés appartiennent aux phénotypes ayant exprimé une déficience simultanée en hémolysine et à la capacité de pigmentation. Ces résultats annoncent une éventuelle relation entre la résistance aux antibiotiques et la répression ou l'altération des locus spécifiques aux deux critères considérés.

III.B.2.7. Résultats de l'exploration de la population du genre *Pseudomonas* au sein du personnel exerçant en milieu hospitalier

III.B.2.7.1. Recensement des cultures positives :

Cette partie d'étude traite les résultats trouvés concernant les prélèvements effectués auprès du personnel exerçant au sein de deux structures hospitalières, les prélèvements réalisés ont ciblé la population des bactéries Gram négatif en particulier le genre *Pseudomonas*. Le tableau n° III.B.24 présente les résultats de l'exploration de la population du genre *Pseudomonas* au niveau des mains et fausses nasales du personnel exerçant en milieu hospitalier.

Tableau n° III.B.24 : Résultats de l'exploration de la population du genre *Pseudomonas* au niveau des mains et fausses nasales du personnel exerçant en milieu hospitalier

% Globale des prélèvements* Bâtonnets Gram négatif	% B.N Prélèvements au niveau des mains**	% <i>Pseudomonas</i> (Mains)	% B.N*** Prélèvements au niveau des fosses nasales**	% <i>Pseudomonas</i> fosses nasales
29,16%	24.37%	13.92%	4.79% dont les 50% sont des <i>Klebsiella</i>	00
* % Relatif à l'ensemble des prélèvements effectués au niveau des mains et des fausses nasales. ** % Relatif à l'ensemble des prélèvements spécifique aux mains ou aux fausses nasales. B.N*** Bâtonnets Gram négatif				

Les bâtonnets Gram négatifs ont été mis en évidence dans les 29,16% des prélèvements effectués auprès du personnel hospitalier dont les 24,37% étaient prélevés au niveau des mains relatif à 85,71% de l'ensemble des prélèvements positifs et dont les 13,92% appartenaient au genre *Pseudomonas sp.* Aucune souche du genre *Pseudomonas* n'a été isolée à partir des prélèvements effectués au niveau des fosses nasales tandis que les autres souches bâtonnets Gram positifs obtenues appartenaient à 50% au genre *Klebsiella*.

III.B.2.7.2. Résultats de l'identification du genre des souches de *Pseudomonas* par l'amplification du gène oprI par PCR

Afin de confirmer l'identification des espèces du genre *Pseudomonas* obtenus préalablement mis en évidence par le biais de la galerie Api 10S. Voir Annexe 5. Nous avons eu recours à une caractérisation moléculaire basée sur l'amplification du gène oprI par PCR dont la fluorescence est indiquée par le marqueur des tailles au niveau 212. Ce dernier est bien conservé dans le genre *Pseudomonas* selon les travaux de VOS et al [141]. Ce dernier est utilisé comme marqueur phylogénétique pour le genre *Pseudomonas* selon [142, 143].

Dans la **Photo n° III.B.10** les souches n°1, n°2 et n°3 ont révélé la bande caractéristique du gène oprI à 212 du genre *Pseudomonas*.

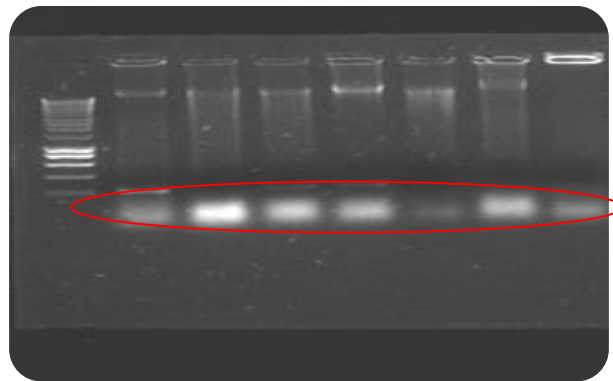


Photo n° III.B.10 caractérisation moléculaire du genre *Pseudomonas* basée sur l'amplification du gène oprI

Les souches ayant montré la bande caractéristique du gène oprI sont confirmées être des souches appartenant au genre *Pseudomonas*. Ces dernières seront soumises à une étude de résistance à une gamme d'antibiotiques.

III.B.2.7.3. Résistance exprimée pour l'ensemble des antibiotiques testés par les souches du genre *Pseudomonas* isolés à partir du personnel exerçant en milieu hospitalier

Nous avons testé six antibiotiques dont cinq sont recommandés par L'OMS [112] et la colistine qui est recommandée par la société française de microbiologie [144].

Les résultats de résistances aux antibiotiques, exprimées par les souches, du genre *Pseudomonas*, isolées figurent dans le tableau n° III.B.25 .

Tableau n° III.B.25 : Résistances aux antibiotiques, exprimées par les souches, du genre *Pseudomonas*

%	Ceftazidine	Amikacine	Colistine	Gentamicine	Imipenem	Ofloxacin
RL*	20%	40%	ND	20%	00%	00%
RT**	00%	00%	20%	00%	00%	00%
Zone d'inhibition minimale	13	12	00	10	17	20
RL*: Résistance relatif aux limites recommandées						
RT**: Résistance totale avec zone d'inhibition égale à 00mm						

On constate qu'aucune résistance n'a été manifestée vis-à-vis de l'imipénème et de l'ofloxacin tandis qu'un taux de résistance d'une valeur de 40% a été exprimé vis-à-vis de L'amikacine et une résistance de 20% a été exprimée vis-à-vis de la ceftazidine et de la gentamicine.

Une résistance totale avec zone d'inhibition égale à 0 a été manifesté vis-à-vis de la colistine avec un taux de 20% tandis que nous n'avons pu déterminer la résistance vis-à-vis de cet antibiotique par faute d'existence de valeurs critiques limites, aucune résistance totale n'a été exprimée vis-à-vis des autres antibiotiques testés.

Ofloxacin de la famille des quinolones, *'imipénème, antibiotique de la famille des bêtalactamines, de la classe des carbapénèmes.*

Notons que l'ensemble des souches des genre de *Pseudomonas* et *Staphylococcus* testées étaient sensible à l'ofloxacin., pas de résistance manifestée.

III.B.3. Résultats des suivis de différents protocoles réalisés au niveau des structures hospitalières investiguées

Cette partie a pour objectif d'effectuer un suivi relatif à la préparation des biberons destinés à l'allaitement de malades hospitalisés au niveau de deux services situés à l'hôpital mère-enfants Mohammed Boudiaf de Bechar: service de Pédiatrie et service de Néonatalogie.

III.B.3.1. Protocol de préparation de biberons dans un service de pédiatrie et de néonatalogie

Ce suivi a pour fin l'évaluation des risques de contamination microbologique probable au niveau des services concernés au cours des étapes suivies pour la préparation des biberons pour nourrissons et prématurés.

Étapes suivies

Les étapes suivies pour la préparation des biberons en pédiatrie et en néonatalogie sont présentées par la figure n°III.B.5 .

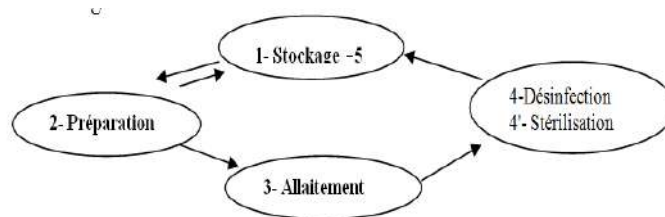


Fig n°III.B.5 : Etapes suivies pour la préparation des biberons en Pédiatrie et en néonatalogie

III.B.3.1.1. Stockage

Nous avons relevé un ensemble de points critiques de contamination microbienne probable relatifs à l'étape de stockage de la matière première utilisée pour la préparation des biberons, ainsi que le stockage des biberons stériles près à un nouvel emploi.

III.B.3.1.1.1. Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape du stockage :

Les points relevés sont présentés par le diagramme cause-effet n° III.B.1 .

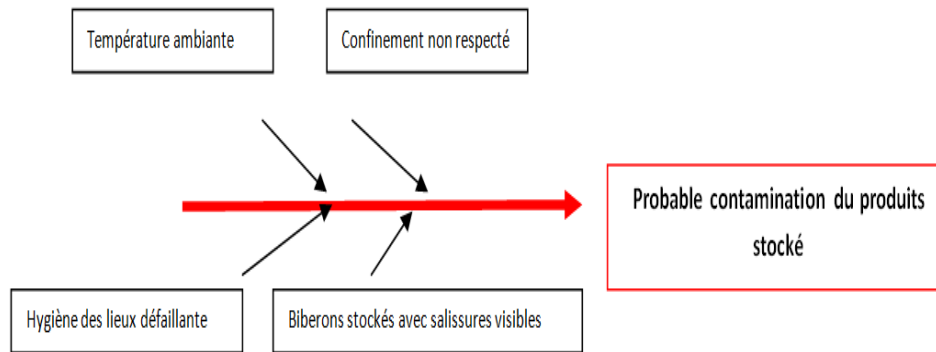


Diagramme cause-effet n° III.B.1 : Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape du stockage : Préparation biberon



Photo n°1II.B.11 : Conditions de préparation des biberons

III.B.3.1.2. Préparation

Nous avons relevé un ensemble de points critiques de contamination microbienne probable relatifs à l'étape de préparation. Ces derniers sont répartis en trois sous étapes qui se présentent comme suit:

***pré-préparation**

- Contamination probable de la matière première utilisée
- Contamination probable des Biberons stockés
- Contamination probable de l'eau de préparation

*** préparation**

- non désignation d'une personne responsable de la préparation des biberons
- Hygiène du personnel - tenue vestimentaire non conforme - lavage régulier des mains non respecté
- Hygiène du lieu de préparation défaillante

*** Post préparation**

- Durée de stockage des biberons préparés non respecté
- Transport des biberons préparés non protégé

III.B.3.1.2.1. Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de préparation des biberons

Les points relevés sont présentés par le diagramme cause-effet n° III.B.2 .

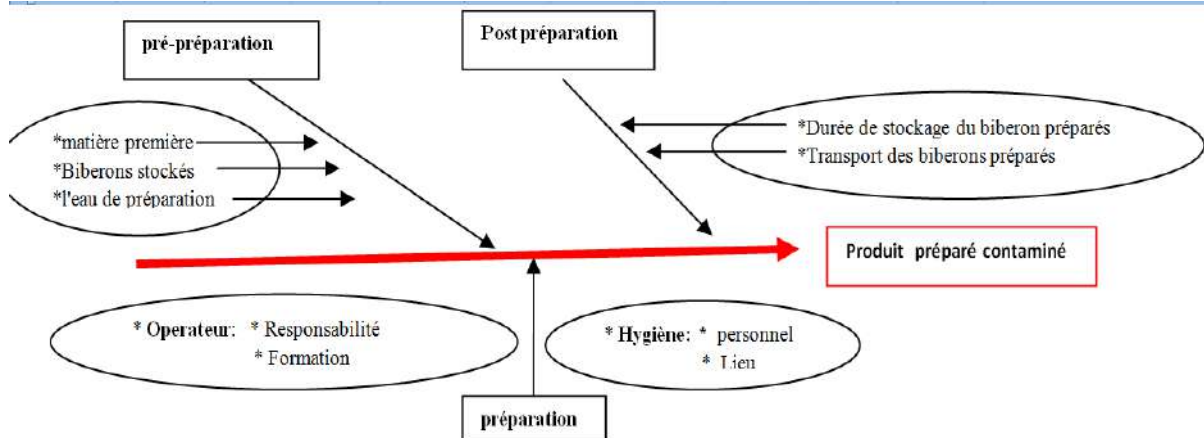


Diagramme cause-effet n° III.B.2 : Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de préparation des biberons

III.B.3.1.3- Allaitement

- * **Operateur:** - non désignation d'une personne responsable de l'allaitement
 - Absence de formation
- * **Cas de plusieurs tétés à partir d'un même biberon préparé:**
 - Temps de stockage des biberons utilisés non maîtrisé
 - Température de stockage des biberons en utilisation non maîtrisée

Les points relevés sont présentés par le diagramme cause-effet n°III.B.3 .

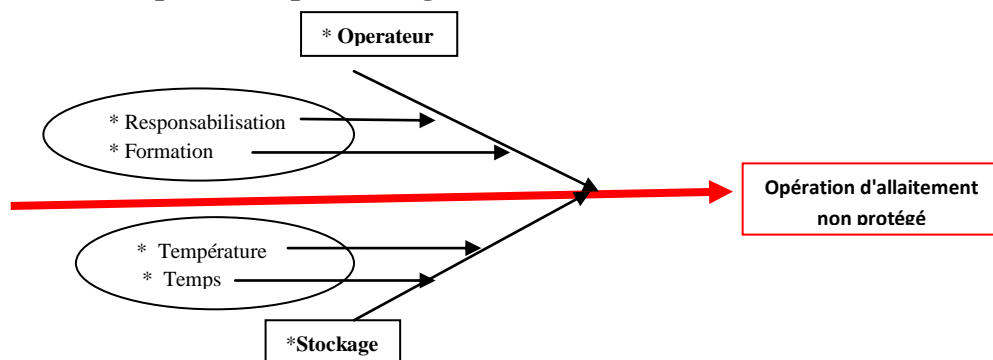


Diagramme cause-effet n°III.B.3 : Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de l'Opération d'allaitement

III.B.3.1.4. Désinfection et Stérilisation

- Operateur non formé
- Conditions d'hygiène des lieux de stérilisation défailantes
- * Technique de désinfection non normalisée

- Matériel utilisé
- Paramètres physicochimiques non contrôlés:
 - Produit utilisé non spécifique (eau du robinet et détergents ménagés)
 - Température
 - Temps de contact non respecté
- * Technique de stérilisation non normalisée
- Matériel utilisé rudimentaire simple casserole et butagaz
- Température de stérilisation non contrôlée
- Temps de stérilisation non contrôlé

I.3.1.4.1. Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de Désinfection et Stérilisation des biberons

Les points relevés sont présentés par le diagramme cause-effet n° III.B.4 .

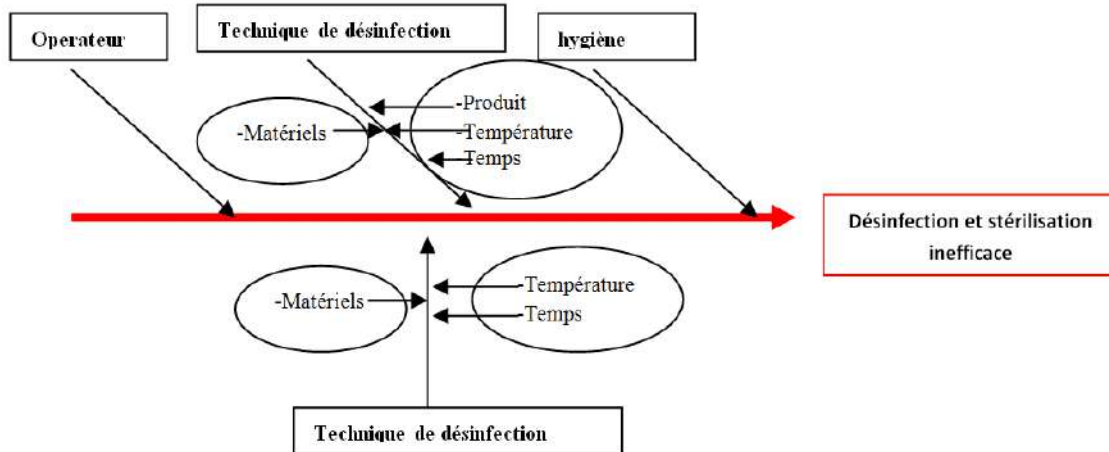


Diagramme cause-effet n° III.B.4 : Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de Désinfection et Stérilisation des biberons

III.B.3.1.5. Organisation générale du protocole

D'une manière générale le stockage, la préparation, la désinfection et la stérilisation sont dans l'ensemble réalisés dans une même et unique salle, facilement accessible sans confinement. Ce fait peut construire une potentielle source de contamination microbienne.



Organigramme n° III.B.5 : Organisation des étapes de préparation d'un biberon en service de Pédiatrie et de néonatalogie

III.B.3.1.6. Taux de risque de contamination microbienne probable % relatifs à l'ensemble des étapes de préparation de biberons en service de Pédiatrie et de néonatalogie

Cette étude présente les taux de points critiques relevés au niveau de chaque étape suivie pour la préparation des biberons qui sont présentés par le tableau n°III.B.26.

Tableau n°III.B.26 : Taux du risque de contamination relatifs aux étapes suivies pour la préparation des biberons

Points critique de contamination		Taux de contamination microbienne probable %	
Stockage	Matière première et biberons prés à l'emploi	12.90	
Préparation	Pré-préparation	09.67	
	Préparation	12.90	
	Post- préparation	06.45	
Allaitement	Operateur	06.45	
	Stockage	06.45	
Désinfection et Stérilisation	Désinfection	19.35	41.93
	Stérilisation	22.58	
Organisation du travail	Lieu du Protocol de préparation	3.22	

On constate que les taux des points critiques de contamination microbienne sont relativement élevés concernant l'étape de désinfection-stérilisation avec un taux de 41.93%, l'étape de préparation et celle du Stockage avec un taux de 12.90%. Ceci suscite impérativement :

- L'adoption de technique de Désinfection et de stérilisation qui reposent sur des normes bien définies tel que les normes ISO,
- L'instauration d'actions correctives à tous les niveaux défailants relevés s'étendant du stockage de la Matière première et biberons prés à l'emploi à l'organisation du travail.

III.B.3.2. Protocol de préparation de chimiothérapie dans un service d'Oncologie

Cette partie a pour objectif d'effectuer un suivi relatif à la préparation des médicaments pour chimiothérapie afin d'évaluer les risques de contamination microbiologique probable.

L'étape suivie pour la préparation des médicaments pour chimiothérapie au niveau d'un service d'oncologie se résume dans la figure n° III.B.6.



Fig n° III.B.6 Etapes générales de la réalisation d'une chimiothérapie

III.B.3.2.1 Stockage



Photo n° III.B.12 Lieu de stockage des médicaments de base pour la préparation d'une chimiothérapie

III.B.3.2.1.1. Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape du stockage: Chimiothérapie

Nous avons relevé un ensemble de points critiques de contamination microbienne probable relatifs à l'étape de stockage des médicaments de base pour la préparation d'une chimiothérapie

- * Lieu de stockage inapproprié : - non spécifié
 - Hygiène défailante
 - confinement non assuré

- * Matériels de réfrigération : - non spécifié
 - Hygiène défailante

Les points relevés sont présentés par le diagramme cause-effet n° III.B.6.

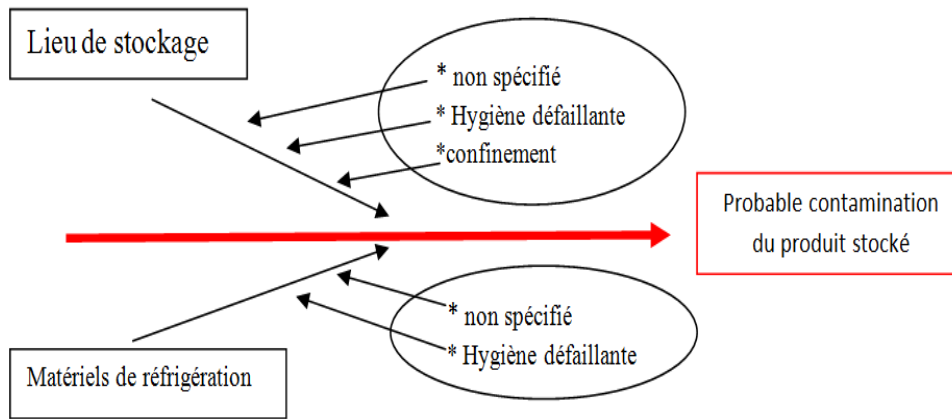


Diagramme cause-effet n° III.B.6 : Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape du stockage: Chimiothérapie

III.B.3.2.2. Préparation



Photo n°III.B.13 : Illustration de quelques conditions de préparation d'une chimiothérapie

* Surfaces de préparation : Hygiène défailante (salissures, poussière, poubelle (emplacement et état).

* Poste de sécurité microbologique (PSM) utilisé: PSM de type II ne permettant pas une protection efficace du produit manipulé qui dans ce cas peut être contaminé par l'air de la salle de préparation.

* Opérateur:- Hygiène défectueuse : de l'opérateur de préparation

- non usage du masque
- Gang déchirés
- Blouse ouverte
- Mauvais usage du PSM : préparation faite près du PSM et pas à l'intérieur
- absence de l'application des consignes d'entretien du PSM: non respect de la période du changement du filtre.

III.B.3.2.2.1. Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de Préparation d'une chimiothérapie

Les points relevés sont présentés par le diagramme cause-effet n°III.B.7.

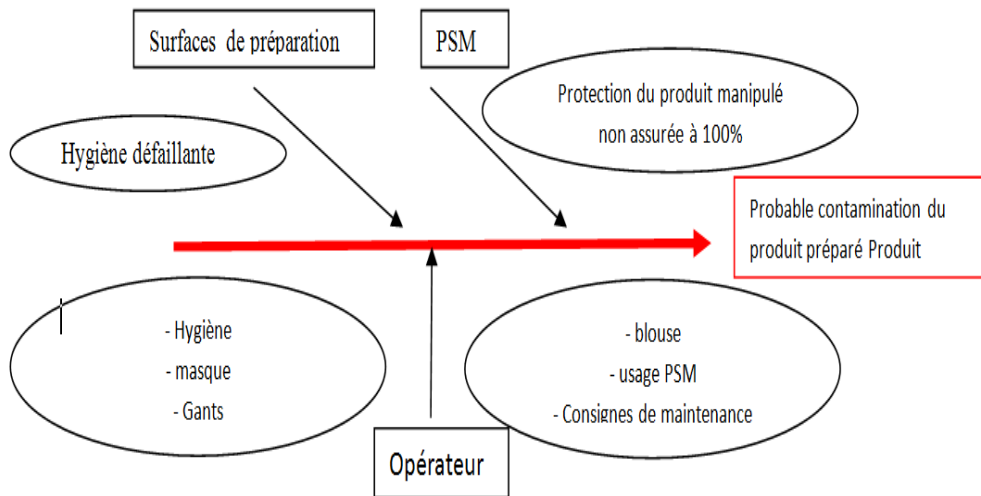


Diagramme cause-effet n°III.B.7 : Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape de Préparation d'une chimiothérapie

III.B.3.2 .3. Administration



Photo n° III.B.14 : Illustration de quelques conditions déficientes rencontrées lors de l'administration d'une chimiothérapie

- * Installation du cathéter: - Mauvaise désinfection du site d'installation du cathéter
 - Installation sans précaution d'asepsie lors de difficultés de mise en place du cathéter tel que :
 - Dépôt du cathéter sur le chariot sans protection avant de tenter son Installation une seconde fois.
 - Dépôt du coton utilisé pour la désinfection de la peau sur la surface avant de l'utiliser ou le réutiliser.

- * Hygiène :
 - défectueuse de l'opérateur
 - Hygiène défectueuse du lieu d'administration de la chimiothérapie
- : Taches de salissures visibles sur les surfaces et les murs.
- Matériels de transport des médicaments pour chimiothérapie inapproprié n'assurent pas la protection contre la contamination.

III.B.3.2.3.1. Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape d'administration d'une chimiothérapie

Les points relevés sont présentés par le diagramme cause-effet n° III.B.8.

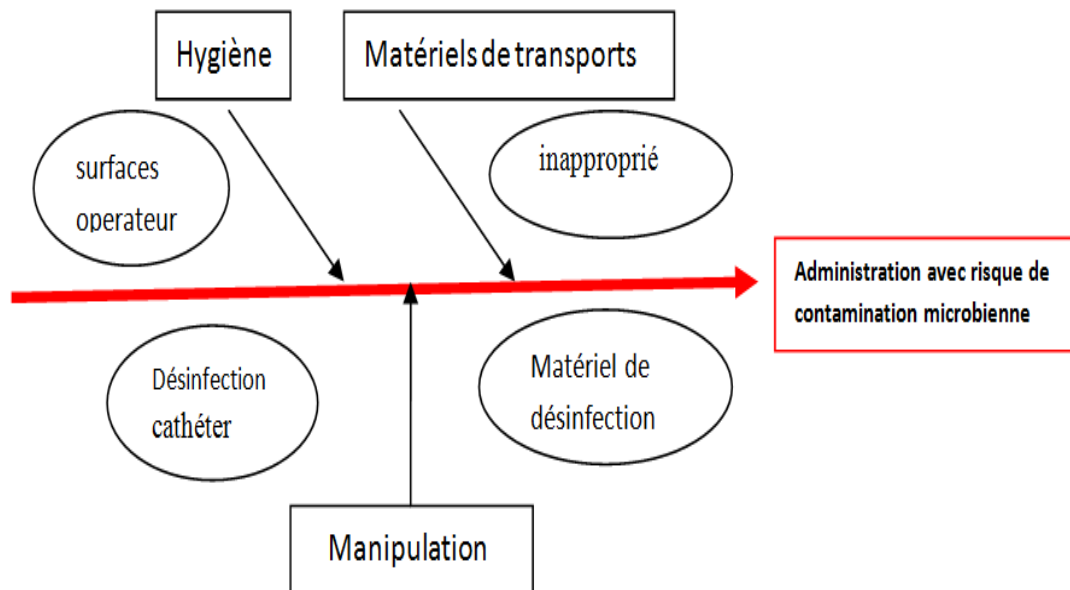


Diagramme cause-effet n° III.B.8 : Points critiques de contamination microbienne relevés lors de l'étape d'administration d'une chimiothérapie

III.B.3.2.4. Taux de risque de contamination microbienne probable % lors de la préparation de médicaments pour chimiothérapie

Cette étude présente les taux de contamination microbienne probable des points critiques relevés au niveau de chaque étape suivie pour la préparation des médicaments pour chimiothérapie.

Les points critiques de contamination et leur taux de contamination microbienne probable sont répertoriés dans le tableau n°III.B.27.

Tableau n°III.B.27 : Taux de risque de contamination microbienne probable % des points critiques de contamination relevé lors de la préparation de médicament pour chimiothérapie

points critique de contamination		Taux de risque de contamination microbienne probable %
Stockage	Lieu	15
	Matériels	10
Préparation	Surfaces	05
	PSM	05
	Operateur	30
Administration	Hygiène	10
	Matériels	10
	Manipulation	15

Nous constatons que le taux de points critiques de contamination microbienne probable le plus élevé fut relevé au niveau de l'étape de préparation notamment le volet relatif à l'opérateur avec une valeur de 30% suivi par l'étape de l'administration de la médication de chimiothérapie volet manipulateur et l'étape de stockage volet lieu avec un taux de 15%.

Nous avons relevé un ensemble d'autres points critiques de contamination microbienne avec des taux relativement rapprochés et inférieurs aux précédents.

Les résultats obtenus imposent une formation spécialisée pour l'opérateur ainsi que l'instauration d'actions correctives relatives à tous les niveaux défectueux relevés.

III.B.3.3. Protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de Néonatalogie

III.B.3.3.1. Etapes suivies pour la réalisation du Protocole de désinfection des incubateurs

Nous avons réalisé le suivi du protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de néonatalogie unité de l'hôpital mère-enfant Mohammed Boudiaf dont les étapes se présentent comme suit:

Matériels utilisé

- Eau de javel commerciale,
- Une tasse pour usage domestique en matière plastique,
- Une compresse stérile.

Mode opératoire suivi

1- La literie utilisée par le malade sortant est enlevée puis acheminée à la lingerie de l'hôpital,

2- Les parties démontables tel que couvercle, et parties internes de l'habitacle et le matelas seront déposés directement par terre adossés à un mur ou à une porte de la même pièce

3- Désinfection de la partie interne de l'habitacle

Déversement du désinfectant utilisé directement avant même d'enlever les salissures grossières présentes tel que coton et sparadrap utilisés précédemment. Ces derniers seront enlevés lors de la désinfection.

Donc, on constate que l'étape de nettoyage avant la désinfection n'est pas réalisée. On rappelle que l'étape du nettoyage des résidus grossiers est indispensable avant l'usage du désinfectant afin de réaliser une bonne désinfection.

Les salissures grossières sont jetées soit par terre, soit directement dans le récipient utilisé pour tremper la compresse utilisée pour désinfecter.

4 - Désinfection des parties démontables

Toutes les parties démontables sont désinfectées avec des compresses propres non stériles, qui seront trempées dans l'unique solution javellisée préparée au début du protocole de désinfection. Les parties suivantes:

- Couvercle en verre,
- Base de l'habitacle.

Sont désinfectées par terre puis adossées à un mur en fin de désinfection avant d'être réinstallées après séchage à l'air libre de la salle.

- Le matelas est directement essuyé et séché de la même manière puis directement réinstallé dans l'habitacle de l'incubateur.

- Les ventouses enlevées des côtés tête et pied de l'habitacle seront trempées pendant deux à trois minutes dans la seule et unique solution javellisée et utilisées pour tremper les compresses de désinfection, puis essuyer directement avec une gaze sèche propre non stérile et replacées dans leurs points d'insertion sur les côtés en verre de l'habitacle.

5 - Désinfection des parties non démontables

- Quatre côtés de l'habitacle en verre,

Les parties internes et externes des côtés en verre de l'habitacle sont désinfectés avec une compresse trempée dans l'unique solution javellisée de départ.

REMARQUE:

On a constaté que la solution javellisée et préparée au départ dans un récipient en plastique.

La solution javellisée et préparée au départ est l'unique solution utilisée pour tremper les compresses qui servent à la désinfection de l'ensemble des constituants fixes et démontables de l'incubateur.

Les compresses qui servent à la désinfection ne sont pas changées après désinfection de chaque partie à part mais après apparition de salissures.

Le récipient en plastique est placé à l'intérieur de l'habitacle de l'incubateur pendant le protocole de désinfection.

L'infirmière opératrice de la désinfection porte des bijoux pendants mis en contact des différentes surfaces avant et après désinfection.

L'ordre chronologique du protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de néonatalogie est illustré dans le tableau n° III.B.27 Illustration du protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de Néonatalogie.

Tableau n°III.B.28 : Illustration du protocole de désinfection des incubateurs pour prématurés en service de Néonatalogie





Etapes suivies	Illustrations
<p>Matériels utilisés pour la désinfection</p> <p>*1 Eau de javel commercial, 2 un récipient pour usage domestique en matière plastique et 3 une compresse propre non stérile.</p>	
<p>*Déversement du désinfectant utilisé directement avant même d'enlever les salissures grossières présentes tel que coton et sparadrap utilisés précédemment, ces derniers seront enlevés lors de la désinfection.</p>	
<p>Les salissures grossières seront jetées soit par terre soit directement dans le récipient utilisé pour tromper la compresse utilisée pour désinfecter tout les compartiments de l'incubateur.</p>	
<p>Les parties démontables tel que couvercle, et parties internes de l'habitacle et le matelas seront déposés directement par terre adossés à un mur ou à une porte de la même pièce</p>	

Tableau n°III.B.28 (Suite)

Les parties démontables sont ensuite désinfectées avec une compresse trempée dans la même solution préalablement utilisée pour nettoyer les parties non démontables puis séchées avec une compresse propre non stérile sèche puis déposées par terre adossées à un mur.



Le matelas est enlevé puis déposé par terre adossé à un mur en attendant d'être à nouveau essuyé pour être désinfecté avec une compresse qui sera trempée dans l'unique solution qui sert pour la désinfection puis remis directement au sein de l'habitacle en fin de désinfection.






Désinfection des parties internes non démontables



Désinfection des parties externes non démontables



Tableau n°III.B.28 (Suite)

<p>l'infirmière qui désinfecte porte des bijoux qui sont pendants.</p>	
<p>Démontage de la partie démontable en plastic du point d'ouverture de l'hublot Et trempage direct de cette dernière pendant deux à trois minutes dans l'unique solution javellisée utilisée pour tromper les compresses qui servent à la désinfection.</p>	
<p>Simple essuyage de la partie démontable en caoutchouc de l'hublot avec une compresse propre et sèche puis remise à l'endroit initiale.</p>	
<p>Fin de la désinfection</p>	<p>Toutes les parties démontables sont remis à leur place</p>

Nous avons relevé les points critiques de contamination suivants :

- **Lieu** de désinfection: inapproprié,
- **Protocol** de désinfection **non normalisé**,
- L'usage de **matériel non adéquat** pour la stérilisation avec défaut d'hygiène visible,
- L'usage de **désinfectant non maîtrisé et non approprié** à la désinfection des incubateurs pour prématurés,
- La **non** réalisation d'un **nettoyage** des salissures grossières **avant** l'étape de la **désinfection**,

- Les **salissures grossières** sont collectées et jetée, soit dans le **réceptif** qui sert à tromper la compresse de **désinfection** ou **parterre** juste à côté de l'incubateur en désinfection,
- Le port de **bijoux** (Montre et Bracelet pendant) qui sont inévitablement en contact avec les parties désinfectées.
- Dépôt des parties démontables **parterre** adossés à un mur : Matelas, partie de base et couvercle l'habitacle.
- Désinfection des parties démontables parterre avec un séchage effectué parterre adossé à un mur.

Le Diagramme cause-effet n° III.B.9 présente les points critiques de contamination microbienne probable:

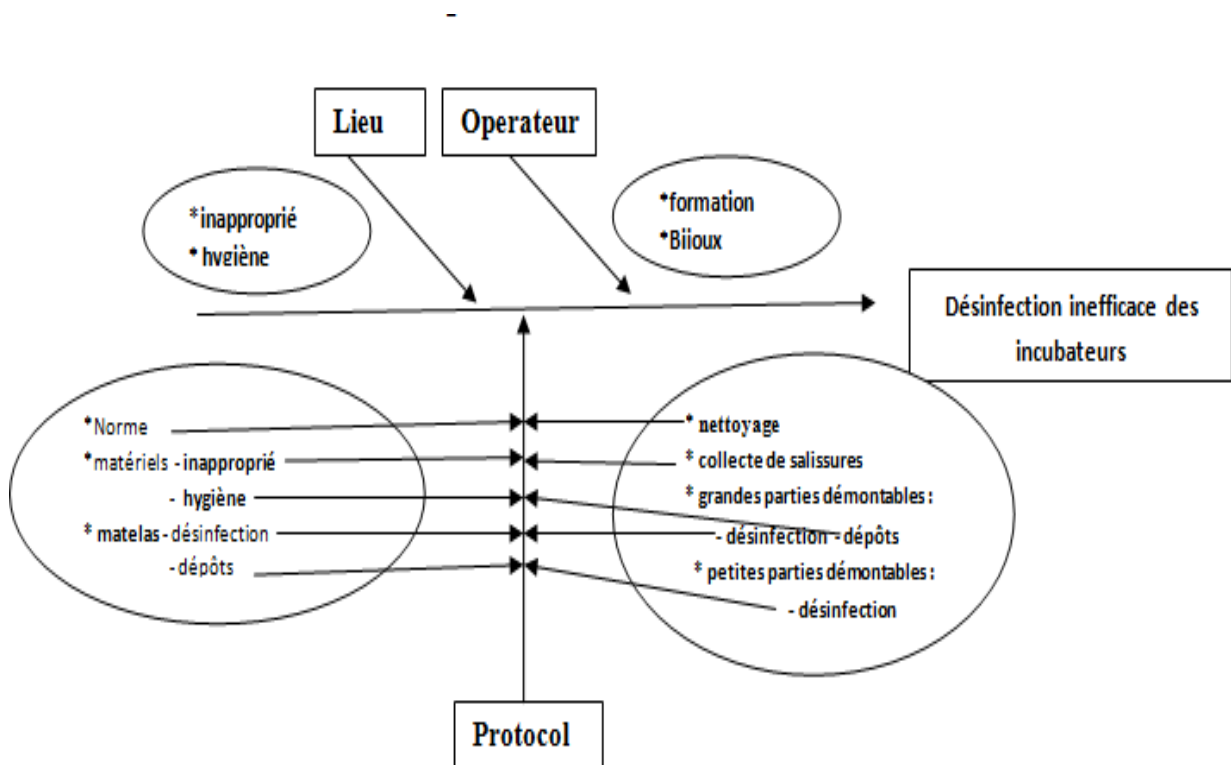


Diagramme cause-effet n° III.B.9 : des points critiques de contamination relevés lors de la désinfection des incubateurs pour prématuré

III.B.3.3.2. Taux de risque de contamination microbienne probable % des points critiques de contamination relevés lors de la désinfection des incubateurs pour prématuré

Nous avons évalué le taux de risque de contamination microbienne probable % à partir des points critiques de contamination relevés lors de la désinfection des incubateurs pour prématuré, que nous exposons dans le tableau n°III.B.29.

Tableau n°III.B.29 : Taux de risque de contamination microbienne probable % des points critiques de contamination relevé lors de la désinfection des incubateurs pour prématuré.

Points critiques de contamination microbienne			Taux du risque de contamination probable %
Lieu	14.28	Inapproprié	7.14
		Hygiène	7.14
Operateur	14.28	Formation	7.14
		Bijoux	7.14
Protocol	71.42	Norme	7.14
		parties démontables	35.71
		Nettoyage	7.14
		Collecte salissures	7.14
		Matériels utilisés	14,28

D'après les résultats relatifs aux points critiques de contamination microbienne probable relevés, on constate que **l'absence de protocole normalisé** augmente considérablement le risque de contamination, sans omettre de citer la nécessité de faire bénéficier le personnel de **formation professionnelle** et de fournir le **matériels et réactifs appropriés** pour le bon déroulement de la désinfection des incubateurs pour prématurés tel que **salle appropriée** équipée de **surfaces** de nettoyage, de désinfection et de dépôts pour séchage des parties démontables qui ont présentés le taux de risque de contamination microbienne le plus élevé.

III.B.3.4. Résultats du suivi du traitement des déchets en milieu hospitalier

Cette partie d'étude a pour but de suivre les étapes du Protocole adopté par les structures investiguées afin de traiter les déchets générés au niveau de ces dernières. Les structures hospitalières concernées par cette étude sont réparties dans le tableau n° III.B.30.

Tableau n° III.B.30 : Structures hospitalières ayant bénéficié d'un suivi de la gestion des déchets

Wilaya	Hôpital
Adrar	Ibn Sinna
Bechar	Tourabi Boudjemaa
	Mohammed Boudiaf
Tindouf	Si El houasse

III.B.3.4.1. Etapes suivies pour la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées

Les étapes suivies pour la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées sont répertoriées dans le tableau n°III.B.31.

Tableau n°III.B.31 : Etapes suivies pour la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées

Etapes	Localisation	Spécification	Réponses
Plan de gestion			Inexistant
TRI et Collecte	Au niveau du service	Personnes responsables	- non définies Femme de ménage et personnel paramédical confondus
		Conditionnement	Non respecté à 100%***
	Hors service à l'hôpital	Personnes responsables	- Femmes de ménage - Agents
Stockage	Au niveau du service	Personne responsable	Femme de ménage
		Conditionnement	-Sachets d'ordures colorés
		Endroit	-Poubelles non appropriées: Ouverture avec la main* - Conteneurs pour produits infectieux**
		Durée	- Selon le service de 2 à 12H-24h***** - A chaque fois que la poubelle est pleine* - Pour certains services la poubelle n'est pas vidée le weekend
	Hors service à l'hôpital	Personne responsable	- Femme de ménage - Agent
		Entreposage	- Conteneurs* -Grandes* Poubelles - Grand sacs en plastiques*
		Endroit	A l'air libre*
		Durée	Non contrôlée* - Jusqu'-au passage du camion d'ordures. - jusqu'à la réalisation de l'incinération.

Tableau n°III.B.31 (Suite)

Etapes	Localisation	Spécification	Réponses
Transport	Personne responsable	Interne	-Femme de ménage -Agent
		Inter-hospitaliers	-Agent
		Extrahospitalier	- éboueurs de la commune
	Moyens de transport Spécifique Pour Déchets	Interne	-inexistant* - Chariot* -Brouette****
		Inter-hospitaliers	Ambulance*(ex: placentas) Camion d'ordures*
		Extrahospitalier	Camion d'ordure de la commune*
Traitement	Au niveau du service	Majorité des services	Aucun
		Cas particuliers Laboratoires D'analyses	-Incinérateur***** D'aiguille -récipients javellisés
	Hors service à l'hôpital	Déchets à risque 100%*	Incinération
	Extrahospitalier	Déchets non incinérés	Décharge publique
	Traitement des poubelles et conteneurs pour déchets		Désinfection rare, irrégulière et généralement inexistante.
Moyens de protection	Au niveau du service	Environnements	Non protégé* (sachets et poubelles ouvertes à plein temps et qui débordent parfois)*
		Tenus vestimentaire	Inappropriée (Femmes de ménage, personnel soignants, agents)*
		Vaccination	Vaccination incomplète effectuée pour le personnel titulaire seulement!*
	Hors service à l'hôpital	Environnements	Non protégé*
		Tenus vestimentaire	Inapproprié*
	Extrahospitalier	Environnements	Non protégé*
		Tenus vestimentaire	Inapproprié*

Tableau n°III.B.31 (Suite)

Etapes	Localisation	Spécification	Réponses
Recyclage	Interne	Inexistant	/
	Externe	Avec des structures à caractère pédagogique: Usage laboratoire	Flacons en verre pour produit de laboratoire ou pharmaceutiques**** (Risque de contamination si les flacons ne sont pas désinfectés: Cas rencontré)*
		Avec des commerçants privés dans le domaine de brocantes!*	Matériels hospitaliers Lits, tables, chariots, brancard, appareillage de laboratoire...*****
Médicaments périmés	Traitement	Au niveau du service	Simple collecte et acheminement vers la pharmacie centrale de l'hôpital
		Hors service à l'hôpital	Incinération
Matériels d'hôtellerie usés (Draps, couvertures, matelas...)	Traitement	Au niveau du service	Simple collecte et envoi à la lingerie
		Hors service à l'hôpital	Incinération
Eau usée	Traitement	Chimique	Inexistant*
		Physique	Inexistant*
	Acheminement direct		Canalisation publique*
<p style="text-align: center;">* Risque de contamination</p> <p style="text-align: center;">** Mauvais usage</p> <p style="text-align: center;">*** personnel mal formé ou absence de moyen de TRI</p> <p style="text-align: center;">**** Bechar</p> <p style="text-align: center;">***** Adrar</p>			





III.B.3.4.2. Ensemble de constatations relatives à la gestion des déchets au sein de structures hospitalières investiguées

Le tableau n°III.B.32 illustre un ensemble de constatations faites au sein de structures hospitalières investiguées:

Tableau n°III.B.32 : Illustration d'un ensemble de constatation relatives à la gestion des déchets au sein de structures hospitalières investiguées

<p>Nous avons remarqué que pour peu de structures l'opération de la collecte et tri à l'intérieur des services est relativement bien menée car les objets tranchants et piquants sont directement mis dans des conteneurs pour déchets infectieux.</p> <p>Pour certains services, il y a un laissé aller apparent malgré la disponibilité des moyens alors que pour d'autres, il s'agit plutôt de mauvais usage des moyens disponibles. 1- Remarquez les taches de sang sur le conteneur et par terre, 2- Un conteneur pour déchets dangereux ouvert, 3- Un déchet de même nature jeté dans des sachets de différentes couleurs.</p>	
<p>Rares sont les services au sein desquels les déchets subissent un traitement qui concerne généralement les aiguilles et seringues utilisées.</p>	
<p>- La durée pour vider les poubelles n'est pas contrôlée,</p> <p>- Pour certains services la poubelle n'est pas vidée le weekend.</p>	
<p>Le transport des déchets à l'intérieur de l'hôpital est effectué avec des moyens inadaptés et parfois rudimentaires, certains services utilisent les chariot du services pour transporter les déchets alors qu'ils sont utilisés pour d'autres tâches.</p>	

Tableau n°III.B.32 (Suite)

<p>Néanmoins pour ces mêmes structures à l'extérieur des services et à l'air libre le tri n'est pas respecté on constate un entassement de sachets de différentes couleurs dans un même endroit en attente d'un acheminées vers la décharge publique.</p>	
<p>Pour certaines structures, Les ambulances sont polyvalentes elles assurent le transport des malades, du linge sale et parfois même des résidus de fausses couches à partir de la maternité vers un autre hôpital ou se situ l'incinérateur.</p>	
<p>La protection des personnes qui gère les déchets n'est pas assurée : blouses, gants spéciale, botte.....</p>	
<p>L'unique traitement extra-services intra hospitalier des déchets dangereux est l'incinération.</p>	

Nous avons constaté une certaine similitude des étapes entreprises pour la gestion des déchets au niveau des structures hospitalières investiguées. Nous avons relevé l'existence d'une panoplie de points critiques de contamination microbienne et même chimique probable:

1: Un manque de moyens de gestion des déchets à tous les niveaux:

- **Indisponibilité continue** des sachets de différentes couleurs.

- **Insuffisance** en nombre des **conteneurs** pour déchets dangereux infectieux.

- **Inexistence** quasi totale de **l'appareillage de traitements** des déchets au niveau des services hospitaliers tels que les incinérateurs d'aiguille et les autoclaves.

- **Inexistence** quasi totale des moins de **protections** lors de la gestion des déchets: Gang spéciales, sur blouse, Bottes, masques...

- **Inexistence de moyens hermétiques** pour assurer le transport des déchets hospitaliers au sein de la structure hospitalière et à l'extérieur de l'hôpital de ce faite aucune **protection de l'environnement** n'est assurée.

2: **Manque** notable de **ressources humaines ayant une formation** relative à la prise en charge des déchets hospitaliers.

3: **Mauvais usage** des moyens disponibles.

4: **Inexistence** d'un **plan approprié** à la gestion des déchets hospitaliers au niveau de l'ensemble des structures hospitalières investiguées.

Propositions relatives à la gestion des déchets au sein des structures hospitalières investiguées

Nous proposons vivement l'instauration d'un plan de gestion des déchets hospitaliers. Ce dernier doit être bien défini afin d'assurer le bon fonctionnement de l'ensemble des étapes. Pour cela, il est impératif de créer au sein de chaque structure hospitalière un service responsable de la prise en charge du protocole de la gestion des déchets et cela à tous les niveaux:

* La distribution des sachets pour ordures spéciale,

* Poubelles et chariots de transports adéquats afin d'assurer la protection de l'environnement,

* Appareillage de désinfection des déchets pour banalisation au sein des services,

* Moyens de protection et de désinfection du personnel assurant la gestion des déchets,

* Moyens de transport adéquat inter-hospitaliers et extrahospitalier.

* Moyen de traitement intra-hospitalier plus performant et ayant moins d'inconvénients que l'incinération qui émet des fumées parfois ressenties par les malades hospitalisés lorsque l'emplacement de l'incinérateur n'est pas bien étudié.

* Désinfection régulière des poubelles et conteneurs pour déchets à l'intérieur et à l'extérieur des services hospitaliers.

Création de structures extrahospitalières chargées du traitement des déchets hospitaliers qui, **nous notons**, ne sont pas seulement générés à l'hôpital central, mais au niveau des cliniques privées, des laboratoires d'analyses privés, des polycliniques de proximité et qui ne subissent généralement pas de traitement avant d'être acheminés vers la décharge publique.

III.B.3.5. Résultat du suivi du protocole du traitement du linge en milieu hospitalier

Cette partie d'étude a pour but le suivi des étapes du circuit du linge en milieu hospitalier afin de relever les points critiques, de contamination microbienne probable.

Nous rappelons qu'on a noté une insuffisance notable concernant le recueil d'informations relatives au protocole du traitement du linge en milieu hospitalier, probablement lié au personnel interrogé non formé.

Pour ce fait, nous nous suffirons à la description des peu de réponses et des constatations faites auprès de trois hôpitaux investigués que nous présentons par le tableau n° III.B.33.

Tableau n° III.B.33 : Structures hospitalières concernées par le suivi du circuit du linge

Wilaya	Hôpital
Bechar	Tourabi Boudjema
	Mohammed Boudiaf
Adrar	Ibn Sinna

III.B.3.5.1. Les étapes de gestion du circuit du linge au sein des structures hospitalières investiguées

Les étapes de gestion du circuit du linge au sein des structures hospitalières investiguées sont présentées par le tableau suivant:

Tableau n°III.B.34 : Les étapes de gestions du circuit du linge au sein des structures hospitalières

Etapes suivies		Réponses collectées	
Magasin	Réception	Par le magasinier	
	Entreposage	Locaux de stockage	
	Distribution vers les services	Par le biais de chariots parfois polyvalents	
Services	Réception	Par le chef de service	
	Entreposage	- Locaux avec étagères parfois à usage polyvalent. - Linge utilisé Draps, lits, oreillers, couvertures, tenues vestimentaires médicales, paramédicales et pour femmes de ménage.	
	Personne responsable de la gestion du linge	Blocs opératoire	- Personnel paramédicale du service pour l'autoclavage des champs opératoires.
		Autres services	Femmes de ménage
	Séjour Du linge sale dans le service		- Pas de temps spécial pour la majorité des services : après intervention chirurgicale pour le bloc, généralement tout les matins et après la sortie des malades.
	La réfection des lits		- Femmes de ménage: Parfois le linge sale est déposé par terre.
	Lieu du stockage du linge sale dans le service		- Inexistence de local spécifique à cet effet.

Tableau n°III.B.34 (Suite)

Etapes suivies		Réponses collectées	
Transport	Personne chargé	Femmes de ménage	
	Moyens de transport	<ul style="list-style-type: none"> - Chariots du service qui est utilisé pour d'autres tâches. - Sachets en plastique - parfois le linge sale est enroulé dans un grand drap qui sera porté par la main. - lors de notre enquête nous avons été surpris de rencontrer dans le couloir de l'une des structures hospitalières investiguées, une femme de ménage trainant par terre, de la main au sol, un grand drap plein de linge sale taché de sang et de liquides biologiques de malades de service maternité. - Pour certaines structures, il ya transport du linge vers la lingerie avec l'ambulance d'une structure à une autre. - Certaines personnes notamment les paramédicaux font eux mêmes parvenir leurs blouses ou tenues vestimentaires à la lingerie. - Mesures de sécurité du transport inexistantes pour le personnel et l'environnement hospitalier. 	
	Destination	Lingerie de la même structure hospitalière ou rarement située dans une autre structure hospitalière.	
Lingerie	Linge sale	Entreposage	<ul style="list-style-type: none"> - chariot - Grandes corbeilles - parterre
		Traitement	<ul style="list-style-type: none"> - Généralement Tri du linge infecté et non infecté - lavage à différentes températures 60 et 80 °C Avec usage de détergents et eau de javel et odorisant pour linge. On n'a pas réussi à avoir un Protocole de désinfection et de lavage bien défini - séchage par le biais de machine ou à l'air libre parfois pour certaines structure dans une cours dont le parterre n'est pas cimenté.
		- Tri - Lavage -Séchage	
	Linge propre	Entreposage au niveau de la lingerie	- étagère au niveau de la lingerie avec parfois présence de poussière visible.
		Récupération	Femme de ménage
	Transport		<ul style="list-style-type: none"> - Chariot du service le même que celui utilisé pour transporter le linge sale - sachets en plastique
	Entreposage service		- Etagère du stock généralement dans la même pièce de stock du linge neuf.
	Linges usés ou déchirés		- Destinés à l'incinération après passage par la lingerie pour être désinfecté

III.B.3.5.2 Ensemble de constatations relatives à la gestion du circuit du linge au sein des structures hospitalières investiguées

Le suivi que nous avons effectué se rapportant au circuit du linge a abouti aux constatations suivantes:

- 1-** Le **personnel** responsable du linge est **non formé** ou avertis sur les risques de contamination microbienne lors de la manipulation du linge sale ou propre.
- 2-** Les **mêmes chariots** de services sont utilisés pour le transport du **linge sale** ainsi que celui du **linge propre**.
- 3-** Le **transport** du **linge** au sein des structures hospitalières investiguées est effectué à l'aide de chariots destinés à la réalisation d'autres tâches tel que le transport des **médicaments** de la pharmacie centrale.
- 4-** **Protocole** de la **désinfection** et du **lavage** du linge sale est **non défini**.
- 5-** Le **séchage** du linge lavé doit être effectué à l'abri de toute éventuelle contamination microbienne. Nous avons constaté que pour certaines structures le séchage est réalisé à **l'air libre**, parfois pour certaines structures dans une cour dont le parterre n'est pas cimenté.
- 6-** Le **stockage** du linge ne doit pas être effectué sur des **étagères empoussiérées** et des **locaux non confinés**, comme il faut éviter **une manipulation excessive** de ce dernier et surtout **éviter son contact avec les blouses** contaminées du personnel.
- 7-** Il y a un **croisement** du linge sale et linge propre au niveau de la lingerie: même **accès** d'entrée et de sortie, les mêmes **personnes** manipulent le linge sale et propre, **dépôt** du linge sale dans le trajet du linge propre au niveau de la lingerie ainsi qu'un transport commun.

Afin de limiter les points critiques de contamination microbienne probable, nous recommandons de remédier aux constatations citées ci-dessus.

Nous rappelons qu'en milieu hospitalier le linge est responsable d'un taux de 17 % des cas d'infections nosocomiales. Ce dernier représente des risques pour les malades hospitalisés, le personnel soignant et le personnel de la lingerie [145].

III.B.4. Actions correctives proposées

Nous relatons dans ce qui suit des actions correctives qui sont proposées suite à des situations, de contamination microbiologique particulières rencontrées dans des structures hospitalières du sud-ouest Algérien

III.B.4.1. Cas d'une structure hospitalière et une désinfection terminale inefficace sur la flore bactérienne

A partir des résultats obtenus pour l'étude de la qualité microbiologique d'une structure hospitalière après désinfection terminale (voir 1.2.3.3 qualité microbiologique d'une structure hospitalière après désinfection terminale). On conclut que la désinfection effectuée a un effet notable sur la flore fongique de l'environnement désinfecté par contre s'est avérée non efficace sur la flore bactérienne traitée, sur cela que nous proposons les actions correctives n°III.B.35.

Tableau n°III.B.35 Actions correctives proposées : Cas d'une structure hospitalière et une désinfection terminale inefficace sur la flore bactérienne

Action analytique	Control du désinfectant	Control du produit utilisé pour la désinfection : Date de péremption....
		Control de la nature du désinfectant : Spectre d'activité
		Control des conditions de stockage
	Control du Protocol de désinfection	Control du temps d'exposition au produit de désinfection
		Control de la concentration du produit de désinfection utilisé par volume d'air régnant au niveau des salles à désinfecter.
	Control de la manipulation	Ajuster la préparation des désinfectants si elle existe
		Assurer le bon usage du matériel de désinfection par le manipulateur
		Les conditions opératoires doivent répondre aux normes exigées.
	Actions correctives proposées	
Cas	Conduite à tenir	
Si une anomalie est signalée ou détectée	Correction immédiate du dysfonctionnement à l'origine de la désinfection inadéquate.	
Si aucune anomalie n'est signalée ou détectée	Penser à utiliser un autre désinfectant plus efficace.	
	Penser à adopter un autre Protocol plus performant.	
Instauration des actions correctives dans les plus brefs délais		
Control immédiat de l'efficacité des actions correctives instaurées par de nouveau prélèvements environnementaux qui doivent étre standardisés.		

III.B.4.2 Cas d'un service de réanimation et de souches de *Candida albicans*

Cette situation est exposée par le tableau n° III.B.36, elle a été soulevée après une étude statistique effectuée pour le service de réanimation qui a révélé la mise en évidence de nombreux cas d'infection urogénitale causée par un même agent causal qui est le *Candida albicans*.

Nous avons immédiatement mené une enquête basée sur l'observation et suivi des actes médicaux et paramédicaux, sachant que les malades de ce service doivent bénéficier d'une assistance médicale et paramédicale intensive car ils sont dans un état comateux.

Tableau n° III.B.36: Action correctives: Cas d'un service de réanimation et de souches de *Candida albicans*

Service de réanimation et souches de <i>Candida albicans</i>		
Malades	Etat comateux	
	Nécessitant assistance	
	Immunodéficience à cause de la médication administrée.	
Action analytique		
Relatives au cite d'infections uro-génitale	Personnel soignant	Résultats
Effectuation de la toilette intime et changement des sondes urinaires,	Le port d'un unique gant pour assurer la toilette de plusieurs malades	Contamination manu portée croisée d'un malade à un autre sachant que l'agent causal est un opportuniste qui s'installe préférentiellement chez les immunodéprimés.
Actions correctives proposées		
1. L'usage de gant neufs pour chaque malade à part		
2. Conseiller le lavage des mains effectuer pour le passage d'un malade à un autre même s'il y a port et changement des gants.		

III.B.4.3. Cas du personnel exerçant au sein de service à air confiné concomitants à des travaux de réfection

Cette situation est exposée par le tableau n° III.B.37, elle a été suscitée par un ensemble de personnes exerçantes au sein de service dont une partie est en réfection tel que faux plafond et qui, selon eux, souffrent de trouble respiratoires difficilement curables tel que toux sèche persistante. Nous avons mené une enquête auprès du personnel exerçant au sein de la structure hospitalière concernée qui a révélé ce qui suit:

Tableau n° III.B.37 : Actions correctives : Cas du personnel exerçant au sein de service à air confiné concomitants à des travaux de réfection

Action Analytique		
Travaux de réfection	Résultats de l'enquête menée	Cause de l'enquête
Fréquence	Relativement élevée pour certains services de la structure.	Nous avons été sollicités à contrôler la qualité microbiologique de l'air
Conditions de réalisation	Périmètre des travaux effectués non isolé.	Régnant dans une unité concomitante à un service en réfection.
	Poussières émises non contrôlé par la mise en place de dispositifs permettant l'isolement et le confinement du périmètre des travaux de réfection.	L'unité en question avait la caractéristique d'air confiné continuellement avec des fenêtres jamais ouvertes et sans systèmes d'aération artificielle.
	Travaux de réfection effectués au sein de lieux toujours en service tel que laboratoire, surtout lorsqu'il s'agit de changement de faux plafond qu'il faut rappeler peuvent être à l'origine d'émission de poussières chargées de souches potentiellement pathogènes telque <i>Aspergillus</i> . Personnellement et conscients du danger nous nous sommes présenté au laboratoire qu'après la fin des travaux de réfections.	La personne de contact présentait des troubles respiratoires surtout une toux sèches et persistante et incurable selon ses propos. Les résultats ont mis en évidence un nombre d'UFC dépassant largement les limites recommandées de contamination microbiologique interprété par un niveau d'Action selon la norme ISO 14644-1 adoptée pour la réalisation et l'interprétation de nos résultats. Notamment pour la flore fongique, ceci nous à amené à mener une enquête dont les résultats ont incriminé d'une part les travaux de réfection du service concomitant et d'autre part l'air confiné en permanence de l'unité en question, nous avons immédiatement conseillée l'aération régulière de cette unité constamment confinée dont l'air est trop chargé en polluant biologiques et probablement polluant inertes résultant des travaux de réfection concomitants..
Personnel exerçant dans les services en réfection ou dans des services concomitants aux travaux de réfection.	Manifestation de troubles respiratoires tels que toux sèches et râles avec un nombre inhabituel de cas.	

Tableau n° III.B.37 (Suite)

Actions correctives proposées
1. La réalisation des travaux de réfections au sein de structure hospitalière dans une zone isolée par l'installation de dispositifs spécifiques et performants d'isolement et de confinement appropriés aux travaux réalisés.
2. Les travaux de réfection ne doivent absolument pas être réalisés en présence d'un personnel qui exerce parallèlement tel que la situation que nous avons rencontrée au niveau du laboratoire de la structure ou nous envisagions analyser nos prélèvements environnementaux.
3. Réduction maximale de la fréquence des travaux de réfection.
4. L'usage de faux plafonds dans les structures hospitalières doit être proscrit car ces derniers peuvent être à l'origine de contamination massive par les poussières chargées en microorganismes pathogènes qui y sont emprisonnés puis libérées au moment des travaux de réfection non contrôlés.
5. Les services concomitants doivent bénéficier d'une aération supplémentaire à l'habituel s'il n'y a pas de système d'aération artificielle et si c'est le cas ce système doit être réglé afin de traiter le maximum de volume d'air par unité.
6. rechercher les causes à l'origine des manifestations cliniques tel que toux persistante ...etc. Afin de mettre en évidence le ou les agents responsable(s).

III.B.4.4. Cas d'un service de néonatalogie et d'une flore microbienne prélevée à partir de l'air humidifié des incubateurs pour prématurés

Cette situation est exposée par le tableau n° III.B.38, elle a été rencontrée lors de prélèvements environnementaux effectués auprès des incubateurs pour prématurés dans un service de néonatalogie afin d'en connaître la qualité microbiologique. Les prélèvements effectués étaient ceux des surfaces et ceux de l'air sec et l'air humidifié, les résultats trouvés ont révélé des nombres d'UFC relativement supérieurs pour les prélèvements de l'air humidifié par rapport à ceux montrés par les prélèvements de l'air sec..

Ce qui nous a amené à approfondir notre enquête afin de connaître l'origine de cette contamination supplémentaire et d'établir des actions correctives que nous avons

recommandé aux responsables du service concerné car parmi la flore mise en évidence existe une souche pouvant provoquer de nombreuses pathologies nosocomiales tels que troubles respiratoires [120,130] avec un taux de mortalité de 59% [123] *Pseudomonas maltophilia* est aussi responsable de septicémies [124,127], avec un taux de mortalité de 33%, d'endocardite [128 - 130] infection urinaire [131, 132].

Tableau n°III.B.38: Actions correctives : Cas d'un service de néonatalogie et d'une flore microbienne prélevée à partir de l'air humidifié des incubateurs pour prématurés

Incubateurs pour prématurés	Objectifs	Résultats
de surfaces internes Prélèvements	Etudier la qualité microbiologique de l'environnement des prématurés	Nombre d'UFC obtenu pour les prélèvements d'air humidifié supérieur à ceux présentés par les prélèvements d'air sec
Prélèvement de l'air sec et humidifié		
Interprétation des résultats		
Présence d'une source probable de contamination microbiologique de l'air ambiant des incubateurs investigués.		
Actions analytique		
Rechercher la source de la contamination		Etablir une corrélation entre le facteur humidité et la contamination.
Exploration de la qualité microbiologique de l'eau des humidificateurs supposée être stérile remplis en cas de besoins.		Etude de la nature de la flore microbienne présente.
Analyses bactériologiques	Présence de flore bactérienne	constituée de souches pouvant provoquer de nombreuses pathologies nosocomiales telque troubles respiratoires telleque <i>Pseudomonas maltophilia</i> .
Analyses mycologiques	Présence de flore fongique	

Tableau n°III.B.38 (Suite)

Enquête sur les causes de mortalité néonatal pour l'année en cours*		
Causes de mortalité néonatale	Taux de mortalité %	Observation
Détresse respiratoire	Entre 37,5 - 75	La détresse respiratoire est notée pendant tous les mois de l'année avec à chaque fois le taux de mortalité le plus élevé
Infection néonatale	Entre 7,69 - 40	L'infection néonatale est noté pour la plus part des mois de l'année
Souffrance Néonatale	Entre 10 - 44,44	La souffrance néonatale est noté pour la plus part des mois de l'année
Asphyxie prénatale	25 et 28,57	L'AP a été observée seulement le mois de septembre et celui de décembre.
Etablir une probable corrélation entre la contamination de l'eau des humidificateurs, celle de l'air humidifié et les taux de mortalités présentés durant de l'année en cours.		
Actions correctives proposées		
Nous avons prévenu les responsables du service concerné qui ont immédiatement remplacés les humidificateurs par des flacons d'eau stérile jetables.		

III.B.4.5. Cas du bloc opératoire pour ORL et infection inévitable des plaies des malades opérés

Cette situation est exposée par le tableau n° III.B.39, elle a été suscitée par une demande de la part du chirurgien auprès du laboratoire de bactériologie et parasitologie afin de rechercher d'après le chirurgien l'origine des infections répétées des malades opérés au niveau du bloc pour ORL.

Effectivement, une investigation a été faite au niveau de ce bloc où des prélèvements de surfaces ont été élaborés (Table d'opération, chariot, champs opératoires, instruments chirurgicaux, chariot de la salle du bloc), un échantillon du produit de désinfection préopératoire de la localisation de la plaie, fut prélevé.

Les résultats trouvés et actions correctives proposées sont regroupés dans le tableau n°III.B.39.

Tableau n°III.B.39 : Cas du Bloc opératoire pour ORL et infection inévitable des plaies des malades opérés

Action analytique	
Analyse de la qualité microbiologique	Interprétation des résultats
Site de prélèvement	Résultat
Table d'opération	Stérile
Champs opératoires	Stériles
Instruments chirurgicaux	Stériles
Chariot de la salle du bloc	Stériles
Produit de désinfection de la peau du site d'opération avant incision.	Contaminé
Actions correctives proposées	
Control microbiologique du lot de provenance du produit de désinfection contaminé.	
Résultats	Démarche à suivre
Stérile	Elimination seulement du ou des flacon(s) contaminé(s) et utilisation d'autres flacons stériles
Contamination	Elimination totale du lot contaminé.

Les actions correctives établies et proposées sont le résultat d'une analyse préalable des situations rencontrées reposant sur une enquête menée auprès des structures ou services concernés ou à partir de constatations faites.

Les enquêtes étaient entamées suite à des résultats obtenus comme cela a été le cas pour l'hôpital Mohamed Yacoub et les incubateurs pour prématurés ou suite à une demande par le service à investiguer.

Nous avons noté que chaque situation nécessite d'être prise en charge selon le cas présenté après réflexion, analyse et enquête qui doit être minutieusement menée avec la coopération du personnel soignant et administratif qui est primordiale et qui fait défaut dans certains cas.

Nous avons été privé d'accès à certains services. Certaines personnes se sont abstenues de répondre à nos questions, parfois leurs réponses étaient trop vagues. Dans certains services, on nous a demandé de présenter l'autorisation signée par le directeur, néanmoins, nous avons noté une certaine coopération de la part du personnel médicale et paramédicale.

Il est à noter que certaines structures tel que l'ancienne structure hospitalière "hôpital civil de Bechar" à bénéficier de l'installation d'un comité d'hygiène multidisciplinaire constitué d'un chirurgien, un biologiste, un paramédical, administrateur, responsable de la désinfection terminale qui est resté actif pendant deux années consécutives [1998 -1999] est par la suite devenu inactif.

L'installation ou la réinstallation du comité d'hygiène hospitalière, multidisciplinaire, réellement actif est impérative afin de structurer de manière réglementaire un suivi régulier de l'état hygiène générale des structures hospitalières de notre pays.

L'établissement d'actions correctives relatives aux situations de défaut d'hygiène pouvant constituer un risque potentiel de contamination microbiologique constituée de germes nosocomiaux multi-résistants capables de persister dans l'environnement hospitalier et de provoquer des cas isolés ou épidémiques d'infections nosocomiales, pouvant être véhiculé par plusieurs mécanismes allant du simple contact malade - personnel soignant aux travaux de réfection des structures hospitalière dans des conditions non contrôlées.

Conclusion

L'ensemble des structures hospitalières investiguées présente des taux de niveaux cibles réduits avec des taux n'excédant pas les 20% pour la qualité microbiologique de l'air et 11,11% pour la qualité microbiologique des surfaces. Nous avons noté que les résultats obtenus pour une structures hospitalière ayant bénéficié d'une désinfection terminale, les niveau cible atteints pour les prélèvements mycologiques étaient nettement supérieurs à ceux obtenus pour les prélèvements bactériologiques avec des taux respectifs allant jusqu'à 100% et 12,5%.

Les résultats trouvés informent sur l'état d'hygiène régnante au sein des services des structures investiguées, les valeurs obtenues placent l'ensemble des structures en état d'action nécessitant l'instauration d'actions correctives telles que:

- La mise en place de système d'aération, évacuation des déchets dans les plus brefs délais,
- Les réfections des services doivent êtres réalisés sous control rigoureux car ces derniers sont à l'origine de contamination massive de poussières chargées de microorganismes potentiellement dangereux. On a noté lors de notre étude que le personnel exerçant dans des services en réfection présentaient des problèmes pulmonaires et des troubles respiratoires difficilement curables selon les commentaires des personnes ayant présentées ces troubles respiratoires.
- La formation professionnelle du personnel responsable d'hygiène hospitalière.
- La création d'un comité d'hygiène hospitalière constitué de médicaux, paramédicaux et agents d'hygiène, assurant l'instauration et surtout le maintient de l'hygiène au sein des structures hospitalières de manière permanente et non seulement pour des brefs délais après désinfection terminale, comme c'est le cas pour l'ensemble des structures investiguées.
- Le contrôle des circuits du Linge Propre/Sale, de préparation des denrées alimentaire, de préparation des biberons pour nourrissons et préparation de médication pour chimiothérapie,
- Le contrôle des procédés de désinfection de l'air, surface, appareils d'assistance médicale et matériels d'exploration et des soins en milieux hospitaliers.
- L'Hygiène des lieux de stockage en partant des locaux, étagères, armoires ou casiers, chambres froides, réfrigérateurs et tiroirs.

- La formation du personnel médical, paramédical, agents de sales et ceux de sécurité sur le plan hygiène, notamment en ce qui concerne le lavage des mains. On a remarqué que pour l'ensemble des structures les points de lavage des mains ne sont pas mis à disposition de manière suffisante pour le personnel exerçant. Le lavage des mains est un acte qui n'est pas réalisé automatiquement lors de passage d'un malade à un autre ni par le personnel médicale ni paramédicale en sachant que les infections manu portées représentent les 80% des infections contractées en milieux hospitaliers.

Les résultats obtenus évaluent le portage des souches de *S. aureus* et *Pseudomonas spp* par le personnel hospitalier prélevé, à des taux respectifs de 64,37% et 13.92% ayant exprimées des taux de résistance variables à l'ensemble des antibiotiques testés ormis l'ofloxacine (quinolone) qui s'est montré très actif sur la totalité des souches testées.

Le portage de souches potentiellement résistantes doit faire appel à un control rigoureux en matière d'hygiène hospitalière afin de limité leur retentissement négatif sur la biosécurité des patients hospitalisés qui se trouvent obligatoirement face à un danger potentiel de mort si des actions correctives ne sont pas immédiatement instaurées au sein de nos structures hospitalières qui sont actuellement en état d'alerte pour une grande part de leurs environnements qui restent à être explorés avec des outils de control plus performants.

CHAPITRE IV

EFFET DE QUELQUES ASTERACEAE SUR LES SOUCHES

NOSOCOMIALES

IV-A METHODOLOGIE ET MATERIELS

IV-B RESULTATS ET DISCUSSION

IV.A. METHODOLOGIE ET MATERIELS

Cette partie d'étude a pour objectif l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de plantes étudiées sur des souches nosocomiales. Cette évaluation est scindée en plusieurs volets qui se présentent comme suit:

- Evaluation de l'activité de l'ensemble des extraits étudiés sur les différents groupes bactériens et fongiques.
- Evaluation de l'effet des différents extraits de plantes sur des souches du genre *Staphylococcus*.
- Evaluation des CMI des extraits aqueux des plantes étudiées.
- Evaluation de l'activité des fractions pures issues des extraits aqueux des plantes étudiées.

Les plantes à étudier seront choisies à partir d'une enquête ethnobotanique se rapportant aux plantes utilisées pour remédier aux maladies infectieuses dans la région du sud-ouest de l'Algérie.

IV.A.1. Enquête ethnobotanique

Afin de bien mener notre enquête ethnobotanique, nous avons eu recours à un questionnaire de spécialité, que nous avons établi sur une base symptomatologique spécifique aux différentes pathologies bactériennes et fongiques répertoriées.

IV.A.1.1. Questionnaires établis

Afin de cerner l'effet antimicrobien en question, nous avons, pour chaque effet, sélectionné des questions portant sur des maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongiques connues et dont le diagnostic est généralement établi à un grand pourcentage à partir des symptômes apparents et évidents facilement reconnaissables par une large étendue de personnes questionnées.

Le questionnaire de spécialité établi fut adressé aux différentes catégories sociales afin de recueillir le maximum d'informations auprès des tradipraticiens, des herboristes et de personnes ayant régulièrement recours à la phytothérapie.

Le questionnaire de spécialité établi était accompagné par un questionnaire complémentaire préalablement établi par le laboratoire LPSO se rapportant au recueil d'informations sur le nom de la plante, la ou les parties utilisées ainsi que les formes d'utilisation.

Le questionnaire de spécialité établi : " Plantes médicinales et Maladies infectieuses Bactériennes et Mycosiques" figure en **annexe 6**.

IV.A.1.2. Matériel biologique végétal

Le Choix des plantes à investiguer est établi à partir des résultats obtenus de l'enquête ethnobotanique effectuée.

- Nous avons choisi cinq plantes de la famille des *Asteraceae* du sud-ouest algérien qui se présentent comme suit:

IV.A.1.2.1. *Bubonium graveolens*



Photo n° IV.A.1 : *Bubonium graveolens* (LPSO , 2014)

Régne: Plantae **Famille:** Asteraceae (compositae)

Genre: *Bubonium* **Espèce :** *Bubonium graveolens*

Autres dénominations : Nauplius graveolens Forssk, *Astericus graveolens*, *Bupthalmium graveolens* Forsk, *Bupthalmium stenophyllum* Link, *Astericus stenophyllum* Ku, *Odentospermium stenophyllum* Sch.Bip.

Nom arabe : Tafssa, robd.

Targui : Amayou, Hasnam.

Utilisation thérapeutique : Utilisé pour dégager les sinus, blennorragie, diarrhée, névralgie faciale, gastralgie.

Autre utilisations : poser sur de la braise des feuilles séchées cela produit une forte fumée très parfumée.

Composés chimiques :

La présence d'alcaloïdes, les coumarines, les tanins catéchiqes a été reportée par de nombreuses études, Quant aux saponines, ils sont présent chez les fleurs et absent chez les feuilles d'*Asteriscus graveolens subsp. Odorus* [146].

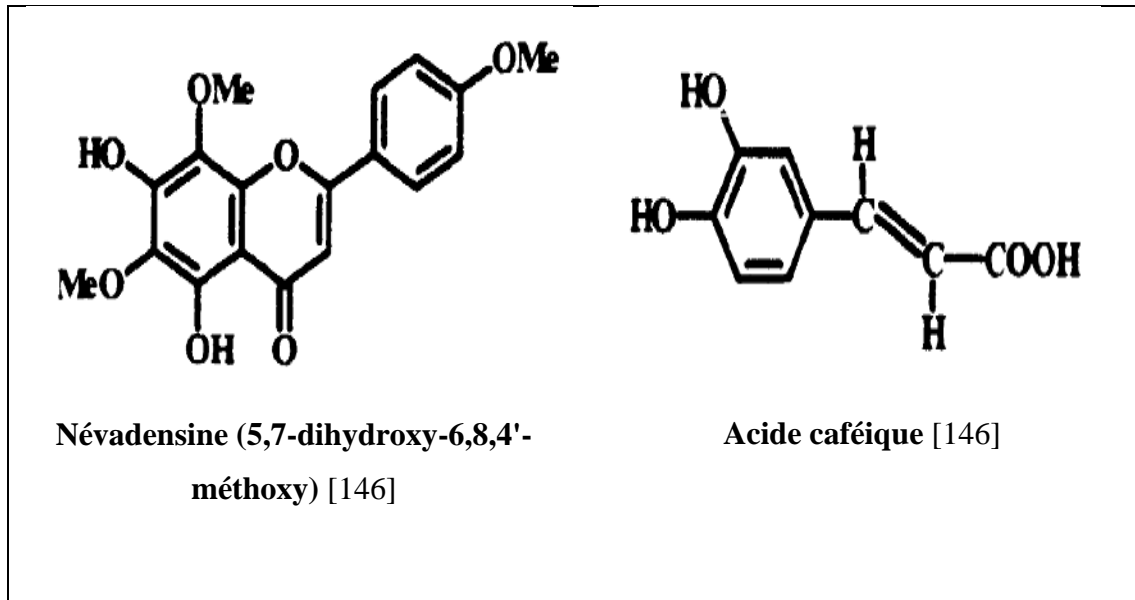


Fig n° IV.A.1 Structure chimiques de la Névadensine et de l'acide caféique

Toxicité : pas de toxicité rapportée par les nomades et les Touareg [147,148].

Activité antimicrobienne : à une activité antimicrobienne [149]

IV.A.1.2.2. *Cotula cinerea*



Photo n° IV.A.2 : *Cotula cinerea* (LPSO , 2014)

- **Régne:** Plantae
- **Famille:** Asteraceae
- **Genre:** *Cotula*
- **Espèce:** *Cotula cinerea* Del.

Autres dénominations : *Brocchia cinerea* Vis.

Nom arabe : guertoufa el beida, chewihia.

Targui : Takkélt

Nom Français : Camomille du Sahara

Utilisation thérapeutique : Pour les troubles gastro- intestinales, pour guérir les lithiases, douleurs dentaires, fièvre, dysménorrhée, contractions musculaire.

Autre utilisations : utilisée pour parfumer le thé ou en condiment [150].

Toxicité : Pas de toxicité rapportée par les nomades [151].

Activité antimicrobienne : Propriétés antiseptiques [152 , 151].

Composés chimiques : Flavonoides : Kaempferitine, quercetrine, flavone-O- et c-glycosides [148].

IV.A.1.2.3. *Launaea arboresens*



Photo n° IV.A.3 : *Launaea arboresens* (LPSO, 2014)

Régne: Plantae **Famille:** Asteraceae

Genre: *Launaea* **Espèce** *Launaea arboresens* (Batt.) Maire

Autres dénominations : *Zolikoferia arboresens*

Nom arabe : Moulbina, bouchlaba.

Nom Français : Launaea arborée

Utilisation thérapeutique : Vermifuge, Hypoglycémiant, Antiémétique. Le miel de ses fleurs est considéré comme fortifiant. Le latex est utilisé pour guérir les furoncles et extraire les épines de la peau. Composés chimiques : Présence de terpènes, de Saponosides, de Flavonoïdes libres, absence de Stérols [153].

8-deoxy-15-(3'-hydroxy-2'-methyl-propanoyl)-lactucin-3'-sulfate [154,155].

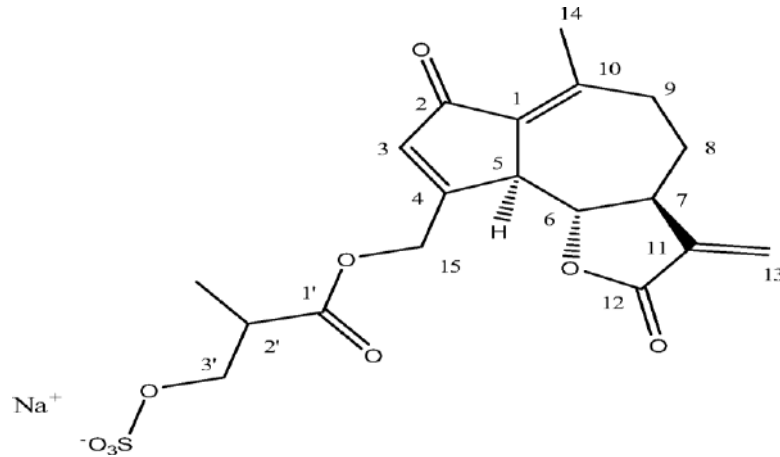


Fig n° IV.A.2 : Structure d'un Composé chimique isolé à partir de *Launaea arboresens* [155]

Structure du sodium 8-deoxy-15-(3-hydroxy-2-methyl-propanoyl)-lactucin 3-sulfate.

Toxicité : La plante est considérée comme toxique pour l'homme et les animaux à cause de son latex. Prise en grande quantité la plante cause de sérieux troubles intestino-gastriques due à l'inflammation du mucus.

Activité antimicrobienne : Extrait métonique de la partie aérienne de *Launaea arboresens* à montré une activité antifongique contre *Candida albicans* et *Saccharomyces* et une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* et *Pseudomonas aeruginosa* [156].

II.A.1.2.4. *Launaea nudicaulis*



Photo n° IV.A.4 : *Launaea nudicaulis* (LPSO, 2014)

Régne : Plantae **-Famille :** Asteraceae

Genre : Launaea **- Espèce :** *Launaea nudicaulis*

Autres dénominations :

Nom arabe: Reghama [157].

Targui: Aghararam qui signifie qui s'étale comme les coloquintes

Utilisation thérapeutique : En Algérie, cette plante est utilisée contre l'acidité gastrique.

En Inde et en Pakistan, elle est utilisée pour abaisser la fièvre infantile, traitement de la peau, l'ulcère, eczéma et le rhumatisme [153].

Autre utilisations : Elle est consommée crue fraîche ou séchée et réduite en poudre. Il s'agit d'un bon pâturage pour les chamelles allaitantes ainsi que pour les chèvres.

Composants chimiques l'huile extraite des racines de *Launaea nudicaulis* contient l'acide linoléique, l'acide palmitique, l'acide oleique, L'acide stéarique, Glycosides : xylose et aglycon, Flavones et les Phénols [153].

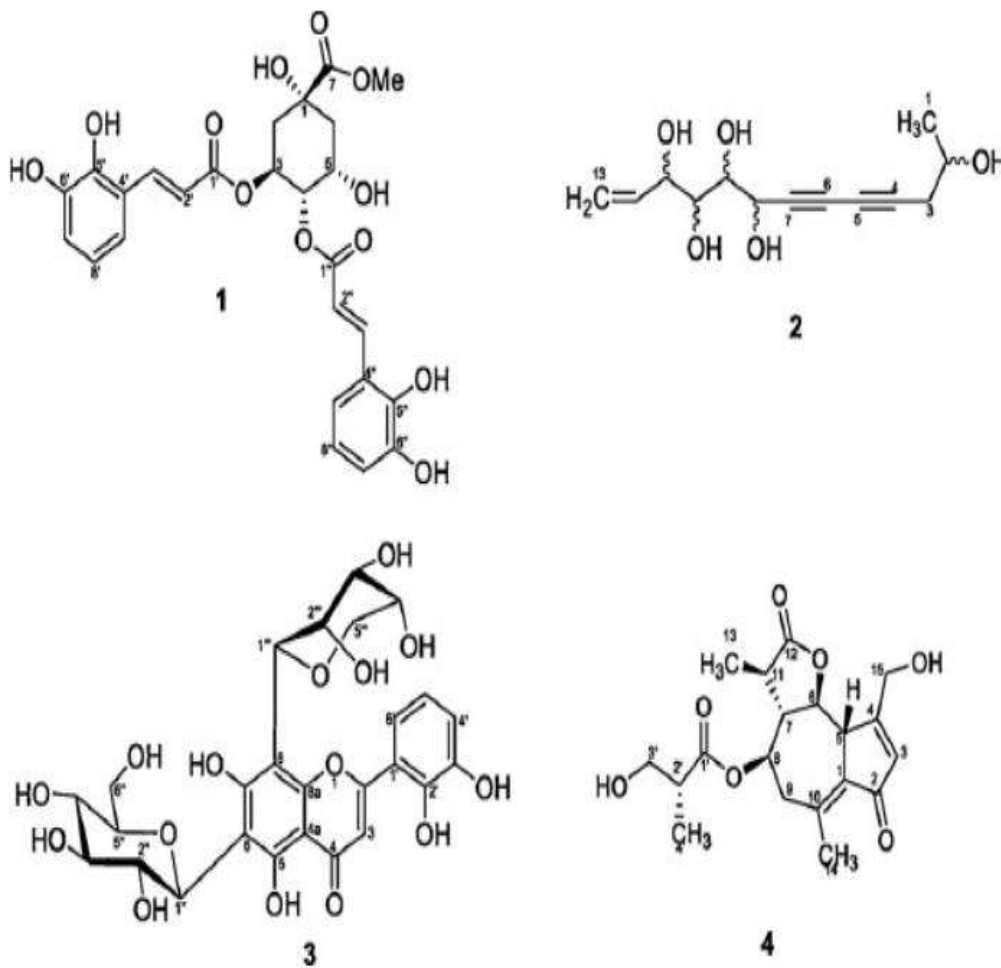


Fig n° IV.A.3 : Structures de composés chimiques isolés à partir de *Launaea nudicaulis* [153]

Activité antimicrobienne : l'extrait méthanolique de la partie aérienne à montré une activité contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [157].

IV.A.1.2.5. *Warionia saharae*



Photo n° IV.A.5 : *Warionia saharae* (LPSO , 2014)

- **Régne:** Plantae- **Famille:** Asteraceae

- **Genre:** *Warionia* -**Espèce** *Warionia saharae* Benth. & Coss.

Nom arabe : elfessass, ebessas, Kebar le maiz.

Utilisation thérapeutique : Antidiabétiques, troubles gastriques, problèmes digestifs, Indigestions, Anti diarrhéiques, Affections pulmonaires, antirhumatisme, contre les crises d'épilepsie,

Constituants chimiques : Les principaux constituants de l'huile essentielle de *Warionia saharae* Benth and Coss sont: eudesmol (42,25%), linalol (8,63%) et nérolidol (17,26%) [158-160].

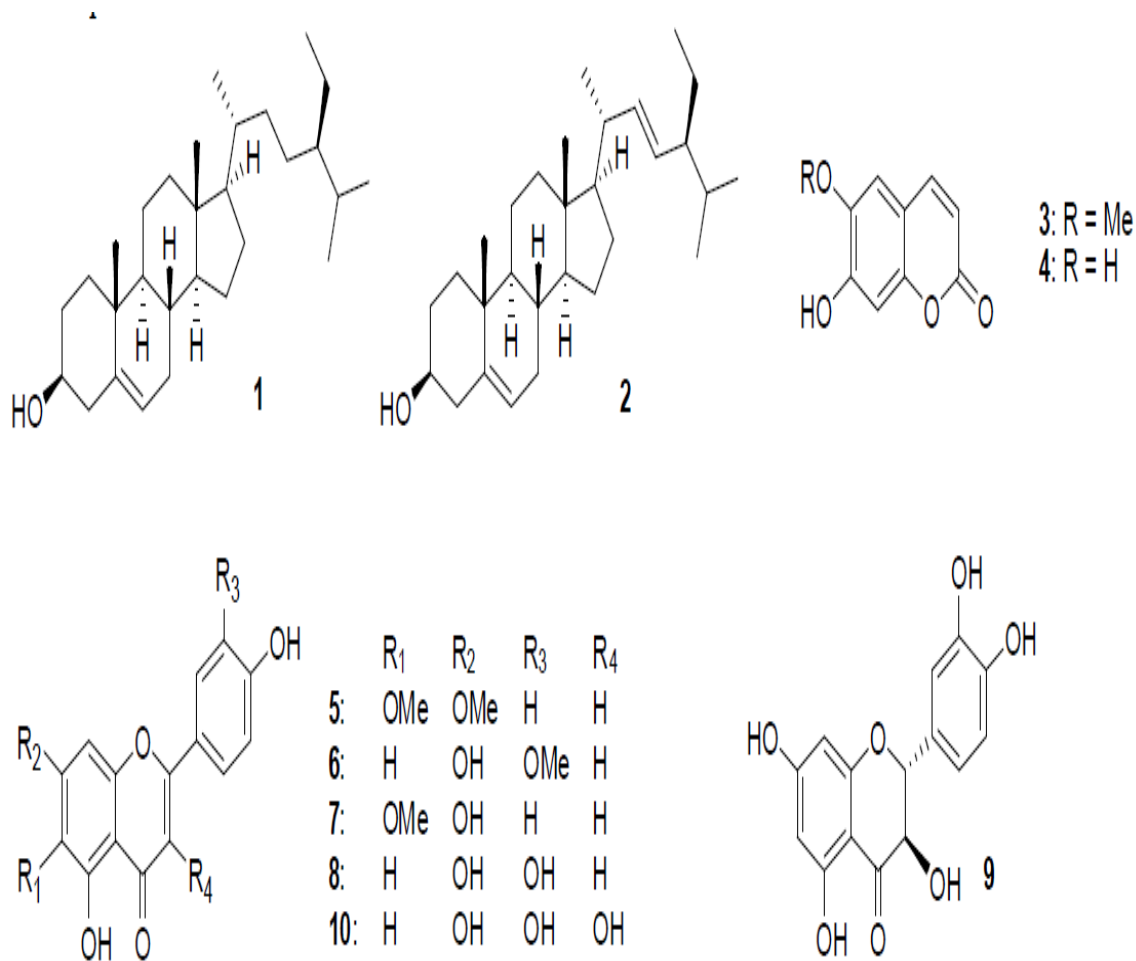


Fig n° IV.A.4: Structures de composés chimiques isolés à partir de *Warionia saharae* [161]

Activité antimicrobienne : L'activité antibactérienne à été rapportée par des études antérieures [151] [162].

IV.A.2. Traitement du matériel biologique végétal

IV.A.2.1. Cueillette des plantes

La période de la cueillette des plantes en vue d'étude s'est étalée du début du mois de février jusqu'au début du mois de mars.

On connaît pour de nombreuses plantes les variations très importantes de composition chimique et d'activité en fonction de la période et lieu de la récolte.

Le tableau n° IV.A.1 présente les lieux de cueillette des plantes étudiées:

Tableau n° IV.A.1: Lieux de cueillette des plantes étudiées

Espèces	Nom local	Lieu de cueillette
<i>Bubonium graveolens</i>	الطفس	Boukais
<i>Cotula cinerea</i>	الفرطوفة البيضاء	Routte de Kenadza
<i>Launaea arborescens</i>	أم لبينة	Bechar
<i>Launaea nudicaulis</i>	الرغامة	Taghit
<i>Warionia saharae</i>	كبار لم عيني	Djebel Bechar

Pour l'ensemble des plantes collectées, nous avons procédé aux traitements et tests suivants :

IV.A.2.2. Le Nettoyage

Nous avons procédé à un nettoyage des plantes cueillies par élimination de toutes impuretés adhérant à la plante ainsi que la terre qui reste souvent très accolée à ces dernières.

IV.A.2.3. Le Séchage

Le séchage des plantes est réalisé après la cueillette afin de préserver intact le plus possible les éléments constitutifs des plantes. Il doit être réalisé à l'abri du soleil et à une température ambiante. Une fois le séchage achevé, on élimine les poussières par tamisage.

IV.A.2.4. Le Broyage et Stockage

Après séchage complet, les plantes sont broyées avec un mortier, puis tamisées par un tamis dont les emails ne dépassent pas 1 cm.

Le produit final est stocké dans des récipients en verre hermétiquement fermés qui sont gardés à température ambiante.

IV.A.2.5. Extraction de substances naturelles

Le procédé utilisé est celui de l'extraction à reflux :

Mode opératoire:

- On met dans un ballon de 250 ml 15 gr de matière végétale, à laquelle on ajoute 100 ml de solvant. Le mélange est soumis à un reflux de 2 heures à une température constante.

- L'extrait est filtré sur du papier filtre.

- L'extrait est filtré puis évaporé par le biais du rotavapeur

Pour chaque plante, huit extraits furent réalisés dont six extraits organiques et deux extraits aqueux exposés dans le tableau n°IV.A.2.

Tableau n° IV.A.2 : Solvants et acide utilisés pour la réalisation des différents extraits des plantes étudiées

	Solvants	Formule chimique	Nature
Organiques	Acétone	C₃H₆O	polaire aprotique
	Ethanol	C₂H₆O	polaire protique
	Ether de pétrole	-	apolaire aprotique
	Dichloromethane	CH₂Cl₂	Apolaire aprotique
	Méthanol	CH₄O	polaire protique
	Chloroforme	CHCl₃	Apolaire aprotique
aqueux	Eau distillée	H₂O Distillée	polaire protique
	Eau +Acide Chlorhydrique	HCl	Polaire

IV.A.2.6 Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques furent réalisés selon les tests classiques pour la révélation des métabolites secondaires suivants :

- Alcaloïdes
- Saponosides
- Anthocyanes
- Tanins
- Flavonoides

Les protocoles suivis se présentent comme suit:

IV.A.2.6.1 Test des Alcaloïdes

- On pèse 3 gr de matière végétale qu'on met dans un bécher de 200 ml;
- On ajoute 10 ml d'Acide Chlorhydrique dilué à 5%;

- On chauffe pendant 15 mn
- On filtre la solution;
- Au filtrat, on ajoute l'Ammoniac jusqu'à obtention d'un PH=9;
- On fait une extraction liquide-liquide, en ajoutant le chloroforme, on renouvelle l'opération trois fois consécutives;
- La phase organique est recueillie puis soumise à l'évaporation;
- Au reste, on ajoute 2 ml d'HCl dilué et trois gouttes du réactif de Mayer.

Lecture : La présence d'alcaloïdes est indiquée par l'apparition d'un précipité blanc.

IV.A.2.6.2 Test des Saponosides

- 1 gr de matière végétale est mis dans un tube à essai
- On ajoute 10 ml d'eau distillée;
- Le mélange est agité vivement pendant 30 s puis laissé reposer pendant 15 s.

Lecture : L'apparition d'une mousse blanche indique la présence des Saponosides.

IV.A.2.6.3 Test des Tanins

- On pèse 3 gr de matière végétale qu'on met dans un bécher de 200 ml;
- On ajoute 20 ml d'éthanol à 50%;
- On chauffe pendant 30 mn.
- On filtre la solution;
- On met le filtrat dans un tube à essai. A ce filtrat, on ajoute quelques gouttes de $FeCl_3$ (perchlorure de fer).

Lecture : L'apparition d'une couleur verte indique la présence des tanins.

IV.A.2.6.4 Test des Flavonoïdes

- On pèse 10 gr de matière végétale;
- On décocté dans 100 ml d'Acide Chlorhydrique dilué (1%) pendant 48 heures;
- On filtre la solution.

a) Test général des Flavonoïdes

- On prend 10 ml du filtrat;
- On y ajoute une quantité d'hydroxyde d'Ammonium « NH_4OH » afin d'alcaliniser le milieu.

Lecture : L'apparition d'une couleur jaune pâle indique la présence des flavonoïdes.

b) Test des flavonoïdes libres

- On prend 10 ml du filtrat;
- On y additionne 10 ml d'alcool Amylique ($C_5H_{11}OH$).
- On agite la solution.

Lecture : Après agitation et repos, il y'a apparition d'une couleur jaune qui indique la présence des Flavonoïdes.

c) Test des flavonoïdes Glycosidiques

- On prend 5 ml du filtrat obtenu qu'on met dans un tube à essai;
- On y ajoute une petite quantité de magnésium (Mg) et on agite vivement.

Lecture : On constate l'apparition d'une couleur rouge qui indique la présence des Flavonoïdes Glycosidiques.

IV.A.2.7. Préparation des disques à différentes concentrations à partir des différents extraits obtenus

À partir des extraits obtenus ont a préparé les disques à tester avec des concentrations de valeurs variables. Phot n°IV.A.6.



Disques avec différentes concentrations d'extraits des plantes étudiées



Photo n° IV.A.6 : Disques préparés avec différentes concentrations

Matériels :

- Papier buvard référencé (HELENA BIOSCIENCES EUROPE Réf : 5034 Buvard (100));
- Appareil pour découper le papier en disques de 6 mm de diamètre;

- Micropipette automatiques de 100 μ l;
- Plaque chauffante;
- Boite de pétri en verre ;
- Pince métallique.

Matière végétale :

Extrait brute ou fraction purifiée

Mode opératoire :

- Mettre le couvercle de la boite de Petrie sur la plaque chauffante réglée à une température permettant l'évaporation du solvant utilisé pour la préparation de la dilution.

- Y déposer, avec la pince métallique, les disques découpés non accolés les un aux autres.

- Prendre avec la micropipette la quantité suffisante, pour obtenir la quantité d'extrait demandée à déposer sur le disque à préparer et ceci par petite quantité, pour que l'extrait ne dépasse pas le papier buvard utilisé. Il faut donner le temps au solvant de s'évaporer.

- Dès que toute la quantité est déposée et que tout le solvant soit évaporé, on met, à l'aide de la pince métallique, les disques préparés dans un tube à essai stérile (chaque tube doit contenir les disques du même extrait et la même concentration).

- Enfin on procède à l'autoclavage des disques mis dans les tubes à essai.

- Puis on garde ces derniers à une température de 4°C jusqu'au moment de l'utilisation.

Remarque : Afin de contrôler la quantité d'extrait déposée sur le disque, on prépare préalablement une dilution de l'extrait à concentration connue avec le solvant adéquat: La dilution préparée doit permettre d'incorporer la quantité demandée de l'extrait à tester dans la limite de la capacité d'absorption du papier buvard utilisé, cette dernière est préalablement testée.

Les masses utilisées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien des extraits de plantes étudiées sont présentées par le tableau n° IV.A.3.

Tableau n° IV.A.3 : Charges des disques et quantité des fractions bioactives utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne

Type d'évaluation	Valeurs: g* - µL**	Collection de souches testées ***
Evaluation de l'activité de l'ensemble des extraits étudiés sur les différents groupes bactériens et fongique.	4.10^{-3} g	Collection n°1
Evaluation de l'effet des différents extraits de plante sur des souches du genre Staphylococcus	-: 4.10^{-3} g - 2.10^{-3} g	Collection n°2
Evaluation des CMI des l'extraits aqueux des plantes étudiées	- 10^{-1} g - 9.10^{-4} g, - 10^{-2} g - 8.10^{-4} g, - 4.10^{-3} g - 7.10^{-4} g, - 2.10^{-3} g - 6.10^{-4} g, - 1.10^{-3} g - 5.10^{-4} g, - 4.10^{-4} g,	Collection n°2 + Collection n°3 (Candida albicans)
Evaluation de l'activité des fractions pures issues des extraits aqueux des plantes étudiées	80µL **	Collection n°4 -
* à partir d'extrait de plante. ** à partir de fractions bioactives avec des concentrations comprises entre 0,09 – 0,1 mg/ml. *** voir tableau IV.A 4.		

IV.A.2.8. Chromatographie sur couche mince des extraits aqueux bruts

Nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince des extraits aqueux obtenus à partir des plantes étudiées afin de faire une approche sur le nombre de composés majoritaires renfermés pour chaque plantes. Nous avons testé une panoplie d'éluant avant de choisir le ou les éluants ayant donnés de meilleurs résultats le méthanol / acétate d'éthyle volume à volume (1/1).

IV.A.2.9. Fractionnement des extraits aqueux des plantes étudiées

On à réalisé le fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant un ensemble de solvants tels que l'acétate d'éthyle / méthanol volume à volume.

Nous avons regroupé les fractions en fonction de leurs Rf après analyse sur CCM, qui sont visualisées sous la lumière UV à 254 et 365 nm.

IV.A.2.9.1. Purification des fractions à tester

La pureté des composés isolés pour chaque fraction a été, dans un premier temps, vérifiée par le biais de la chromatographie sur couche mince puis par HPLC en mode isocratique sur colonne C18 (125X4,6 mm) phase mobile Acétonitrile.

le débit de la phase mobile est de 0,5 ml / mn avec une pression de 4à bars le volume d'injection est de 20µl les longueurs d'onde utilisées été variables comprises entre 280 et 350 nm préalablement mesurées pour chaque fraction purifiée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible Unicam 300.

IV.A.3. Collection de souches nosocomiales testées : bactériennes et fongiques

L'effet antibactérien et antifongique des différents extraits des plantes étudiées à été évaluer vis-à-vis d'une panoplie de collections de souches nosocomiales que nous avons constitué à partir de souches bactériennes : cocci et batonnets Gram positif et négatif ainsi que des souches fongiques : Levures et moisissures.

L'ensemble des souches nosocomiales testées sont issues des prélèvements effectués en milieux hospitaliers investigués.

La composition des différentes collections de souches nosocomiales testées est présentée par le tableau n° IV.A 4.

Tableau n° IV.A 4 : Collections des souches nosocomiales testées

Evaluation de l'activité antimicrobienne		N° de la Collection	Groupe microbien		Genre espèces	Nombre de souches			
Extraits testés	microorganismes testés								
Ensemble des extraits brutes polaires et apolaires *	Différents groupes bactériens et fongique.	N° 1	Bactérien	Cocci	Gram Positif	- <i>Staphylococcus aureus</i>	- 02		
							- <i>Staphylococcus épidermidis</i>	- 02	
								- <i>Streptococcus sp</i>	- 01
						Gram Négatif		- <i>Neisseria sp</i>	- 05
			Bâtonnet		Gram Positif		- <i>Bacillus sp</i>	- 05	
					Gram Négatif		- <i>Pseudomonas sp</i> - <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i>	- 02 - 01 -02	
Fongique		Levure		- <i>Candida albicans</i>	- 05				
Extraits aqueux brute H ₂ O	souches du genre <i>Staphylococcus</i>	N° 2	Bactérien	Cocci	Gram positif	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylococcus épidermidis</i>	- 25**		
	Evaluation des CMI sur des souches du genre <i>Staphylococcus</i>							- 25**	
Extraits aqueux	Evaluation des CMI sur des levures	N° 3	Fongique	Levures	- <i>Candida albicans</i>	- 10			
	Inhibition de la croissance radiale			Moisissures	- <i>Aspergillus niger</i> - <i>Aspergillus flavus</i>	- 05 -05			
fractions issues des extraits aqueux	Souches de référence	N° 4	Bactérien		- <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923**	- 01			
			Fongique		- <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	- 01			
* voir tableau n° II.2.5. ** 5 souches pour CMI ** *Utilisée pour le control de l'antibiogramme									

IV.A.4. Evaluation des effets antibactérien et /ou antifongique des extraits des plantes étudiées exprimé vis à vis des souches nosocomiales

L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique est scindée en plusieurs volets qui se présentent comme suit:

- Evaluation de l'activité de l'ensemble des extraits étudiés sur les différents groupes bactériens et fongiques.
- Evaluation de l'effet des différents extraits de plante sur des souches du genre *Staphylococcus*
- Evaluation des masses minimales inhibitrices des l'extraits aqueux des plantes étudiées.
- Evaluation de l'activité des fractions pures issues des extraits aqueux des plantes étudiées.

IV.A.4.1. Evaluation de l'activité de l'ensemble des extraits étudiés sur différents groupes bactériens et fongique Cocci/Batonnets Gram +/- et levure: Collection n°1

Cette partie d'étude à pour but d'évaluer simultanément l'activité antibactérienne et antifongique de l'ensemble des extraits étudiés sur les différents groupes bactériens et fongiques : Cocci et bâtonnets Gram positif et négatif et levures. Ces derniers constituent la collection de souches N°1 dont les détails sont donnés par le tableau n° 1

Les résultats seront exprimés en taux d'activité des extraits de plantes sur les différents groupes microbiens testés C-a-d taux d'activité des différents extraits sur :

- Cocci Gram positif, - Cocci Gram négatif,
- Batonnets Gram positif, - Batonnets Gram négatif,
- Levures

IV.A.4.2. Evaluation de l'effet antibactérien des différents extraits vis à vis d'une collection de souches nosocomiales appartenant au genre *Staphylococcus*: n°2

Cette partie d'étude à pour but d'évaluer l'activité antibactérienne de l'ensemble des extraits étudiés sur la collection n°2 constituée des souches appartenant au genre *Staphylococcus*: voir tableau n° IV.A 4 et de la comparer aux taux de résistance à différentes familles d'antibiotiques testés.

IV.A.4.2.1. résistance des souches du genre *Staphylococcus* à différentes familles d'antibiotiques testés.

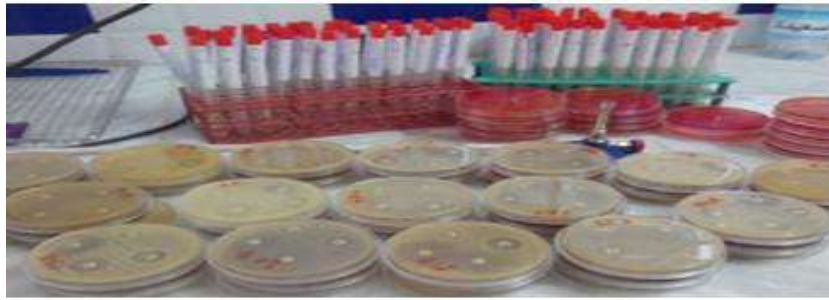


Photo n° IV.A.8 : Evaluation de l'antibiorésistance des souches du genre *Staphylococcus*

Sur la collection N°2, nous avons testé un ensemble d'antibiotiques appartenant à différentes familles d'antibiotiques [114] dont les codes et doses sont répertoriés dans le tableau n° IV.A.5. Les résultats douteux sont omis des calculs des taux obtenus lors de l'interprétation des résultats concernant la résistance des Souches testées.

Tableau n° IV.A.5 : Antibiotiques utilisés pour tester la collection de souches N°2

Familles d'antibiotiques		Antibiotiques	Codes	Charges des disques
β lactamines		Imipenem	IPM	10 µg
		Céfotaxime	CTX	30 µg
		Amoxicilline	AMX	25µg
Aminosides		Gentamicine	CN	10 µg
		Amikacine	AN	30 µg
Macrolides- Lincosamides- Streptogramine (MLS)	Streptogramine	Pristinamycine	Pr	15µg
Tétracyclines		Tétracycline	T	30 µg
SULFAMIDES		Cotrimoxazole	SXT	1.25 /23.75 µg
Polypeptides	Polypeptides thiazolydiques	Bacitracine	B	130 µg
Phenicolés		Chloramphénicol	C	30 µg
Quinolones	Fluoroquinolones	Pefloxacine	PEF	5µg
AUTRES	-	Fosfomycine	FOS	200 µg

IV.A.4.3. Evaluation des masses minimales Inhibitrices des l'extraits aqueux des plantes étudiées

Cette partie d'étude a pour but d'évaluer la masse minimale inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées sur dix souches appartenant au genre *Staphylococcus* de la collection N°2 et au genre *Candida* de la collection n°3 voir tableau Tableau n° IV.A 4.

Afin d'étudier les masse minimales inhibitrice, nous avons eu recours à la technique de l'antibiogramme citée ultérieurement avec usage de disques imprégnés avec différentes concentrations: voir tableau n° IV.A.3.

IV.A.4.4. Evaluation de l'effet antifongique et/ou antibactérien des fractions purifiées

L'évaluation de l'activité de l'ensemble des extraits étudiés sur les différents groupes bactériens et fongiques a orienté notre choix vers l'extrait aqueux qui s'est avéré être très actif.

Nous avons testé les fractions purifiées avec deux souches de références, concernant l'effet antibactérien. Nous avons testé *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 reconnue pour sa sensibilité à une variété d'antibiotiques methicillin incluse [163,164] et concernant l'effet antifongique, nous avons testé *Candida albicans* ATCC 10231, qui est un opportuniste, dans certaines conditions peut développer une virulence due à des enzymes hydrolytiques majoritairement extracellulaires [165, 166].

Cette partie d'étude consiste à rechercher les fractions bioactives, issues des extraits aqueux des plantes testées afin d'en identifier les molécules bioactives par une caractérisation chimique que nous évoquerons ultérieurement.

IV.A.4.5. Technique utilisée pour l'évaluation de l'effet antibactérien vis à vis des souches nosocomiales

Nous avons utilisé la technique de l'antibiogramme recommandée par l'OMS pour la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, qui est une méthode des disques sur gélose, dont la fiche technique est représentée comme suit :[114]

Milieu de culture:

- Gélose Mueller-Hinton, coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm ;
- Gélose Mueller - Hinton, supplémentée en sang de cheval, pour les Bactéries exigeantes testées.
- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une DO de (0,08 à 0,10) à 625 nm ;
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;

Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- L'essorer en pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois ;
- Dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Application des disques d'antibiotiques ou d'extraits des plantes étudiées :

- Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm centre à centre.

Incubation : 18 H à 35°

Lecture :

Mesurer avec précision les diamètres d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique ;

Antibiotiques :

Concernant les antibiotiques déjà préparés sur disques avec des concentrations recommandées pour la technique, on compare les résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture et on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, intermédiaire ou résistante.

Extraits des plantes étudiées :

Les valeurs des concentrations des disques imprégnés sont variables, selon la partie à étudier, voir Tableau n° IV.A.3 Les résultats obtenus sont interprétés soit relativement au germe testé ou à l'extrait testé :

a] Absence Totale de la zone d'inhibition:

* Relatif au **germe** testé : Un germe qui ne montre aucune zone d'inhibition est qualifié d'avoir une **résistance** totale à l'extrait testé.

* Relatif à l'**extrait** testé : Un extrait testé qui ne présente aucune zone d'inhibition est qualifié d'extrait non actif ou **inactif** sur le germe testé.

b] Présence d'une Zone d'inhibition :

* Relatif au germe testé : Un **germe** qui montre une zone d'inhibition est qualifié d'être **sensible** à l'extrait testé.

* Relatif à l'**extrait** testé : Un extrait testé qui montre une zone d'inhibition est qualifié d'extrait **Actif** sur le germe testé.

Les résultats trouvés peuvent éventuellement être interpréter par : Positif ou négatif.

IV.A.4.6. Technique utilisée pour l'évaluation de l'effet antifongique vis à vis des souches nosocomiales

Afin de mettre en évidence l'effet antifongique des extraits aqueux des plantes étudiées, nous avons constitué une collection de souches fongiques nosocomiales choisit pour leur intérêt médical : voir tableau n° IV.A 4.

Nous avons utilisé deux techniques distinctes qui se présentent respectivement pour les moisissures et les levures come suit:

* Technique de l'inhibition de la croissance radiale afin d'évaluer l'effet antifongique vis à vis des souches d' *Aspergillus* nosocomiales testées.

* Technique de l'antifongigramme par la méthode des disques sur gélose afin d'évaluer l'effet antifongique vis à vis des souches de *Candida albicans* nosocomiales testées.

IV.A.4.6.1. Technique de l'inhibition de la croissance radiale des souches nosocomiales d'*Aspergillus*

Nous avons eu recours à la méthode d'inhibition de la croissance radiale décrite par la figure n° IV.A.5. Des colonies obtenues après incubation à une température de 30°C pendant 7 jours. L'inhibition de la croissance radiale est estimée par rapport à la croissance radiale (Diamètre des colonies) de la souche témoin en parallèle aux souches fongiques nosocomiales testées.

L'inoculum est préparé par la technique de Pitt et Ramirez qui consiste à l'inoculation de quelques spores d'une culture jeune dans des tubes à hémolyse contenant une suspension semi solide à base de 0,2% d'Agar et quelques gouttes de Tween 80. A partir de cette suspension, on ensemence par spot le centre de la gélose Sabouraud.

Nous avons soumis l'ensemble des souches testées à une gamme de concentrations des extraits aqueux des plantes étudiées afin d'évaluer :

- * Les rythmes moyens de croissance des colonies fongiques obtenues.
- * Taux de l'effet antifongique

Les concentrations choisies se présentent comme suit:

- 0,15 g / Boite de Pétri de 15ml de gélose = 0.01g / ml = 10 mg/ml
- 0,30 g/ Boite de Pétri de 15ml de gélose = 0.02g / ml = 20 mg/ml
- 0,60 g/ Boite de Pétri de 15ml de gélose = 0.04g / ml = 40 mg/ml

Incubation : De 24 h à 7jours à 30°C

Lecture :

- Effectuer une lecture journalière
- Mesurer avec précision les diamètres des colonies testées et témoin après un délai déterminé à l'aide d'un pied à coulisse métallique :

Interprétation des résultats

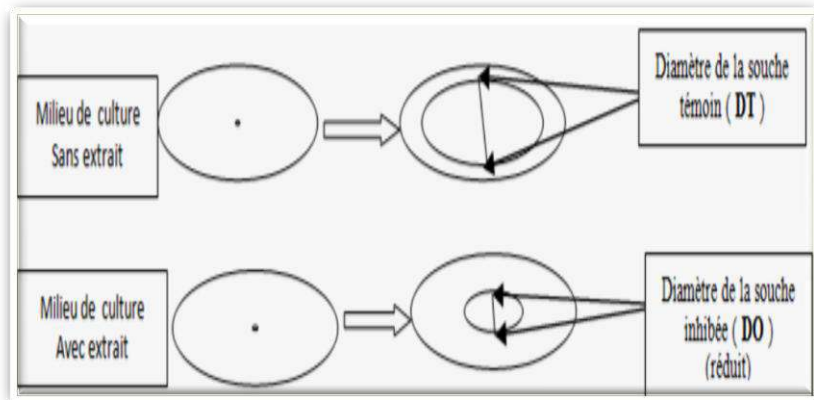


Fig n° IV.A.5 : Technique de l'inhibition de la croissance radiale

Taux d'effet antifongique

* Taux d'effet antifongique exprimé par la formule suivante: $AF = \frac{DT-DO}{DT} \times 100$

DT: Diamètre de la souche fongique témoin

DO: Diamètre obtenu pour la souche fongique testée

Rythme moyen de croissance

Le rythme de croissance est calculé selon la formule suivante: $R_c = T_{j+1} - T_j$

R_c : Rythme de croissance exprimé en mm/24h

T_j : Taille de la colonie fongique dans un délai déterminé

T_{j+1} : Taille de la colonie fongique dans le délai déterminé + 24h d'incubation supplémentaire.

IV.A.4.6.2. Technique d'évaluation de l'effet antifongique des extraits aqueux testés vis à vis des souches nosocomiales de *Candida albicans*

L'évaluation de l'effet antifongique vis à vis des souches nosocomiales de *Candida albicans* est réalisée par la méthode de l'antifongigramme standardisée par le CLSI/NCCLS [169]. Celle-ci utilise les disques sur gélose.

Milieu de culture:

- Gélose Sabouraud pour isolement, coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm ;
- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 24H₁ obtenue sur milieu d'isolement Sabouraud, racler à l'aide d'une oese de 5 mm quelques colonies de *Candida albicans*;
- Décharger dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %;
- Bien homogénéiser la suspension fongique, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une DO de (0,08 à 0,10) à 625 nm ;
- L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

Remarque: un inoculum trop dense peut être à l'origine de la formation de zones d'inhibition trop faibles pouvant faire croire à tort à une résistance.

Ensemencement :

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension fongique;

- L'essorer en pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum ;

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;

Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois ;

Dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Application des disques d'antifongique ou d'extraits des plantes étudiées :

- Les disques d'antifongiques doivent être au nombre 6 maximum sur une boîte de Pétri de 90mm de diamètre.

Incubation : Incuber à 35+/- 2°C dans un délai de 15 minutes après l'application des disques.

La durée d'incubation est de 24 heures.

Lecture : Mesurer avec précision les diamètres d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique après 24 heures d'incubation.

Si la culture est négative après 24 heures d'incubation, ré-incuber la boîte 24 heures supplémentaires et effectuer la lecture après 48 heures.

Antifongiques :

On a testé les deux antifongiques qui sont largement utilisés au sein de la population et en milieu hospitalier: Voir tableau n° IV.A.6.

*Amphotéricine B: (Fungésone)

* Fluconazole : (Diflucan)

Pour les antifongiques testés sur disques de 6 mm, on compare les résultats des diamètres obtenus aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture et on classe les souches fongiques dans l'une des catégories : Sensible ou résistante [169,170].

Tableau n° IV.A.6 : Antifongiques testés

Antifongiques	Classe pharmacologique	Charge du disque	Nature
Amphotericin B	Polyènes	100 µg	Systemiques
Fluconazole	Azols	25 µg	Systemiques

Limite d'interprétation des résultats

Les limites considérées pour l'interprétation des résultats obtenus sont répertoriées dans le tableau n° IV.A.7.

Tableau n° IV.A.7 : Limites d'interprétation des résultats de l'antifongogramme

Antifongiques	Charge du disque	Diamètre de la zone d'inhibition en mm	Interprétation	Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) pour la souche de référence testée <i>Candida albicans</i> ATCC10231
Amphotericin B	100 µg	> 10 = 10	Sensible Intermédiaire ou Résistant	15 - 21
Fluconazole	25 µg	≤ 19 15-18 ≥ 14	Sensible Intermédiaire Résistant	/
Fluconazole [167]				

Extraits des plantes étudiées :

Pour les disques que nous avons imprégné avec les extraits végétaux des plantes à étudier, les résultats obtenus sont interprétés soit relativement au germe testé ou à l'extrait testé comme indiqué précédemment pour la technique de l'antibiogramme.

IV.A.5. Caractérisation chimique des fractions bioactives obtenues

Les fractions purifiées, dont l'activité antibactérienne et/ antifongique a été vérifiée, ont fait l'objet d'une caractérisation chimique par analyses spectrales infrarouge, résonance magnétique du proton RMN¹H et du carbone ¹³C après avoir réalisé la chromatographie sur couche mince, l'analyse spectrale UV et la chromatographie liquide à haute performance pendant l'étape de la purification des fractions à tester.

IV.A.5.1. Analyses spectrales infrarouge IR

Après avoir procédé au fractionnement et purification des différentes fractions obtenues à partir de chaque extrait aqueux des plantes étudiées, nous avons procédé à la recherche de fraction à effets antifongique et / ou antibactérien.

Les analyses infrarouges réalisées par le biais du Spectromètre IR-FT: BRUKER IFS ont été réalisées sur les fractions pures bioactives après séchage total de ces dernières.

IV.A.5.2. Analyses spectrales par résonance magnétique

Nous avons soumis les fractions bioactives obtenues aux analyses par résonance magnétique qui a concerné :

* RMN proton ¹H

* RMN carbone ¹³C

Les analyses spectrales de résonance magnétique RMN^H et RMNC¹³ ont été réalisées sur les fractions pures bioactives après séchage total de ces dernières et après reconstitution avec le Méthanol tétradeutééré CD₃OD.

IV.A.5.2.1. Traitement des données de l'analyse spectrale RMN ^1H et RMN ^{13}C

Les données de l'analyse spectrale RMN $^{\text{H}}$ et RMN ^{13}C sont traitées par le logiciel mestreC [169],

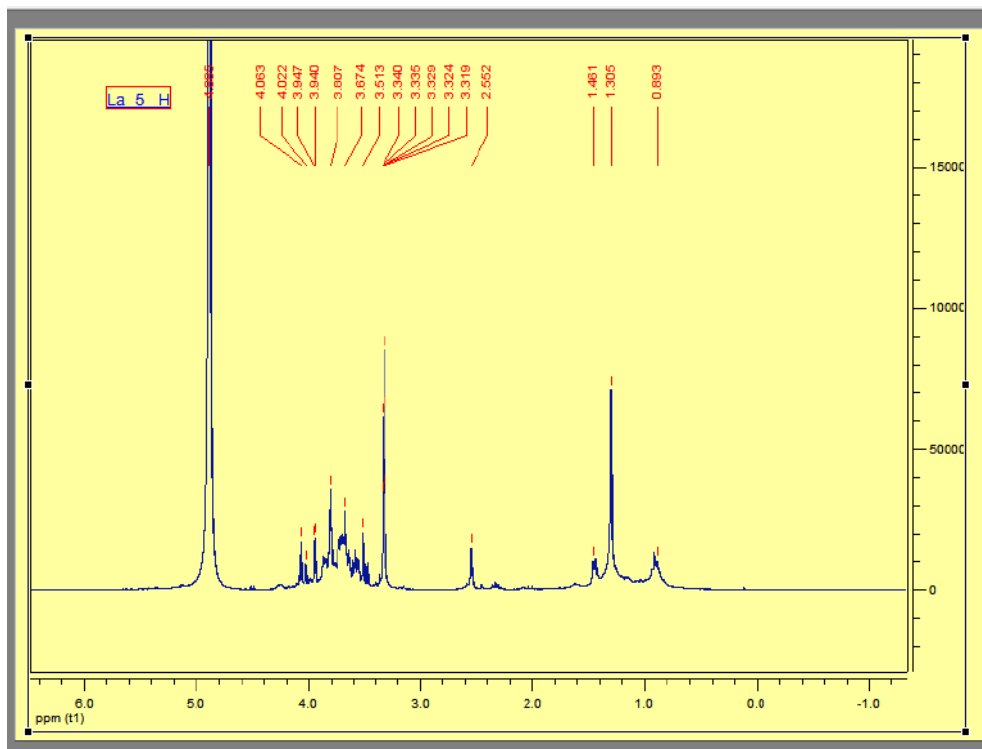


Fig n° IV.A.6 : Traitement des données de l'analyse spectrale RMN ^1H et RMN ^{13}C par le logiciel mestreC [169]

IV.A.6. Relation molécules isolées - Activité

Concernant notre étude l'activité recherchée est biologique, notamment activité Antibactérienne et/ou antifongique.

Afin d'aboutir à l'établissement d'une relation entre la structure et l'activité recherchée à travers notre étude, nous avons appliqué, comme étape de prétraitement, la méthode des arbres de décisions ainsi que la méthode de classifieur linéaire qui est une famille d'algorithmes de classement statistique permettant de classer dans des groupes (des classes) les échantillons qui ont des propriétés similaires. Ce dernier calcule la décision par combinaison linéaire des échantillons.

$$y = f(x)$$

Nous avons établis un arbre de décisions à partir d'analyse de données obtenues et de théorie des questionnaires utilisés [170 - 172] par le biais d'attribution de valeurs à des variables sélectionnées [173] que nous avons sélectionné. Voir Figure n° IV.A.7. Ce dernier représente un ensemble de décisions permettant d'établir plusieurs relations avec l'activité recherchée et ce à trois niveaux ou étapes :

Niveau1

Evaluation de la ou les famille(s) les plus représentatives de l'activité biologique recherchée, c'est-à-dire présentant le nombre de plantes le plus représentatif à effet Antibactérien et/ou antifongique relatif à l'ensemble des plantes répertoriées par le biais de questionnaire établi spécialisé pour cet effet.

$$y = f(x)$$

y = Niveau de représentation de l'activité antifongique et/ou activité antibactérienne.

x = Pourcentage des plantes répertoriées par famille relatif à l'ensemble des plantes répertoriées.

Niveau2

Etablissement d'une probable relation entre la polarité du solvant utilisé pour l'extraction et l'efficacité de l'extrait représenté par le nombre de tests positifs, c'est-à-dire ayant mis en évidence l'activité répartie au sein des différents groupes bactériens (Gram +/-) et fongiques (*Candida albicans*) testés.

$$y = f(x)$$

y = Efficacité de l'extrait représenté par le nombre de tests positifs correspondant à l'activité antifongique et/ou activité antibactérienne.

x = Polarité du solvant d'extraction

Niveau3

Concernant le niveau 3 de l'arbre de décisions entrepris, nous procéderons à la caractérisation chimique des fractions chromatographiques obtenues en vue d'identification de molécules bioactives et recherche de la réactivité de ces dernières avec les microorganismes ainsi que d'autres activités biologiques à partir de données.

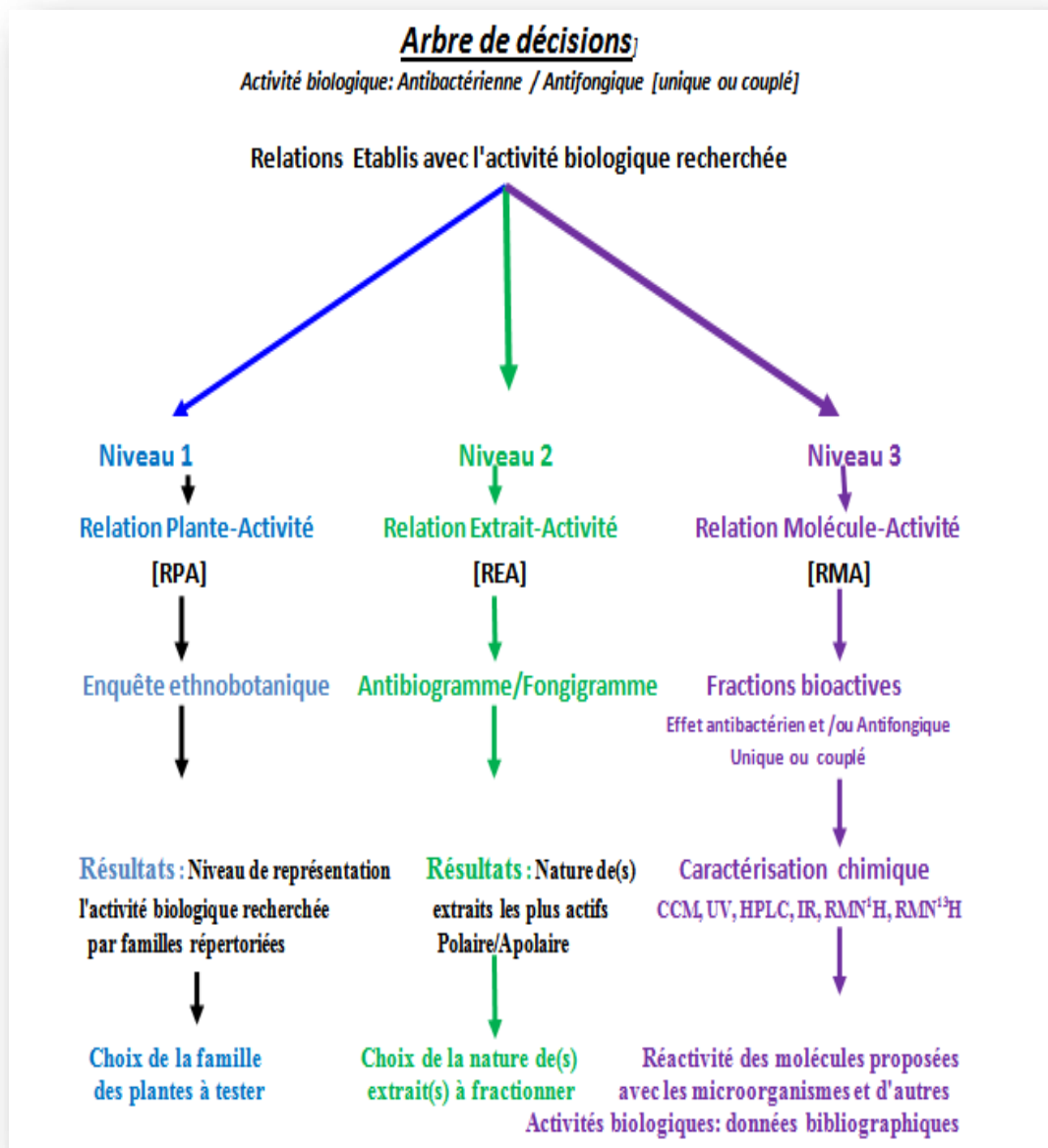


Fig n° IV.A.7: Arbre de décisions utilisé pour établir des relations relatives à l'activité antibactérienne / antifongique à trois niveaux "RPA- REA- RSA"

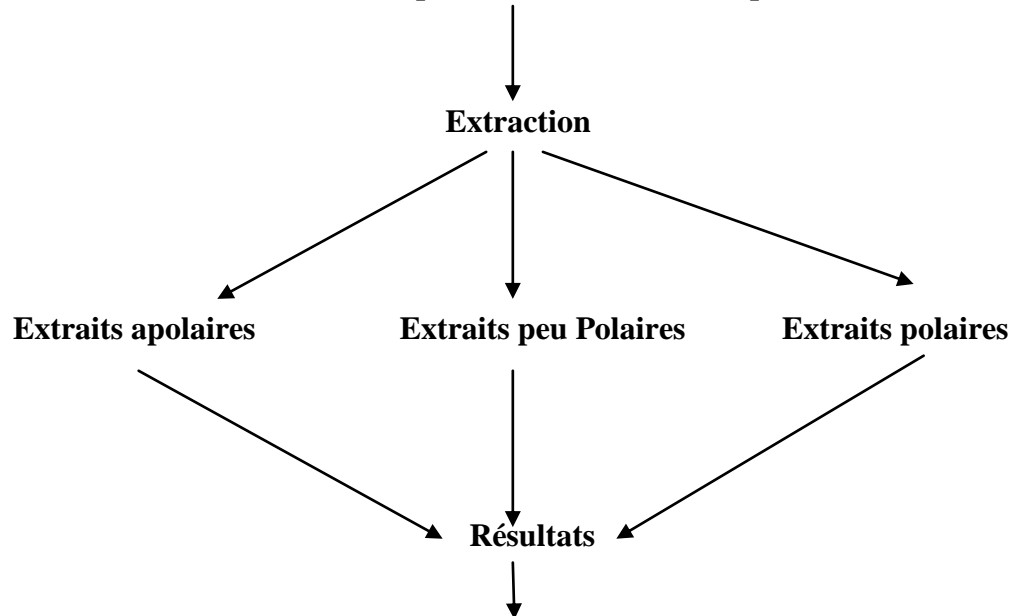
Nous avons établi l'organigramme n° IV.1 afin de rendre plus explicite l'arbre de décision adopté, pour mettre en évidence une éventuelle relation entre les molécules isolées et l'activité évaluée vis à vis des diverses collections de souches nosocomiales bactériennes et fongiques.

Nous notons néanmoins que de diverses méthodes, qualitatives tel que : Analogues structuraux, Isostérie, Modélisation moléculaire et Bio-isostérie, sont utilisées pour l'évaluation de la relation structure activité [174 , 175].

Niveau 1

Choix de la famille des plantes à effet antibactérien et/ou antifongique

Questionnaires spécialisés / étude statistiques



Niveau 2

Choix de l'extrait le plus actif

nombre de tests positifs

Fractionnement

Niveau 3

Choix de fractions bioactives à effet antibactérien et/ou antifongique

**Caractérisation chimique
des fractions bioactives confirmées**

Organigramme n° IV.1 : Différents niveaux décisionnels de l'étude Bioguidée

IV-B. RESULTATS ET DISCUSSION

Cette partie traite les résultats concernant:

- L'enquête ethnobotanique effectuée,
- L'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique des extraits bruts des plantes étudiées vis-à-vis de divers collections de souches nosocomiales,
- L'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique de fractions chromatographiques obtenues à partir des extraits aqueux des plantes étudiées,
- La caractérisation chimique de fractions bioactives obtenues.

IV-B .1. Enquête ethnobotanique

IV-B .1.1. Résultats des répartitions des familles de plantes recensées et de leurs parties utilisées

Notre questionnaire a concerné différentes catégories sociales dont les Tradipraticiens (TR), herboristes (HE) et les personnes ayant régulièrement recours à la phytothérapie (PRRP). Ces derniers sont au nombre de 104 personnes et sont réparties dans la figure n° IV.B.1.

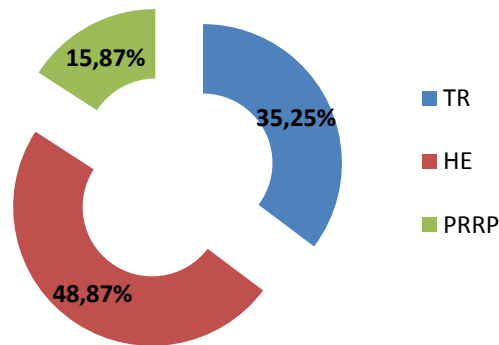


Fig n° IV.B.1 : Taux de répartition des catégories sociales questionnées

Les plantes recensées sont utilisées pour la cure de multiples organes de l'organisme humain. Elles appartiennent à 36 familles différentes avec des taux de répartition nettement variables, pour chaque famille, les parties utilisées sont unique ou multiples avec des taux d'usage variables qui sont répertoriés dans le tableau n° IV.B.1.

Tableau n° IV.B.1: familles de plantes recensées : Répartition, parties utilisées et nombre d'organes traités

Famille	Taux de répartition	Nombre d'organes traités	Parties utilisée	Taux d'usage
<i>Asteraceae</i>	11,59%	12	Partie aérienne	33,33%
			Feuille	22,22%
			Fleur	11,11%
			Graine	11,11%
<i>Lamiaceae</i>	17,39%	11	Partie aérienne	27,27%
			Feuille	54,54%
			Fleur	9,09%
			Graine	18,18%
<i>Apiacées</i>	5,79%	05	Partie aérienne	66,66%
			Graine	33,33%
<i>Fabaceae</i>	2,89%	05	Graine	50%
			Fruit	25%
			Résine	25%
<i>Poaceae</i>	4,34%	02	Partie aérienne	66,66
			Graine	33,33%
<i>Chenopodiaceae</i>	2,89%	06	partie aérienne	100%
<i>Alliaceae</i>	2,89%	09	Fruit	100%
<i>Lythraceae</i>	2,89%	08	Feuille	33,33%
			Tige	33,33%
			Fruit	33,33%
<i>Cupressaceae</i>	2,89%	05	partie aérienne	50%
			Fruit	50%
<i>Zygophyllaceae</i>	2,89%	04	partie aérienne	25%
			Tige	25%
			Graine	25%
			Racine	25%
<i>Capparaceae</i>	2,89%	02	partie aérienne	50%
			Fruit	50%
<i>Cucurbitaceae</i>	2,89%	01	Fleur	50%
			Fruit	50%
<i>Cyperaceae</i>	2,89%	02	Graine	100%
<i>Liliaceae</i>	2,89%		Fruit	50%
			Graine	50%
<i>Fagaceae</i>	2,89%	05	Graine	100%
<i>Iridaceae</i>	1,44%	03	partie aérienne	100%
<i>Myrtaceae</i>	1,44%	07	Feuille	100%
<i>Oléaceae</i>	1,44%	07	huile et feuilles	100%
<i>Rosaceae</i>	1,44%	03	Pétale	100%
<i>Apocynaceae</i>	1,44%	01	Feuille	100%

Tableau n° IV.B.1 (Suite)

Famille	Taux de répartition	Nombre d'organes traités	Parties utilisée	Taux d'usage
<i>Rhamnaceae</i>	1,44%	04	Tige	50%
			Feuille	50%
<i>Salvadoraceae</i>	1,44%	04	Ecorce	100%
<i>Brassicaceae</i>	1,44%	04	Graine	100%
<i>Rutaceae</i>	1,44%	03	Feuille	100%
<i>Amaranthaceae</i>	1,44%	03	Feuille	100%
<i>Ranunculaceae</i>	1,44%	02	Graine	100%
<i>Caesalpiniaceae</i>	1,44%	01	Partie aérienne	100%
<i>Aristolochiaceae</i>	1,44%	01	Tige	100%
<i>Zingiberaceae</i>	1,44%	03	Tige	100%
<i>Tamaricaceae</i>	1,44%	01	Partie aérienne	100%
<i>Solanaceae</i>	1,44%	01	Graine	100%
<i>Anacardiaceae</i>	1,44%	01	Ecorce	100%
<i>Thymelaeaceae</i>	1,44%	01	Graine	100%
<i>Moraceae</i>	1,44%	02	Fruit	100%
<i>Salsolaceae</i>	1,44%	01	Racine	100%
<i>Plumbaginaceae</i>	1,44%	01	Partie aérienne	100%

On constate que les taux des plantes appartenant aux familles des *Lamiaceae* et celle des *Asteraceae* étaient relativement élevées par rapport aux taux obtenus pour les autres familles, avec des valeurs respectives de 13,92% et 11,39% avec des taux d'usage relativement élevés concernant la partie aérienne 33,33% et celle des feuilles 22,22%.

Les plantes de la famille des *Asteraceae* sont utilisées pour traiter l'ensemble des pathologies infectieuses des différents organes **voir annexe 7**.

Concernant les familles répertoriées et organes traités en **annexe 7**, on note que le taux de répartition le plus élevé concerne pour les *Asteraceae*, le tube digestif avec une valeur de **62,5%**, les *Lamiaceae* l'appareil urinaire **41,66%**, Les *Apiaceae* le poumon **100%**, les *Poaceae* la peau **66,66%**.

Les *Asteraceae* sont utilisés afin de traiter **100%** des localisations infectieuses répertoriées, les *Lamiaceae* pour 91,66%, les *Apiaceae* pour 41,66% et les *Poaceae* pour seulement 16,66% des organes à traiter dans l'organisme humain. Il est à noter que le nombre de plantes représentatives des familles citées ci dessus est relativement élevé.

Concernant les groupes des familles, dont le nombre de plantes représentatives est relativement faible, le nombre d'utilisation par famille varie entre 5 et un unique organe traité par familles de plantes répertoriées. Les familles de plantes utilisées pour traiter un unique organe représentent les 30,55% de l'ensemble des familles répertoriées **voir annexe 7**.

Ces résultats ont orienté notre choix pour la recherche de molécules bioactives auprès de plantes appartenant à la famille des *Asteraceae* et précisément sur la partie aérienne.

IV-B .1.2. Formes d'utilisation

Nous avons répertorié diverses formes d'utilisations que nous avons consignées ainsi que leurs pourcentages d'utilisation dans le tableau n°IV.B.2.

Tableau n°IV.B.2 : Taux d'usage des formes d'utilisations

formes d'utilisation	%
Décoction	35,54
Poudre	20,70
Extraction à l'huile d'olive	11,02
Incinération	7,01
Ecrasement	5,85
Huile	4,09
Infusion	3,09
extrait au lait	1,72
miel et matière grasse	1,27
Extraction à l'huile	1,09
Goudron	1,81
Latex	1,40
Fermentation	1,32
Macération	0,90

Les formes d'utilisation les plus répondues sont la décoction 35,54%, la poudre 20,70% et l'extraction à l'huile d'olive 11,02%. Les autres formes ont présenté des taux inférieurs et variables entre 7,01% et 0,90%.

Ces résultats ont contribué à l'orientation de notre choix vers l'extrait aqueux des plantes choisies pour le fractionnement et la recherche de molécules bioactives.

IV-B .1. 3. Parties utilisées

L'enquête ethnobotanique a relevé l'usage de parties variables des plantes recensées dont le taux d'usage relatif à l'ensemble des familles répertoriées, sont représentés par la figure n°IV.B.2.

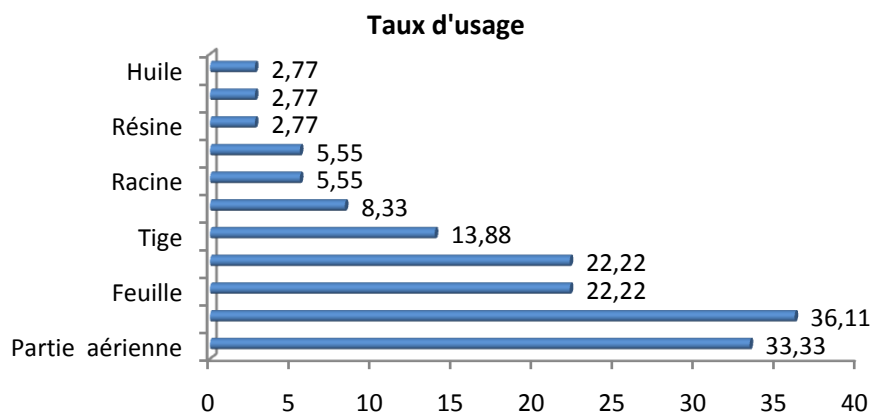


Fig n°IV.B.2 : Taux d'usage des parties utilisées relatif au nombre de familles de plantes répertoriées

33,33% des familles de plantes recensées ont révélé l'usage de la partie aérienne, l'usage de la graine était pour 36,11% ; celui des feuilles et fruit de 22,22% ; tige 13,88% ; fleur 08,33% ; racine et écorce 05,55% ; l'huile, la résine et les pétales sont utilisés pour un taux de 02,77%.

Les résultats trouvés ont orienté notre choix vers l'investigation de la partie aérienne des plantes étudiées à la recherche de molécules bioactives.

IV-B .1.4. Plantes étudiées

Les résultats obtenus par le biais de l'enquête ethnobotanique effectuée a orienté notre choix, en quête de recherche de molécules bioactives auprès de plantes appartenant à la famille des *Asteraceae*, qui a été représenté avec un taux d'usage de 11,59% notamment la partie aérienne dont l'usage a été marqué pour un taux relativement élevé de 33,33% .

Les plantes étudiées appartiennent à la famille des *Asteraceae*:

1	<i>Bubonium graveolens</i> (Forssk.).	الطفس
2	<i>Cotula cinerea</i> (Del.	الفرطوفة البيضاء
3	<i>Launaea arboresens</i> (Batt.) Murb.	أم لبينة
4	<i>Launaea nudicaulis</i> (L.)Fook.f.	الرغامة
5	<i>Warionia saharae</i> Benth. Et Coss.	كبار لم عيني

Les broyats obtenus sont présentés par la Photo n°IV.B.1.



Photo n°IV.B.1 : Illustration des broyats des plantes étudiées

IV-B .1.4.1. Rendement des extraits aqueux obtenus

Nous avons privilégié l'extrait aqueux suite aux résultats de l'étude préliminaire dont la réalisation à pour objectif l'orientation vers les extraits les plus actifs.

Les taux des rendements des extraits aqueux sont donnés par la figure suivante:

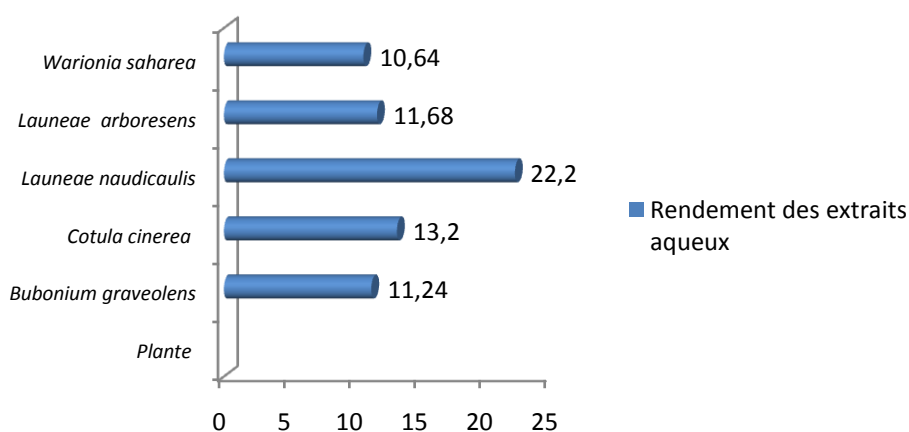


Fig n° IV.B.3 : Rendement des extraits aqueux des *Asteraceae* étudiées

L'extrait aqueux de *Launee nudicaulis* a présenté un taux de rendement avec une valeur moyenne nettement plus élevée de 22,20% par rapport à celles des autres plantes, qui étaient relativement rapprochées avec des valeurs comprises entre 10.64% et 13.20% comme il est indiqué dans la figure ci-dessus.

IV-B .1.4.2 . Criblage phytochimique

Afin d'avoir une approche se rapportant à la composition chimique des plantes étudiées, nous avons effectué un ensemble de tests phytochimiques permettant la mise en évidence de divers métabolites secondaires présents dans la plante. Les résultats obtenus sont répertoriés dans le tableau n° IV.B.3.

Tableau n° IV.B.3 : Résultat du criblage phytochimique

<i>Métabolites Secondaires</i>	<i>Bubonium graveolens</i>	<i>Cotula cinerea</i>	<i>Launaea arboresens</i>	<i>Launaea nudicaulis</i>	<i>Warionia saharae</i>
Flavonoïdes Glucosidiques	++	+++	--	++	+++
Flavonoïdes libres	++	+++	++	+++	+++
Tanins	+++	++	+++	+++	++
Alcaloïdes	++	++	++	+	++
<i>Saponosides</i>	+ 1,5 cm	+++ 3cm	++ 2cm	++ 2cm	+++ 3cm
Anthocyanes	--	--	--	--	--

La présence des alcaloïdes à été révélé avec des teneurs faibles pour *Launaea nudicaulis* et *Bubonium graveolens* moyennes pour les autres plantes. La présence des alcaloïdes chez *Launaea arboresens* et a été rapporté par des études antérieures [178].

Les composés réducteurs sont présents en faible teneur chez *Warionia saharae* et *Launaea nudicaulis* et en teneur moyennes pour les autres plantes.

Les stéroïdes sont absents chez *Cotula cinerea* et *Bubonium graveolens* et présents chez les autres plantes. On note une absence totale des anthocyanes chez l'ensemble des plantes étudiées.

Les Flavonoïdes libres et glucosidiques sont présents chez l'ensemble des plantes étudiées et ce avec des teneurs variables de moyenne à forte à l'exception de *Launaea arboresens* qui n'a pas révélé la présence des Flavonoïdes glucosidiques.

Les flavonoides ont une activité antimicrobienne reconnues [177 -179]

Les flavonoides ont une activité antibactérienne [180-183] et une activité antifongique très puissante [184,185] telle que l'activité des flavonones glucosidiques et des polymétoxyflavones de *citrus paradisi*, de *citrus sinensis* sur *Penicillium digitatum* [186]. Celle des flavonoïdes extraits de la poudre des inflorescences males de *Borassus dethiopum* contre les dermatophytes comme *T.rubrum* [187].

Les tanins ont une activité antibactérienne [188]. Ces derniers ont une activité inhibitrice simultanée aux moisissures et levures [189,190]

Les saponosides et les tanins sont présents chez toutes les plantes étudiées, avec des teneurs variables de moyennes à forte.

Les saponosides sont responsables de l'activité antimicrobienne et présentent également des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, ce qui justifie l'emploi de ces plantes dans les traitements traditionnels prescrits contre les inflammations des oreilles, des yeux, de la bouche et contre divers affections cutanées et inflammation du nez [191]. Les alcaloïdes ont, eux aussi, fait preuve d'activité antifongique et antibactérienne [192,193].

L'ensemble des astéraceae étudiées a révélé la présence d'un arsenal de composés chimiques dotés de vertus recherchées en médecine traditionnelle ce qui explique leur usage avec un taux relativement élevé par rapport à la majorité des autres familles de plantes recensées. Nombreuses asteraceae sont utilisées pour leurs effets antibactérien et antifongique avérés. (voir Tableau n° IV.B.1: Répartition des familles de plantes recensées et de leurs parties utilisées).

D'une manière générale, on constate une certaine similitude dans la composition chimique de l'ensemble des plantes étudiées à l'exception des flavonoïdes glucosidiques qui sont absents chez *Launaea arborensis*.

IV.B.2. Effet antibactérien et antifongique des extraits des plantes étudiées vis-à-vis de souches nosocomiales

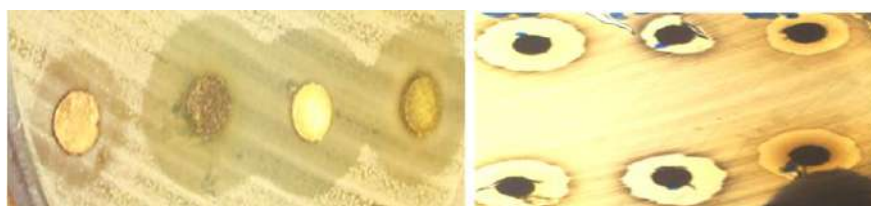
Nous avons évalué l'effet antibactérien et antifongique des extraits des plantes étudiées vis-à-vis de diverses collections de souches nosocomiales :

- **Collection n°1** constituée de souches nosocomiales appartenant aux différents groupes microbien bactériens à savoir cocci et bâtonnets Gram positif et négatif et fongique représenté par la levure *Candida albicans*.

Afin d'évaluer l'effet des extraits des plantes sur les différents groupes microbien.

- **Collection n°2** constituée de souches nosocomiales bactériennes appartenant au genre *Staphylococcus* qui s'est révélé être omniprésent dans les environnements hospitaliers investigués.

- **Collection n°3** constituée par des souches nosocomiales fongiques représentée par des levures et des moisissures.
- **Collection n°4** constituée par des souches de références :
 - a- Souche fongique utilisée pour l'évaluation de l'effet antifongique des fractions purifiées,
 - b- Souche de référence bactérienne utilisée pour l'évaluation de l'effet antibactérien des fractions purifiées et pour le contrôle de la technique de l'antibiogramme .



IV.B.2.1. Effet des différents extraits des plantes étudiées sur la collection de souches nosocomiales n° 1 : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures

Cette partie d'étude est une orientation bio guidée vers le choix de la nature des extraits potentiellement actifs qui feront par la suite objet de fractionnement à la recherche de fractions bioactives, à effet antibactérien et/ou antifongique, qui seront caractérisés chimiquement afin d'identifier des molécules bioactives issues des plantes étudiées.

a] Activité des différents plantes étudiées sur différents groupes microbiens

Les taux d'activité exprimés étaient variables d'une plante à une autre et d'un extrait à un autre pour une même plante.

Nous regroupons dans le tableau n°IV.B.4 le résultat global obtenu pour l'activité de chaque plante sur les différents groupes microbiens de la collection des souches bactériennes et fongiques n°1 à savoir , les cocci et bâtonnets Gram positif et négatif et les levures (voir chapitre IV.A. tableau n° IV.A 4 : Collections des souches nosocomiales testées).

Les détails de l'activité de l'ensemble des extraits testés pour chaque plante sur les souches bactériennes et fongiques de la collection n°1 figurent en **annexe 8**.

Tableau n°IV.B.4 : Taux d'activité des différentes plantes étudiées sur différents groupes microbiens : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures

Plantes	<i>Bubonium</i>	<i>Cotula</i>	<i>Launaea</i>	<i>Launaea</i>	<i>Warionia</i>
Groupes microbiens	<i>graveolens</i>	<i>cinerea</i>	<i>arboresens</i>	<i>nudicaulis</i>	<i>saharae</i>
Cocci Gram positif	62,5	82,5	36,25	52,5	53,75
Cocci Gram négatif	32,5	56,25	0%	12,5	42,5
Bâtonnets Gram positif	57,5	47,5	0%	25	37,5
Bâtonnets Gram négatif	40	42,5	20	25	57,5
Levures	17,5	22,5	7,5	15	20
Globale	42	50,25	12	26	42,5

Les extraits de *Bubonium graveolens* se sont montrés actifs sur un taux moyen de 62,5% des cocci Gram positif ; un taux moyen de 32,5% des cocci Gram négatif ; un taux moyen de 57,5% des bâtonnets Gram positif et un taux moyen de 40% des bâtonnets Gram négatifs.

Un taux moyen de 17,5% des souches fongiques a été inhibé par l'ensemble des extraits testés, la plante *Bubonium graveolens* s'est montrée active sur 42% de l'ensemble des souches nosocomiales testées.

L'ensemble des extraits de *Cotula cinerea* se sont montrés actifs sur un taux moyen de 82,5% des cocci Gram positif ; un taux moyen de 56,25% des cocci Gram négatif ; un taux moyen de 47,5% des bâtonnets Gram positif et un taux moyen de 42,5% des bâtonnets Gram négatifs.

Un taux moyen de 22,5% des souches fongiques a été inhibé par l'ensemble des extraits testés, la plante *Cotula cinerea* s'est montrée active sur 50,25% de l'ensemble des souches nosocomiales testées.

Les différents extraits de *Launaea arboresens* se sont montrés actifs sur les cocci Gram positif avec un taux de 36,25%, sur les bâtonnets Gram négatifs un taux de 20%, tandis que aucune activité n'a été montrée vis-à-vis des Cocci Gram négatif et les bâtonnets Gram positif.

Un taux moyen de 7,5% des souches fongiques a été inhibé par l'ensemble des extraits testés, la plante *Launaea arboresens* s'est montrée active sur 12% des germes nosocomiaux testés.

Les extraits de *Launaea nudicaulis* se sont montrés actifs sur un taux moyen de 52,5% des cocci Gram positif ; un taux moyen de 12,5% des cocci Gram négatif ; un taux moyen de 25% des bâtonnets Gram positif et un taux moyen de 25% des bâtonnets Gram négatifs.

Un taux moyen de 15% des souches fongiques a été inhibé par l'ensemble des extraits testés, la plante *Launaea nudicaulis* s'est montrée active sur 26% de l'ensemble des souches nosocomiales testées.

Les extraits de *Warionia saharae* se sont montrés actifs sur les cocci Gram positif avec un taux moyen de 53,75% ; les cocci Gram négatif avec un taux moyen de 42,5% ; les bâtonnets Gram positif avec un taux moyen de 37,5% et les bâtonnets Gram négatifs avec un taux moyen de 57,5%.

Un taux moyen de 20% des souches fongiques a été inhibé par l'ensemble des extraits testés, la plante *Warionia saharae* s'est montrée active sur 42,5% de l'ensemble des souches nosocomiales testées.

Parmi les plantes étudiées l'ensemble des extraits de *Cotula cinerea* a montré le taux d'activité antibactérienne/antifongique le plus élevé avec une valeur de 50,25% suivi par *Bubonium graveolens* avec un taux de 40% puis par *Warionia saharae* 42,5% *Launaea nudicaulis* 26%, *Launaea arborescens* a montré le taux d'activité le plus réduit avec un taux d'une valeur de 12%.

On note que *Warionia saharae* s'est montrée plus active sur les bâtonnets Gram négatif que sur les autres groupes microbiens testés tandis que les autres plantes testées étaient plus actives sur les Cocci Gram positif.

Nous avons noté que l'effet antibactérien, des plantes testées, était nettement plus prononcé que l'effet antifongique.

b] Activité antimicrobienne et nature de l'extrait

Le taux d'activité des plantes étudiées varie selon la nature du solvant utilisé pour l'extraction. Nous regroupons dans le tableau n° IV.B.5 les taux d'activité des extraits de différentes nature sur la collection de souches nosocomiales n°1 : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures, les détails figurent en **annexe 8**.

Tableau n° IV.B.5 : Activité antimicrobienne et nature de l'extrait

Taux d'activité %								
Solvants Plantes	HCl	H ₂ O	Acétone	Ethanol	éther de pétrole	dichloromethane	Méthanol	Chloroforme
Bubonium graveolens	88	52	16	44	16	36	34	36
<i>Cotula cinerea</i>	92	56	56	56	32	44	28	40
Launea arboresens	48	20	4	8	4	4	4	4
Launea nudicaulis	100	56	4	16	4	8	12	8
Warionia saharea	96	44	40	52	8	20	68	12
<i>Activité globale*</i>	84.8	45.6	24	35.2	12.8	22.4	29.2	20

* Activité globale des extraits de même nature de toutes les plantes testées.

Pour la globalité des tests effectués, les différents types d'extraits ont exprimé des Taux d'activité variables avec des valeurs comprises entre 12,8% et 84,4% que nous présentons par la figure n° IV.B.4.

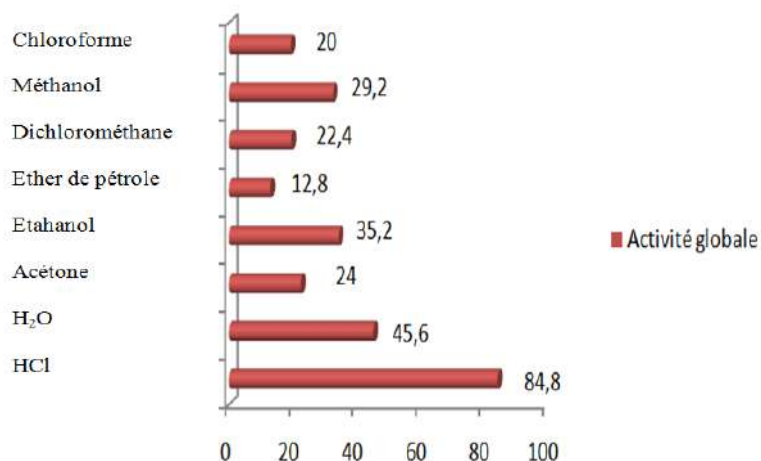


Fig n° IV.B.4 :Taux d'activité des différents types d'extraits sur la collection de souches nosocomiales n°1 : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures

D'après les résultats obtenus, on constate nettement que les extraits avec solvant polaires sont très actifs.

On observe une diminution de l'activité antimicrobienne avec la diminution de la polarité ainsi le solvant HCl à donner les meilleurs résultats suivit par H₂O, puis par le méthanol et l'éthanol avec des taux respectifs de 84,8%, 45,6%, 35,2% et 29,2%. Ces derniers sont tous polaires et aprotiques

Vu que les solvants polaires dissolvent des composés polaires, on peut déduire d'après les résultats obtenus que les molécules, à effet antimicrobien en quête d'identification, seraient probablement polaires, ce qui reste à confirmer ultérieurement par la caractérisation chimique.

Nous avons opté pour le choix de l'extrait aqueux H₂O des cinq plantes étudiées pour la recherche de molécules Bioactives car ce dernier a montré un taux d'activité relativement élevé de 45,6% et un taux d'usage relativement élevé d'une valeur de 35,54%, nous soulignons que le solvant utilisé ne présente aucune toxicité connue.

IV.B.2.2. Effet des plantes étudiées sur une collection de souches nosocomiales de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* de la collection n°2

Notre choix pour une collection de souches du genre *Staphylococcus* a été motivé par les résultats obtenus à partir des prélèvements environnementaux effectués au niveau des structures hospitalières qui ont montré une omniprésence des cocci à Gram positifs représenté majoritairement par des souches du genres *Staphylococcus*.

Afin d'évaluer l'effet antibactérien des extraits de plantes testées vis-à-vis des souches nosocomiales appartenant au genre *Staphylococcus*, nous avons pris en considération les paramètres suivants : Nombre de tests positifs et zones d'inhibitions.

Les résultats seront présentés sous forme d'une étude comparative entre :

- L'activité des plantes sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées,
 - Tests positifs et zone d'inhibition maximale.
- L'activité des extraits de différente nature sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées,
 - Tests positifs et zones d'inhibition maximale.
- L'activité des extraits des plantes étudiées et celle d'un ensemble d'antibiotiques appartenant à différentes familles.
- Masse minimale inhibitrice, des extraits aqueux des plantes étudiées, exprimée vis-à-vis des souches nosocomiales de *Staphylococcus*.

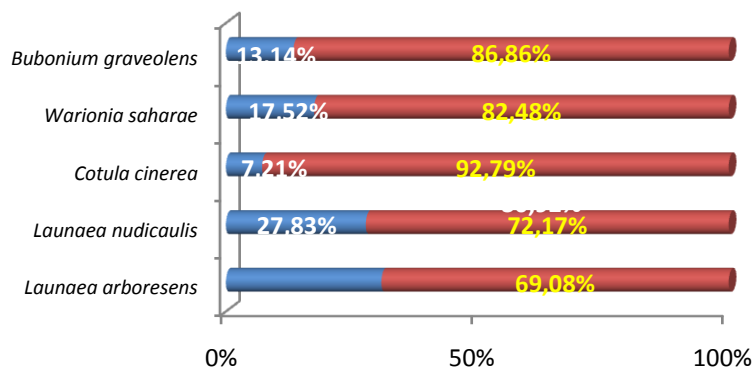
IV.B.2.2.1. Activité globale des plantes étudiées sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées

L'activité de l'ensemble des extraits de plantes étudiées sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées ainsi que les zones d'inhibition maximale exprimées vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermidis* et *Staphylococcus ATCC 25923* est représentée par le tableau n°IV.B.6 .

Tableau n°IV.B.6 : Activité des plantes étudiées sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées

Souches nosocomiales de <i>Staphylococcus</i> et Asteraceae	Activité des plantes Sur les souches nosocomiales	Zone d'Inhibition Limites		
		<i>S. aureus ATCC</i>	<i>S. aureus nosocomiale</i>	<i>S. epidermidis</i>
<i>Bubonium graveolens</i>	86,86	32	22	12
<i>Cotula cinerea</i>	92,79	25	22	21
<i>Launaea arboresens</i>	69,08	12	12	10
<i>Launaea nudicaulis</i>	72,17	18	19	14
<i>Warionia saharae</i>	82,48	28	20	13

La figure n° IV.B.5 permet une évaluation comparative entre l'activité des différentes plantes étudiées sur les souches nosocomiales de *Staphylococcus*.



■ Taux de résistance des souches de *Staphylococcus* ■ Taux d'activité des extraits de plantes étudiées

Fig n° IV.B.5 : Taux d'activité des plantes étudiées sur une collection de souches nosocomiales du genre *Staphylococcus*

La majorité des plantes testées ont montré un effet contre les souches nosocomiales appartenant au genre *Staphylococcus* avec des taux variables.

On note que *Cotula cinerea* a montré un effet antibactérien vis-à-vis des souches nosocomiales de *Staphylococcus* avec un taux remarquablement plus élevé de 92,79% suivi par *Bubonium graveolens* avec un taux de 86,60% ; *Warionia saharae* : 82,48% ; *Launaea nudicaulis* : 72,17% et *Launaea arboresens* : 69,08%.

La figure n° IV.B.6 permet une évaluation comparative des zones d'inhibition maximales obtenues pour les souches appartenant au genre de *Staphylococcus*.

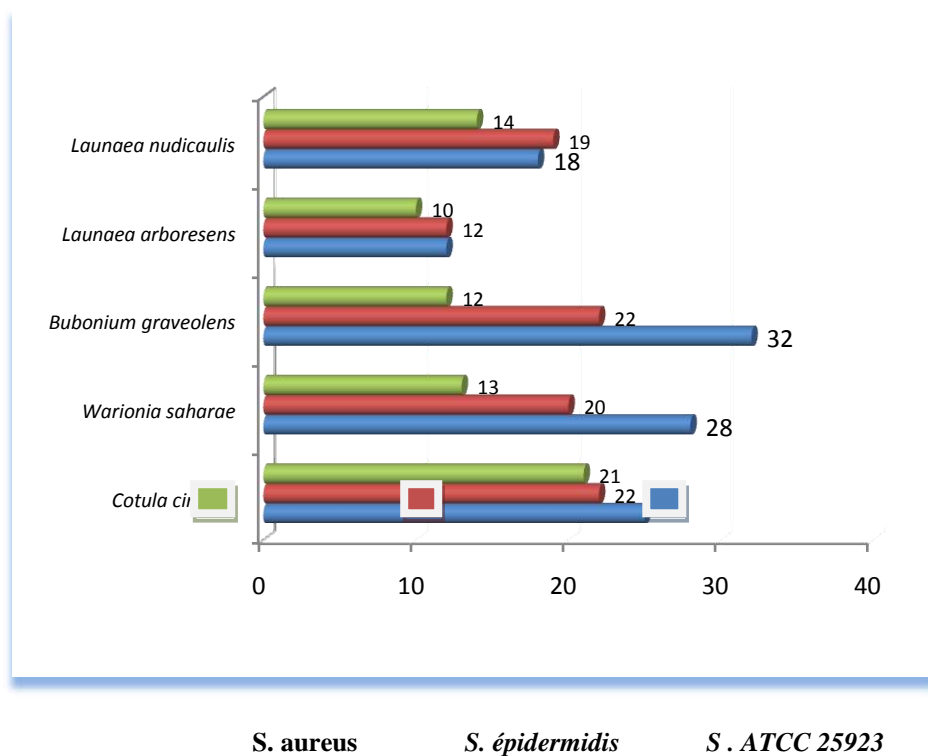


Fig n° IV.B.6 : Zones d'inhibition maximales obtenues par les extraits testés des plantes étudiées sur les souches nosocomiales du genre *Staphylococcus*

Les zones maximales d'inhibition exprimées contre les souches nosocomiales ont été montrées par

Cotula cinerea avec des valeurs de 22 mm à 21 mm pour *S. aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, suivi par *Bubonium graveolens* avec 22 mm pour *S.aureus* et seulement 12 mm pour *Staphylococcus epidermidis*.

Launaea arboresens a montré la plus petite des valeurs des zones d'inhibition maximale.

Les autres plantes ont montré des zones maximales d'inhibition avec des valeurs relativement rapprochées.

Concernant les souches de références, les zones d'inhibition maximales étaient relativement élevées pour l'ensemble des plantes étudiées.

IV.B.2.2.2. Activité de chaque extrait de différente nature sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées

Le tableau n° IV.B.7 présente les taux d'activité exprimés par les extraits de différente nature sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées.

Tableau n° IV.B.7 : Activité antibactérienne exprimée par les extraits de différentes natures sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus* testées

Nature d'extrait et souches de <i>Staphylococcus</i> nosocomiales	Taux d'activité des plantes étudiées	Zones d'inhibition (Z)			
		7<Z<11 %	11<Z<20 %	20<30 %	Z Max Mm
<i>Acétone</i>	60	58,33	25	16,66	21
<i>Acide chloridrique</i>	100	45	40	15	22
<i>Chloroforme</i>	50	40	60	00	19
<i>Dichlorométhane</i>	65	53,84	46,15	00	20
<i>Eau distillée</i>	55	63,63	36,36	00	14
<i>Ethanol</i>	90	55,56	33,33	11,11	21
<i>Ether de pétrole</i>	70	64,28	35,71	00	18
<i>Méthanol</i>	70	50	35,7	14,28	21

Les extraits ont montré des taux variables d'activité antinosocomiale avec le taux le plus élevé montré par l'extrait de l'acide chlorhydrique avec une valeur de 100% avec une zone d'inhibition maximale de 22mm suivi par les extraits éthanoliques avec un taux de 90% et une zone maximale de 21mm, les extraient méthanoliques avec un taux de 70% et une zone d'inhibition de 21mm, éther de pétrole 70% et 18mm, Dichlorométhane : 65% et 20mm Acétone : 60% et 21mm, Eau distillée : 55% et 14mm, Chloroforme : 50% et 19mm.

La répartition des zones d'inhibition obtenues pour chaque solvant utilisé est donnée par la figure n°IV.B.7.

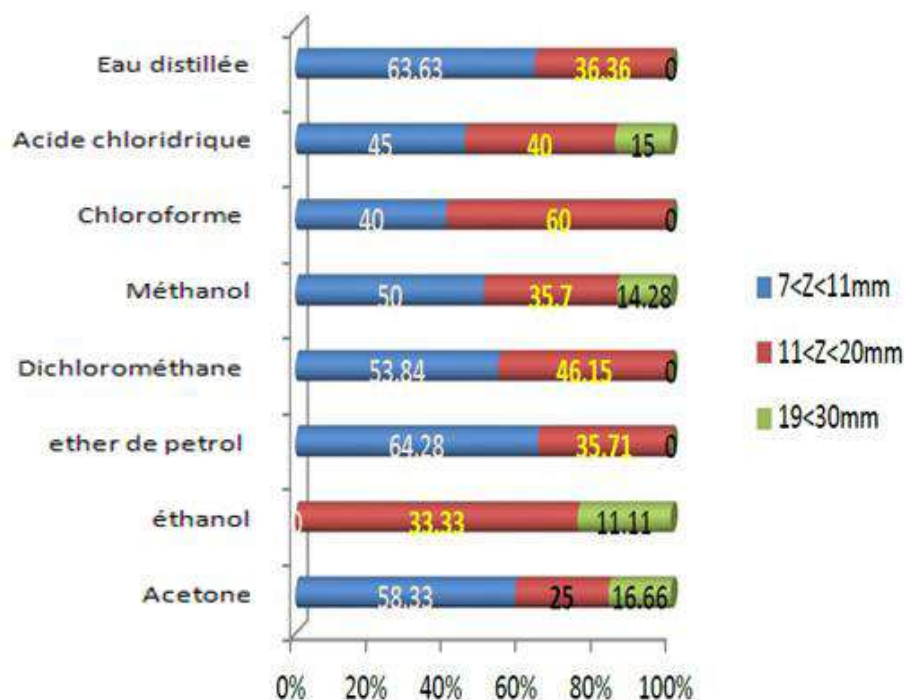


Fig n°IV.B.7 : Répartition des zones d'inhibition obtenues pour chaque solvant utilisé

Les extraits des plantes testés ont montré des taux d'activité variables vis-à-vis des souches nosocomiales testées:

L'extrait aqueux de l'acide chloridrique des taux de 45% qui ont montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 40% entre 11et 20mm, et 15% entre 19 et 22mm.

Pour l'extrait aqueux eau distillée un taux de 66,63% a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 36,36% entre 11et 14mm.

Pour le chloroforme un taux de 40% qui a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 60% entre 11et 19mm.

Pour le méthanol un taux de 50% a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 35,7% entre 11et 20mm, et 14,28% entre 19 et 21mm.

Pour le Dichloromethane un taux de 53,84% a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 46,15% entre 11et 20mm.

Pour l'éther de pétrole un taux de 64, 38% a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 35,71% entre 11et 18mm.

Pour l'éthanol un taux de 55,56% a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm et 33,33% ont montré des zones d'inhibition comprises entre 11 et 20mm et 11,11% entre 19 et 21mm.

Pour l'acétone un taux de 58,33% a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 25% entre 11 et 20mm et 16,66% entre 19 et 21mm.

Pour le chloroforme un taux de 40% a montré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 11mm, 60% entre 11 et 19mm.

IV.B.2.2.3. Taux de résistance des souches de *Staphylococcus* aux antibiotiques appartenant à diverses familles

Le tableau n° IV.B.8 présente les taux de résistance montrés par les souches nosocomiales du genre *Staphylococcus* vis-à-vis des familles d'antibiotiques testés selon :

- Les diamètres critiques recommandés par l'OMS [112].
- L'absence totale d'une zone d'inhibition (00mm) que nous avons interprété par une résistance totale.

On note que la souche de référence n'a montré aucune résistance aux antibiotiques testés et les zones montrées étaient dans les limites recommandées [112].

Par contre, les souches nosocomiales se sont montrées considérablement résistantes aux antibiotiques testés.

Les souches de *Staphylococcus aureus* ont montré une résistance avec un taux de 47,66% relatif aux valeurs limites des diamètres critiques spécifiques à *Staphylococcus aureus*. Mais seulement 27,18% ont montré une résistance totale avec absence de zones d'inhibition égale à zéro mm.

Les souches de *Staphylococcus epidermidis* ont montré une résistance avec un taux de 32,99 % relatif aux valeurs limites des diamètres critiques spécifiques.

Staphylococcus aureus. Seul 23,81% ont montré une résistance totale avec absence de zones d'inhibition égale à zéro mm.

Les deux espèces du genre de *Staphylococcus* testées ont montré un taux de résistance de 40,26 % relatif aux valeurs limites des diamètres critiques et 27,74% ont montré une résistance totale avec absence de zones d'inhibition égale à zéro mm.

Staphylococcus aureus a montré une résistance à la plus part des familles d'antibiotiques testés. Ces résultats corroborent avec ceux de Borg, A and *al* [191,192] *Staphylococcus epidermidis* a montré une résistance marquée aux β lactamines. Ces résultats corroborent avec ceux de Fass, R. J and *al* [193,194].

Tableau n° IV.B.8 : Taux de résistance aux familles d'antibiotiques testés

Familles d'antibiotiques	<i>S.aureus</i> ATCC 25923 * Diamètres des souches du control interne (mm)	Taux de Resistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>		Taux de Resistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i>		Taux de Resistance de l'ensembles des souches testées	
		*résistance avec Diamètres Critiques	** Résistance Totale	*résistance avec Diamètres Critiques	** Résistance Totale	*résistance avec Diamètres Critiques	** Résistance Totale
Aminosides	21 - 29	25	8,14	33,33	00	28,57	04,07
β lactamines	24 - 36	88,88	14,75	66,66	44,43	77,77	51,84
Fosfomycine	27 - 31	00	00	00	00	00	00
Macrolides-Lincosamides-Streptogramin (MLS)	24 - 29	100	25	00	00	50	12,5
Phenicol	19 - 26	00	00	00	00	00	00
Polyptides	17 - 20	46,33	27,96	30,33	3,26	38,33	13,60
Quinolones	17 - 21	00	00	00	00	00	00
Sulfamides	27 - 30	68,75	68,75	66,66	66,66	67,70	67,70
Tetracyclines	25 - 28	100	100	100	100	100	100
% Résistance Globale	00	47,66	27,18	32,99	23,81	40,26	27,74
<p>*Calcul des taux de résistance relatifs aux valeurs limites des diamètres critiques spécifiques à <i>Staphylococcus</i> [112], ** Calcul des taux de résistance pour des zones d'inhibition égale à zéro (oomm)</p>							

IV.B.2.2.4. Etude comparative de l'activité antibactérienne des extraits aqueux des *Astéraceae* étudiées et d'un ensemble d'antibiotiques usuels appartenant à différentes familles

Dans ce volet, nous avons établi, à partir des résultats obtenus, une étude comparative entre les taux de résistance montrés par les souches de *Staphylococcus* testées vis-à-vis des antibiotiques et des extraits des plantes étudiées. Voir figure n° IV.B.8 .

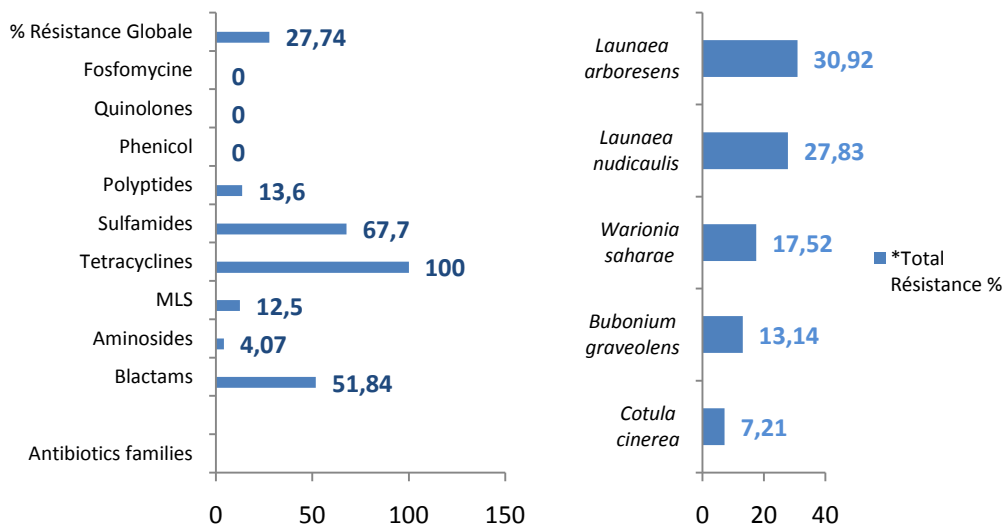


Fig n° IV.B.8 : Taux de résistance des souches nosocomiales du genre *Staphylococcus* montrés vis-à-vis de l'ensemble des familles d'antibiotiques testées et des extraits des *Asteraceae* étudiées.

Les souches de *Staphylococcus* testées ont montré une résistance relativement élevée aux tétracyclines, sulfamides et aux β lactamines avec des taux successifs de 100%, 67,70% et 51,84 %, tandis que les taux de résistances montrés vis-à-vis des extraits des plantes étudiées étaient relativement réduits avec des valeurs comprises 30,92% concernant *Launaea arboresens* et seulement un taux de 07, 21% pour *Cotula cinerea* qui s'est montré très active sur les souches nosocomiales de *Staphylococcus* testées.

IV.B.2.2.5. masses minimales inhibitrices des différents extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches du genre *Staphylococcus*

L'étude de la masse minimale inhibitrice a concerné uniquement les extraits aqueux des plantes étudiées.

Les résultats obtenus ont montré des masses minimales inhibitrices avec des valeurs variables comprises entre $0.4 \cdot 10^{-3}$ g/disque et 10^{-3} g/disque que nous présentons par le tableau n° IV.B.9 .

Tableau n° IV.B.9 : Masse minimale inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches du genre *Staphylococcus*

Souches de <i>Staphylococcus</i> nosocomiales et Asteraceae	masse minimale inhibitrice x 10 ⁻³ g / disque		
	<i>S. aureus</i> ATCC	<i>S. aureus</i> <i>noso</i>	<i>S. epidermidis</i>
<i>Bubonium graveolens</i>	1	1	1
<i>Cotula cinerea</i>	0.4	0.8	0.5
<i>Launaea arborescens</i>	1	1	0.9
<i>Launaea nudicaulis</i>	1	1	1
<i>Warionia saharae</i>	0.6	0.9	0.7

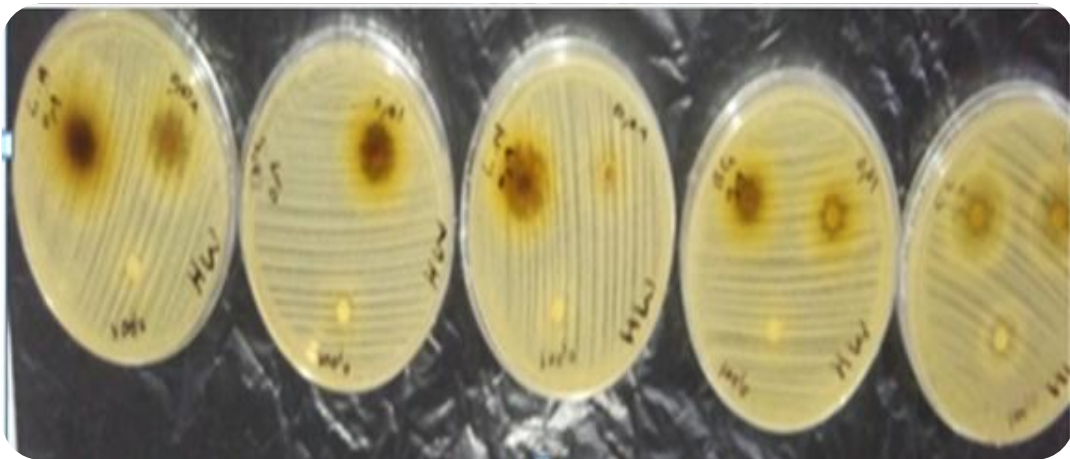


Photo n° IV.B.2 : Illustration des résultats obtenus pour la masse minimale inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches du genre *Staphylococcus*

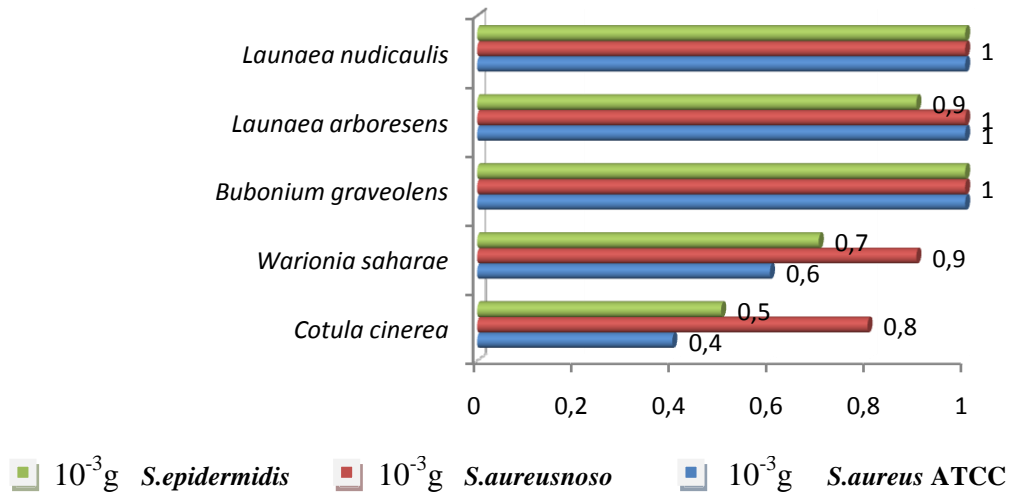


Fig n° IV.B.9 : masse minimale Inhibitrice des différents extraits aqueux des plantes étudiées

Les plantes testées ont présenté des masses minimales inhibitrices comprises entre 1.10^{-3} g et 4.10^{-4} g.

Cotula cinerea a montré la plus petite valeur des masses minimales inhibitrices mise en évidence de 4.10^{-4} g suivi par *Warionia saharae* avec une masse de 7.10^{-4} g. *Launaea arborescens* avec une masse de 9.10^{-4} g le reste des plantes avec la masse de 1.10^{-3} g.

IV.B.2.3. Effet des extraits aqueux des plantes étudiées sur des souches nosocomiales fongiques

Afin de mettre en évidence l'effet antifongique des extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches nosocomiales, nous avons constitué une collection de souches fongiques prélevées auprès des environnements hospitaliers investigués, choisit pour leur intérêt médical et qui sont: *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

VI.B.2.3.1. Résultats de l'évaluation de l'effet antifongique des extraits aqueux sur des souches nosocomiales d' *Aspergillus flavus*

Nous avons soumis l'ensemble des moisissures testées à une gamme de concentrations des extraits aqueux des plantes étudiées afin d'évaluer :

- 1- Les rythmes moyens de croissance des colonies fongiques obtenues.
- 2- Taux de l'effet antifongique

Le rythme de croissance est calculé selon la formule suivante: $R_c = T_{j+1} - T_j$

R_C : Rythme de croissance exprimé en mm /24h

T_j : Taille de la colonie fongique dans un délai déterminé

T_{j+1} : Taille de la colonie fongique dans le délai déterminé + 24h d'incubation supplémentaire.

à partir du troisième jour J_3 jusqu'au septième jour J_7

Les concentrations choisies se présentent comme suit: -

- 0,15 g / Boite de Pétri de 15ml de gélose = 0.01g / ml = 10 mg/ml

- 0,30 g/ Boite de Pétri de 15ml de gélose = 0.02g / ml = 20 mg/ml

- 0,60 g/ Boite de Pétri de 15ml de gélose = 0.04g / ml = 40 mg/ml

Ces dernières se sont montrées dans l'ensemble actives sur les souches d'*Aspergillus* testées.

La figure n° IV.B.10 présente les rythmes moyens de croissance.

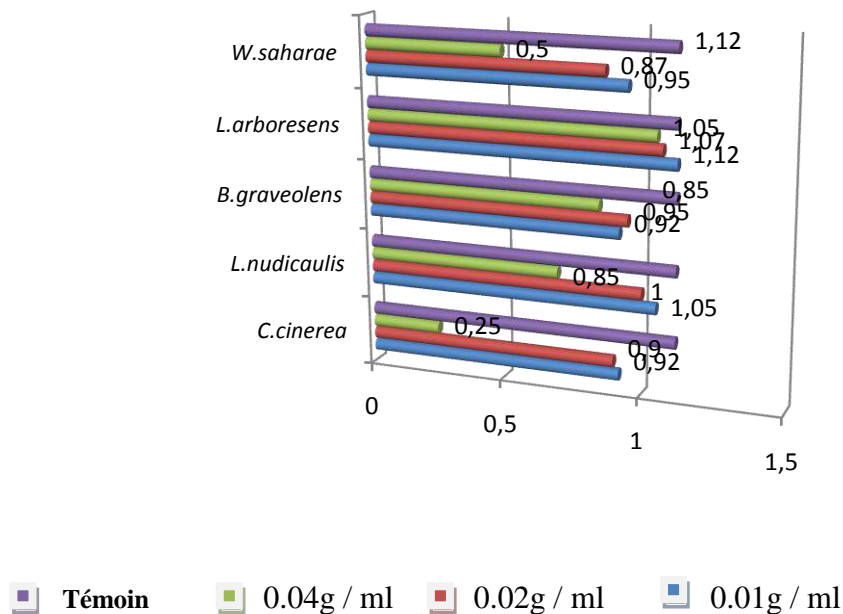


Fig n° IV.B.10 : Moyenne du Rythme De croissance par mm / 24h des souches nosocomiales d'*Aspergillus flavus* avec différentes concentrations des extraits aqueux des Asteraceae étudiées

Nous constatons que le rythme de croissance est réduit en présence des concentrations des extraits aqueux selon une relation inversement proportionnelle.

On note que le rythme de croissance le plus réduit est obtenu pour l'extrait aqueux de *C. cinerea* avec une valeur de 0.25mm/24h suivi par *Warionia saharae* 0,5mm/24h, *L.nudicaulis* 0,7 mm/24h, *B. graveolens* 0,85mm/24h et par *L. arboresens* 1,05 mm/24h, l'ensemble par rapport à un rythme moyen exprimé par les souches témoins d'*Aspergillus flavus* de 1,12mm/24h.

Les Taux d'inhibition fongique, Diamètre moyen des colonies et Moyenne du Rythme De croissance (mm / 24h) pour la concentration 0.04g / ml sont présentés dans le tableau n° IV.B.10 .

Tableau n° IV.B.10 : Effet antifongique vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce *Aspergillus flavus* : Taux d'inhibition fongique, Diamètre moyen des colonies et Moyenne du Rythme De croissance mm / 24h pour la concentration 0.04g / ml

<i>Aspergillus Flavus</i> en présence de la concentration 0.04g / ml							
Délais de croissance		J3	J4	J5	J6	J7	Rythmes moyens De croissance mm/24h et Taux moyens d'inhibition fongique
Diamètre de la souche témoin		3,4	4,4	5,8	6,9	7,9	/
Moyenne du Rythme De croissance mm/24h		/	1	1,4	1,1	1	1,12
<i>B. graveolens</i>	Diamètre moyen des colonies	1,7	2,3	3,7	4,6	5,4	/
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h	/	0,6	1,2	0,9	0,8	0,87
	Taux d'inhibition fongique	50	47,7 2	36,2 0	33,3 3	31,6 4	39,77
<i>Cotula cinerea</i>	Diamètre moyen des colonies	0,9	1,1	1,3	1,5	2,9	/
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h	/	0,2	0,2	0,2	0,4	0,25
	Taux d'inhibition fongique	73,5 2	75	77,5 8	78,2 6	63,2 9	73,53
<i>L. nudicaulis</i>	Diamètre moyen des colonies	1,9	3,5	5,4	5,8	6,4	/
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h	/	0,6	1,4	0,4	1,4	0,95
	Taux d'inhibition fongique	44,1 1	20,4 5	6,89	15,9 4	18,9 8	21,27
<i>L. arboresens</i>	Diamètre moyen des colonies	2	2,9	4,1	5,4	6,8	/
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h	/	0,7	0,8	1,3	1,4	1,05
	Taux d'inhibition fongique	41,1 7	34,0 9	29,3 1	21,7 3	13,9 2	28,04
<i>W. saharae</i>	Diamètre moyen des colonies	1,4	1,8	2,3	2,9	3,1	/
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h	/	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5
	Taux d'inhibition fongique	58,8 2	59,0 9	60,3 4	57,9 7	60,7 5	59,39

La figure n° IV.B.11 présente les taux moyens d'inhibition fongique exprimé par chaque plante vis-à-vis d'*Aspergillus flavus*:

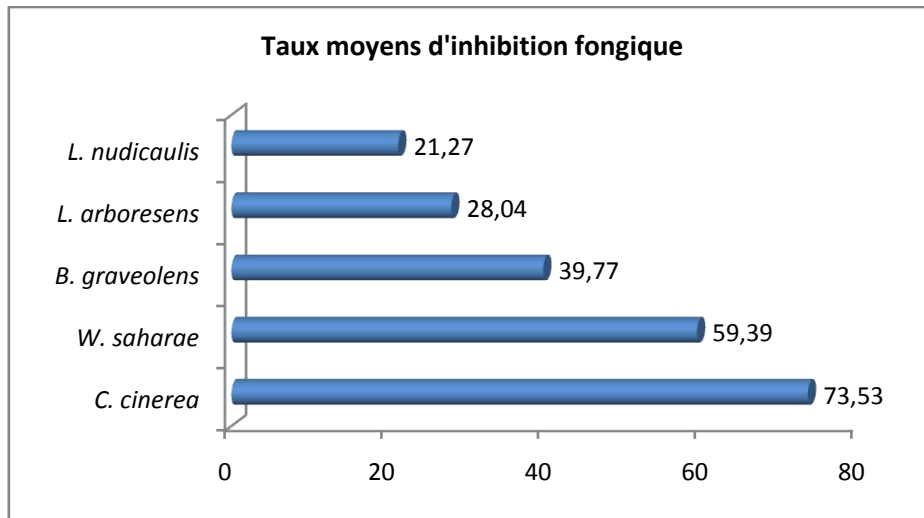


Fig n° IV.B.11 : Taux moyens de l'effet antifongique des extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis des souches d'*Aspergillus flavus* testées [0.04g / ml]

On constate que le taux d'inhibition fongique, ayant réduit au maximum le rythme de croissance ainsi que la taille des colonies obtenus après 7 jours d'incubation, a été montré par *Cotula cinerea* avec une valeur de 73,53% et une taille finale de 2,9mm, suivi par *Warionea saharae* 59,39% et 3,1mm, *Bubonium graveolens* 39,77% et 5,4mm, *L.arboresens* 28,04 et 6,8mm; *L. nudicaulis* 21,27% et 6,4mm.

VI.B.2.3.2. Résultats de l'effet antifongique des extraits aqueux vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce *Aspergillus niger*

Afin d'évaluer l'effet antifongique des extraits aqueux des plantes étudiées, nous avons eu recours aux paramètres suivants :

- Diamètre moyen des colonies,
- Moyenne du Rythme De croissance estimé en mm / 24h,
- Calcul du Taux d'inhibition fongique.

Ces derniers sont consignés dans le tableau n° IV.B.11.

Tableau n° IV.B.11 : Effet antifongique vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce *Aspergillus niger* : Taux d'inhibition fongique, Diamètre moyen des colonies et Moyenne du Rythme De croissance mm/24h pour la concentration 0,04 g/ml

<i>Aspergillus niger</i> en présence de la concentration 0,04g/ml							
Délais de croissance		J3	J4	J5	J6	J7	Rythmes moyens De croissance mm/24h et Taux moyens d'inhibition fongique
Diamètre de la souche témoin		3,5	4,5	5,5	7	8,2	
Moyenne du Rythme De croissance mm/24h			1	1	1,5	1,2	1,17
<i>B. graveolens</i>	Diamètre moyen des colonies	3	3,6	4,1	5,2	6,2	
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h		0,6	0,5	1,1	1	0,8
	Taux d'inhibition fongique	14,28	20	25,45	25,71	24,39	21,96
<i>C. cinerea</i>	Diamètre moyen des colonies	0,9	1,1	1,4	1,8	2,5	
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h		0,2	0,3	0,4	0,7	0,4
	Taux d'inhibition fongique	74,28	75,55	74,54	74,28	69,51	73,63
<i>L. nudicaulis</i>	Diamètre moyen des colonies	2,6	3,1	4,3	4,6	5,3	
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h		0,5	1,2	0,3	0,7	0,67
	Taux d'inhibition fongique	25,71	31,11	21,81	34,28	35,36	29,65
<i>L. arboresens</i>	Diamètre moyen des colonies	3,1	3,9	4,4	6,1	7,3	
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h		0,8	0,5	1,7	1,2	1,05
	Taux d'inhibition fongique	11,42	13,33	20	12,85	10,97	13,71
<i>W. saharae</i>	Diamètre moyen des colonies	0,5	1,5	2,5	3,1	3,4	
	Moyenne du Rythme De croissance mm/24h		1	1	0,6	0,3	0,72
	Taux d'inhibition fongique	85,71	66,66	54,54	55,71	58,53	64,23

La figure n° IV.B.12 présente les taux moyens d'inhibition fongique exprimé par chaque plante vis-à-vis d'*Aspergillus niger*:

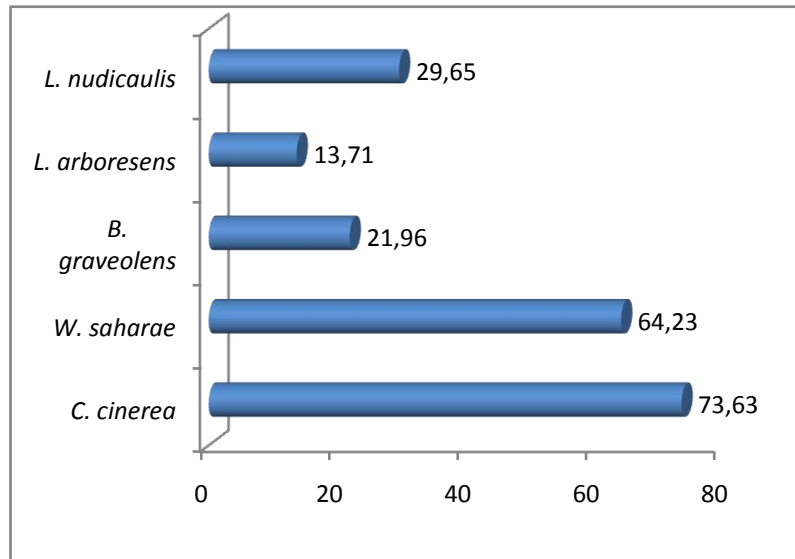


Fig n° IV.B.12 : Taux moyens d'inhibition fongique exprimé par chaque plante vis-à-vis d'*Aspergillus niger*

On constate que le taux d'inhibition fongique, ayant réduit au maximum le rythme de croissance ainsi que la taille des colonies obtenus après 7 jours d'incubation, a été à été variable pour l'ensemble des plantes étudiées on à obtenu :

Pour l'extrait aqueux de *Cotula cinerea* un taux d'inhibition fongique avec une valeur de 73,63% et une taille finale de la colonie fongique de 2,5mm.

Pour *Warionea saharae* un taux d'inhibition fongique avec une valeur de 64,23% et une taille finale de la colonie fongique de 3,4mm.













Pour *Bubonium graveolens* un taux d'inhibition fongique avec une valeur de 21,96% et une taille finale de la colonie fongique de 6,2mm,

Pour *L.arboresens* un taux d'inhibition fongique avec une valeur de 13,71% et une taille finale de la colonie fongique de 7,3mm;

Pour *L. nudicaulis* un taux d'inhibition fongique avec une valeur de 29,65% et une taille finale de la colonie fongique de 5,3m

Le Tableau n°IV.B.12 : Illustrations des tailles des colonies obtenues en présence des différents extraits aqueux des plantes étudiées : J7 concentration 0,04mg / ml.

Tableau n°IV.B.12 : Illustrations des tailles des colonies obtenues en présence des différents extraits aqueux des plantes étudiées : J7 concentration 0,04mg / ml

plantes	Taille Jour7 mm	<i>Aspergillus niger</i>	Taille Jour7 mm	<i>Aspergillus flavus</i>
Témoin	8,2		7,9	
<i>L. arborescens</i>	7,3		6,8	
<i>L. nudicaulis</i>	5,3		6,4	
<i>B. graveolens</i>	6,2		5,4	
<i>W. saharae</i>	3,4		3,1	
<i>C. cinerea</i>	2,5		2,9	

VI.B.2.3.3. Effet antifongique et masses minimales inhibitrices exprimées par les extraits aqueux des plantes étudiées vis-à-vis de souches nosocomiales du genre espèce *Candida albicans*

a] *Candida albicans* et antifongiques usuels

Les antifongiques usuels testés ont exprimé des zones d'inhibition avec des diamètres variables vis-à-vis des souches fongiques nosocomiales du genre espèce *Candida albicans*, allant de Nulle, Réduite, Moyenne à Grande.

Les résultats obtenus des tests de l'antifongigramme figurent dans le tableau n°IV.B.13.

Tableau n°IV.B.13 : Activité exprimée par l'amphotéricine B et le fluconazole vis-à-vis des souches nosocomiales de *Candida albicans*

Antifongiques	Charge du disque µg	Zones d'inhibition <i>C.albicans</i> ATCC 10231 mm	Zones d'inhibition maximale <i>C.albicans</i> nosocomiaux Mm	Taux d'activité %	Résistance totale 00mm %
Amphotéricine B	100	15	12	70	20
Fluconazole	25	29	23	80	20

Le taux d'activité du fluconazole vis-à-vis des souches de *C. albicans* s'est montré légèrement supérieur à celui de l'amphotéricine B avec un taux de 80% contre 70% .

Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition obtenues étaient nettement supérieures pour le fluconazole qui a atteint un maximum de 23mm contre un diamètre maximal de 12mm atteint pour l'amphotéricine B.

Par contre les zones d'inhibition montrées par ces mêmes antifongiques étaient notablement plus grandes avec des zones maximales respectives de 15 mm et 29mm pour la souche de référence *C. albicans* ATCC 10231.

Un taux de 20 % des souches nosocomiales de *Candida albicans* a montré une résistance totale avec des zones d'inhibition nulles de 00 mm vis-à-vis des deux antifongiques usuels testés.

D'une manière globale si on considère les diamètres des zones d'inhibition obtenues et les taux d'activité obtenus, on peut conclure que le fluconazole est plus actif que l'amphotéricine B sur les *C. albicans* nosocomiaux testés.

b] Activité des extraits aqueux des plantes étudiées sur les souches de *Candida albicans* testées

Le tableau n° IV.B.14 regroupe les taux d'activité et zones d'inhibition montrées par les extraits aqueux des plantes testées vis-à-vis des souches nosocomiales de *Candida albicans*.

Tableau n° IV.B.14 : Taux d'activité et zones d'inhibition montrées par les extraits aqueux des plantes testées vis-à-vis des souches nosocomiales de *Candida albicans*

Plantes et <i>C.albicans</i> nosocomiaux	Zones d'inhibition maximale (mm)	Taux d'activité %
<i>Launaea nudicaulis</i>	21	80
<i>Warionia saharae</i>	23	70
<i>Bubonium graveolens</i>	15	50
<i>Cotula cinerea</i>	29	60
<i>Launaea arboresens</i>	13	30

Cotula cinerea fut active sur les souches fongiques nosocomiales testées avec un taux de 60% avec des zones d'inhibition maximales de 29mm.

Launaea nudicaulis fut active sur les souches fongiques nosocomiales testées avec un taux de 80% avec des zones d'inhibition maximales de 21mm.

Warionia saharae fut active sur les souches fongiques nosocomiales testées avec un taux de 70% avec des zones d'inhibition maximales de 23mm.

Bubonium graveolens a aussi montré une zone d'inhibition de 15mm et s'est montré active sur 50% des souches fongiques testées.

Par contre, *Launaea arboresens* a montré des zones maximale de 13mm avec un taux d'activité réduit relativement aux taux obtenus pour les autres plantes testées de 30%.

REMARQUE : Vue la faible activité antibactérienne et antifongique démontré par *Launaea arboresens* relative à son utilisation accrue pour des fins thérapeutiques multiples tel que diarrhées aiguës des nourrissons et pour lesquelles elle donne des résultats spectaculaires, on a approfondis notre enquête concernant cette plante.

Il nous a été révélé par l'enquête supplémentaire effectuée que l'usage de la plante n'est pratiqué que tôt le matin ou tard l'après midi, plus précisément juste avant la tombée de la nuit.

De ce fait, nous avons corrélié avec le facteur température utilisée pour la réalisation de l'extraction, sur ce, nous avançons l'existence d'une action réductrice de l'effet de la température élevé sur l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait aqueux de *Launaea arboresens* qui reste à être explorée minutieusement.

c] Résultats des masses minimales inhibitrices obtenues pour les différents extraits aqueux vis-à-vis de *Candida albicans*

Les masses minimales inhibitrices des extraits aqueux des plantes étudiées étaient variables avec des valeurs comprises entre 0.65 mg/disque et 1.5mg / disque, que nous présentons dans le tableau suivant.

Le tableau n°IV.B.15 résume les résultats des masses minimales inhibitrices obtenues pour l'ensemble des extraits aqueux des plantes étudiées

Tableau n°IV.B.15 : masses minimales inhibitrices obtenues pour l'ensemble des extraits aqueux des plantes étudiées exprimées vis-à-vis des souches nosocomiales de *Candida albicans*

Plantes	Masse minimale inhibitrice <i>C.albicans</i> mg/par disque
<i>B. graveolens</i>	0.95
<i>C. cinerea</i>	0.65
<i>L. nudicaulis</i>	1.5
<i>L. arboresens</i>	1.5
<i>W. saharae</i>	0.90

Les plus petites masses minimales inhibitrices on été montrées par *Cotula cinerea* avec une valeur de 0.65mg, *Warionia saharae* avec une valeur de 0.90 mg, *Bubonium graveolens* 0.95 mg, *Launaea nudicaulis* et *Launaea arboresens* ont montré la valeur de CMI la plus élevée relativement aux valeurs données par les autres plantes étudiées qui est de 1.5mg par disque testé.

Les illustrations de quelques résultats des masse minimale inhibitrice obtenues pour les différents extraits aqueux vis-à-vis des souches nosocomiales de *Candida albicans* sont présentés par la photo n° IV.B.3.

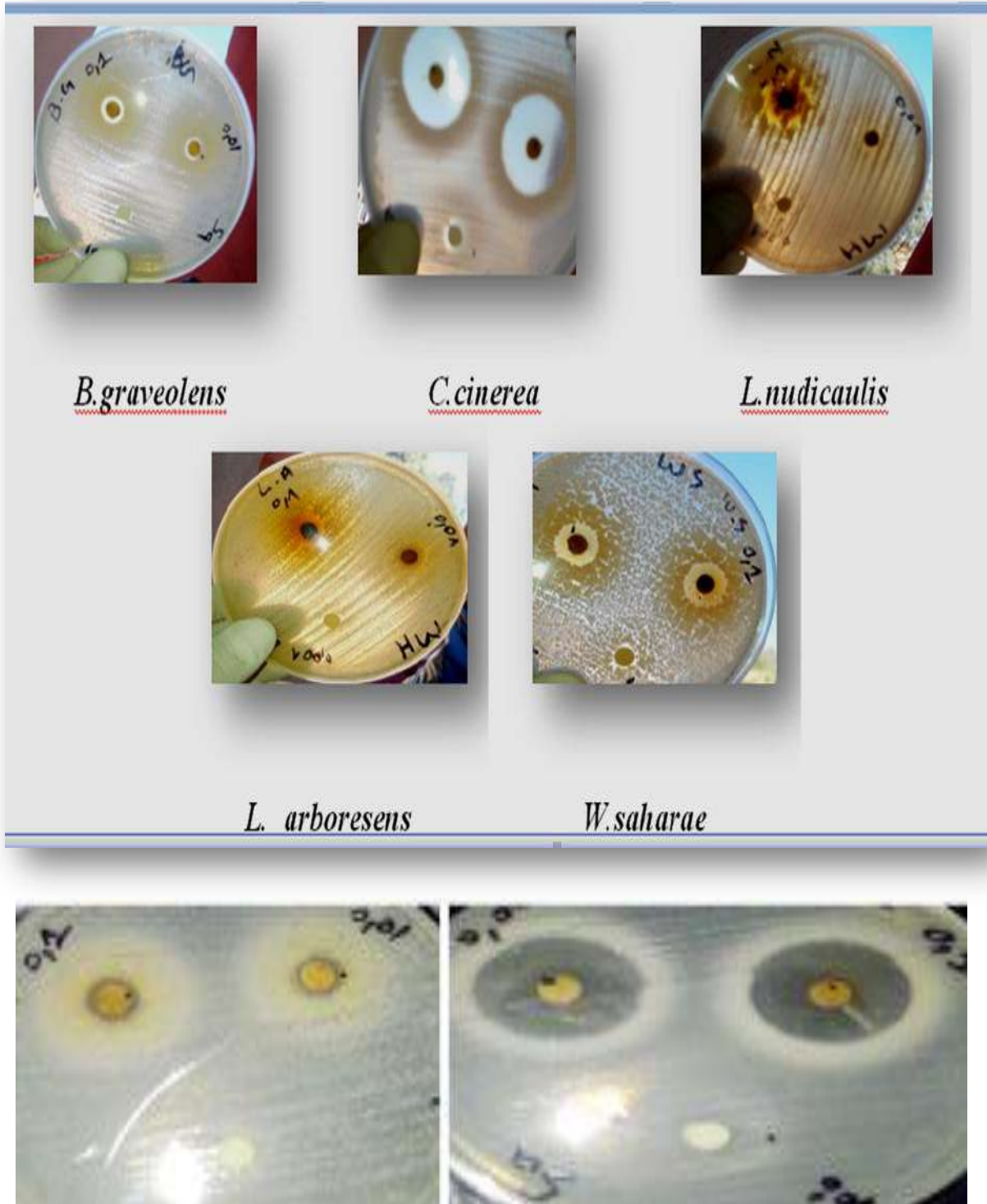


Photo n° IV.B.3: Résultats des masse minimale inhibitrice obtenues pour les différents extraits aqueux vis-à-vis de souches nosocomiales de *Candida albicans*

IV.B.3. Résultats du fractionnement et purification des extraits aqueux des plantes étudiées

Les extraits aqueux des plantes étudiées ont été soumis à un fractionnement qui vise à l'obtention de fractions chromatographiques afin d'en étudier l'activité antibactérienne et antifongique.

Nous évoquerons uniquement les résultats relatifs aux fractions bioactives confirmées. Ces dernières feront ultérieurement l'objet de caractérisation chimique.

IV.B.3.1. Résultat du control de la pureté des fractions chromatographiques obtenues par chromatographie sur couche mince (CCM) et par chromatographie liquide à haute performance HPLC

Les résultats du control de la pureté des fractions chromatographiques obtenues, par chromatographie sur couche mince, sont répertoriés dans le tableau n° IV.B.16.

Tableau n° IV.B.16 : Résultat du control de la pureté des fractions obtenues par chromatographie sur couche mince (CCM)

Plantes	Nombre de Fraction pures	N° des flacons	Numéro des Fractions purifiées	Nombre de spot	Couleur	Rf
<i>Cotula cinerea</i>	4	1-9	24	1	Bleu	1,08
		10-40	25	1	bleu-vert	1,06
		61-98	26	1	Bleu	1,09
		190-220	27	1	Bleu	0,83
<i>Bubonium graveolens</i>	2	265-300	23	1	Bleu	1,09
		160-180	21	1	Bleu	1,03
<i>Warionea Saharæ</i>	3	34-67	2	1	Bleu	0,40
		70-112	3	1	Bleu	0,26
		195-238	4	1	Bleu	0,12
<i>Launea naudicaulis</i>	2	5-60	7	1	Bleu	0,92
		62-104	8	1	Bleu	0,90
<i>Launea arboresens</i>	3	10-55	13	1	Bleu	1,06
		110-155	5	1	Bleu	0,97
		1-10	12	1	Bleu	0,94

Le control de la pureté des fractions obtenues a été, dans un premier temps, effectué par le biais de la chromatographie sur couche mince avec l'éluant méthanol / acétate d'éthyle volume à volume (1/1).

Nous avons retenu les fractions ayant présenté un unique spot, les fractions présentant des Rf identiques sont assemblées. Nous avons obtenu un ensemble de 14 fractions purifiées qui ont présenté des Rf compris entre 0.12 et 1.09.

Afin de contrôler la pureté des fractions collectées, nous avons eu recours à la HPLC. Ainsi Les résultats du control de la pureté des fractions obtenues, par chromatographie liquide à haute performance, sont présentés par le tableau n° IV.B.17.

Tableau n° IV.B.17 : Résultats obtenus pour les analyses par chromatographie par chromatographie liquide à haute performance HPLC

Plantes	Numéro des Fractions purifiées	Temps de rétention	Aire	Hauteur
<i>Cotula cinerea</i>	24	6,143	90,875	95 ,482
	25	7,544	76,619	92,154
	26	6,106	91,258	96,525
	27	7,488	91,212	93,864
<i>Bubonium graveolens</i>	23	7,616	85,531	91,146
	21	7,524	86,018	85,522
<i>Warionea Saharae</i>	2	7,592	96,933	98,420
	3	6,229	97,627	98,743
	4	6,100	95,102	97,504
<i>Launeae naudicaulis</i>	7	6,213	94,658	96,634
	8	6,138	95,100	97,294
<i>Launeae arboresens</i>	13	7,608	76,619	89,412
	5	7,691	95,468	96,781
	12	7,605	86,485	91,781

Les Chromatogrammes des fractions bioactives obtenues par fractionnement figurent en **annexe n° 9**.

L'analyse HPLC a montré , pour chaque fraction, un seul pic majoritaire avec une aire comprise entre 95,100% et 97,627% pour 35,71 % des pics obtenus , entre 90,875% et 94,658%, pour 28,57 % des pics obtenus entre 85,531% et 86,485% pour 21,42% des pics obtenus et entre 76,619% et 76,619%, pour 14,28% des pics obtenus ce qui nous amène à conclure que les fractions chromatographiques obtenues sont relativement pures [195].

L'ensemble des fractions ont été soumises aux mêmes conditions opératoires ; les valeurs des temps de rétention obtenus étaient plus ou moins rapprochées, elles étaient comprises entre 6,100 mn et 7, 691mn. Ce qui nous amène à conclure que nous sommes probablement en présence de molécules de polarité et de nature chimique relativement voisine, notamment sur le plan de polarité [196 ,197].

Ces dernières ont présenté des hauteurs comprises entre 73,616 % -- 90%, pour 13,33% des pics obtenus et des hauteurs comprises entre 91,781% et 98,783% pour 86,66% des pics obtenus pour les fractions obtenues.

IV.B.3.2. Résultats de l'évaluation de l'effet antifongique et antibactérien des fractions chromatographiques contrôlées

Nous présentons dans le tableau n° IV.B.18 les résultats obtenus pour les fractions chromatographiques ayant présenté un effet antifongique et/ou antibactérien ainsi que les diamètres des zones d'inhibition montrées par ces dernières.

Nous présentons simultanément les résultats des valeurs λ max obtenues par analyses UV dans le but d'établir une éventuelle corrélation avec la nature de l'effet exprimé : antifongique ou antibactérien que nous évoquerons avec l'interprétation des résultats présentés.

Tableau n° IV.B.18 Etude comparative de l'effet antifongique et antibactérien des fractions purifiées

Plantes OK	Nombre de composés purs isolés	Numéro des Fractions purifiées N°	Effet antimicrobien*	Zones d'inhibition mm B / F	λ max
<i>Cotula cinerea</i>	4	24	BF	9,5 / 9	300
		25	BF	12 / 15	325
		26	BF	6,1 / 10	300
		27	F	0 / 8	350
<i>Bubonium graveolens</i>	2	23	F	0 / 9	340
		21	B	10 / 0	350
<i>Warionea Saharae</i>	3	2	B	6,2 / 0	340
		3	F	0 / 14	280
		4	BF	6,1 / 7,5	280
<i>Launaea naudicaulis</i>	2	7	F	0 / 12	280
		8	F	0 / 8,5	280
<i>Launaea arboresens</i>	3	13	BF	7 / 8	325
		5	BF	6,3 / 14	330
		12	BF	6,1 / 8	330
* B: Effet antibactérien unique **F: Effet antifongique unique ***BF: Effet antibactérien et antifongique couplés					

D'après les résultats obtenus, nous avons réparti les fractions pures testées en trois catégories, à savoir fractions à effet antibactérien et antifongique simultanés ou couplés, fractions à effet antibactérien unique et fraction à effet antifongique unique.

Nous avons noté une certaine corrélation entre l'effet montré et la longueur d'onde maximale obtenue.

Les composés issues de *Cotula cinerea* sont à 25% à effet antifongique unique et à 75% à effet antibactérien et antifongique couplés, présentant des λ max variables entre 280nm et 350nm.

A partir de *Launaea arborescens*, nous avons isolé 3 composés avec des valeurs λ max de 325nm et 300nm et dont l'effet été à 100% antibactérien et antifongique couplé.

Trois autres composés furent à leur tour isolé à partir de *warionia saharae* avec λ max de 280 et 340nm et dont l'effet est à 33,33 % Antibactérien unique 33,33% antifongique unique et 33,33% antibactérien et antifongique couplé.

Bubonium graveolens a révélé la présence de deux composés à 50% antibactérien unique et 50% antifongique unique tandis que *Launaea naudicaulis* a révélé la présence de deux composés à 100% à effet antifongique uniquement.

Les Zones d'inhibition montrées par l'ensemble des composés testés étaient comprises entre 6,1 mm et 12mm pour l'effet antibactérien tandis que celles montrées pour l'effet antifongique étaient comprises entre 8mm et 15mm.

La manifestation simultanée, des deux effets antibactérien et antifongique, a été noté avec un taux de 100% pour les composés ayant présenté les valeurs λ max comprises entre 300 et 330. Les composés ayant des λ max égales à 280nm ont montré uniquement l'effet antifongique tandis que l'effet antibactérien unique ne s'est manifesté que par les fractions ayant présenté des valeurs λ max égale à 340 et 350nm.

IV.B.3.3. Caractérisation chimique de fraction chromatographique bioactive obtenue

La caractérisation chimique à été réalisée par analyses spectrales infrarouges et ceux de la résonance magnétique RMN ^1H et RMN ^{13}C .

Nous avons aboutis à la caractérisation chimique de la fraction chromatographique ayant manifesté simultanément l'effet antibactérien et antifongique vis-à-vis de *S.aureus* et *C. albicans*; Cette dernière est issue de l'extrait aqueux de *Launaea arborescens* qui est la fraction n°13.

IV.B.3.3.1. Caractérisation chimiques de la fraction bioactive *La13_{BF}*

a] Analyses spectrales infrarouge : Fraction bioactive *La13_{BF}*

La fraction fut codée *La13_{BF}* avec ***La*** pour *Launaea arborescens*, **13** pour numéro initial de la fraction et ***BF*** pour effet antibactérien et antifongique.

Le spectre obtenu par analyse infrarouge de la fraction bioactive *La13_{BF}* est présenté par la figure n° IV.B.13.

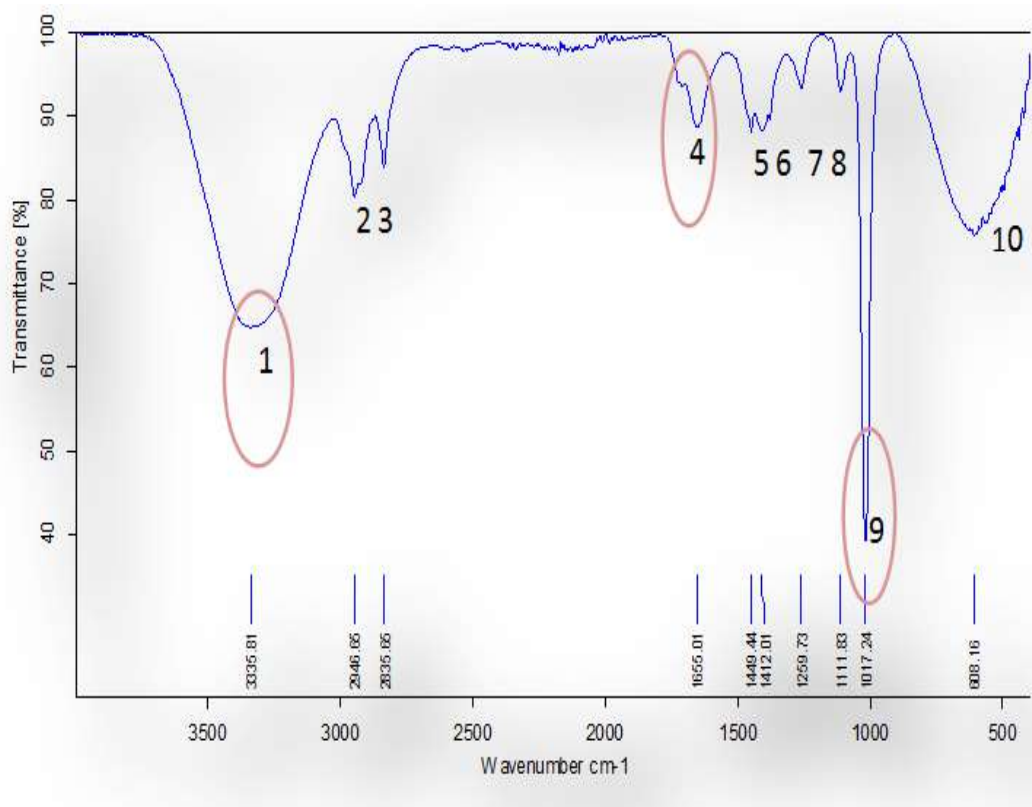


Fig n° IV.B.13 : Spectre obtenu par analyse infrarouge de la fraction bioactive *La13_{BF}*

Les attributions léguées aux bandes d'absorptions montrées par le spectre obtenu par analyse infrarouge sont consignées dans le tableau n° IV.B.19.

Tableau n° IV.B.19 : Attributions des bandes d'absorptions obtenues par le infrarouge de la fraction bioactive *La13_{BF}*

Vibration de valence Cm⁻¹	3335	2946	1656	1412	1259	1111	1017	608	
Atribution	N-H Moyenne et large	C-H	C=O	C-O-H	N-O	C-N	C-O	N-C=O amides δ large	C-O-H Ac.c δ hors plan

Le spectre obtenu par analyse spectrale infrarouge a montré les bandes suivantes :

Bande 1 :

Les vibrations de valence obtenues à 3335 cm^{-1} ont montré une bande d'absorption moyenne et large assignée à la liaison N-H d'une amide substituée probablement à un cycle lactame [198].

Bande 2 et 3 :

Les vibrations de valence obtenues à 2984.27 et 2834.33 cm^{-1} ont montré deux bandes d'absorption faibles correspondant à différents modes de vibrations ; symétriques et asymétriques des groupes C-H, CH_2 et CH_3 [199].

Bande 4 :

Les vibrations de valence obtenues à 1656 cm^{-1} ont montré une bande d'absorption faible assignée à la liaison C=O des amides [200]. ainsi qu'à la liaison C=O des lactames [198]. Cette bande montre un léger épaulement qui résulte probablement du recouvrement de la bande N-H de déformation des amides qui est généralement retrouvée à 1640 cm^{-1} [199].

Bandes 5 et 6 :

Les vibrations obtenues à 1412 et 1449 cm^{-1} sont assignées à la déformation de C-O-H de l'acide carboxylique.

Bande 7 :

Une bande faible obtenue à 1259 cm^{-1} assignée à la liaison N-O cyclique.

Bande 8 :

Les vibrations de valence obtenues à 1111 cm^{-1} montrent une bande d'absorption faible assignée à la fonction CN amide.

Bande 9 :

Les vibrations de valence obtenues à 1017 cm^{-1} montrent une bande d'absorption intense assignée à la fonction C-O de l'acide carboxylique.

Bande 10 :

Les vibrations obtenues à 608 cm^{-1} montrent une bande d'absorption moyenne et large assignée à la déformation de N-C=O amide.

B] Analyses spectrale RMN ^1H et ^{13}C : Fraction bioactive $La13_{BF}$

Les spectres obtenus par analyses RMN ^1H et RMN ^{13}C pour la fraction bioactive $La13_{BF}$ sont présentés par les figures n° IV.B.14 et n° IV.B.15.

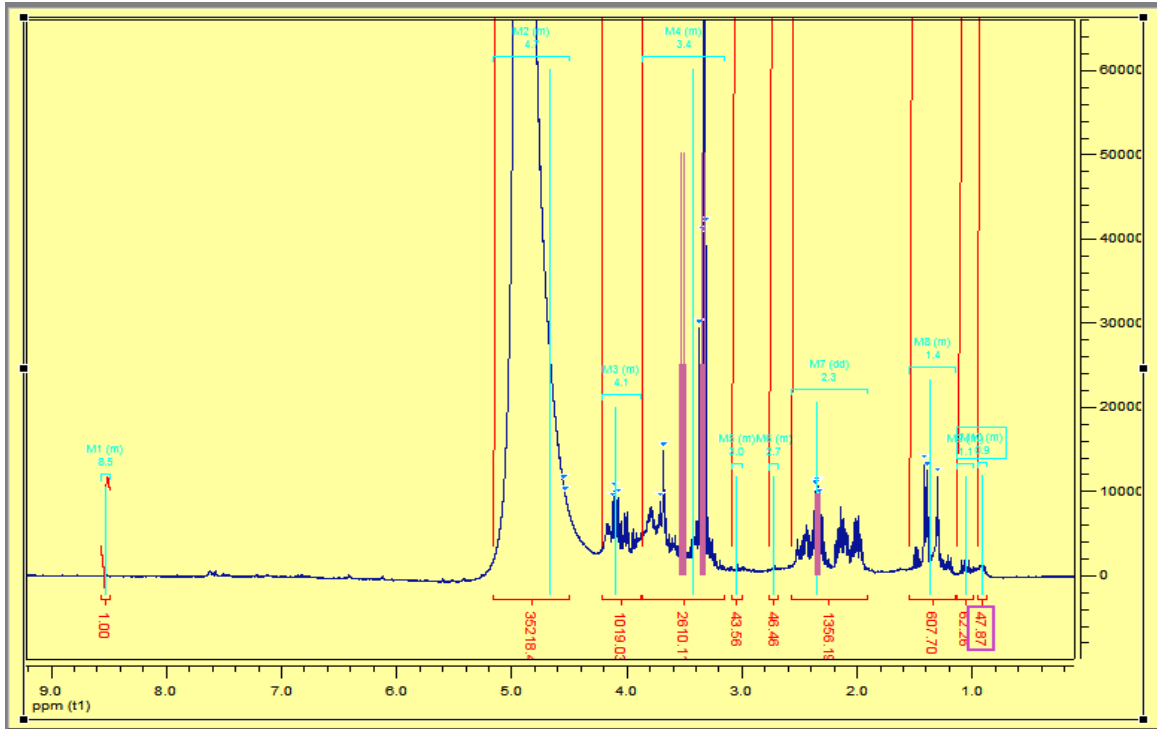


Fig n° IV.B.14 : Spectre RMN ^1H : Fraction bioactive $La13_{BF}$

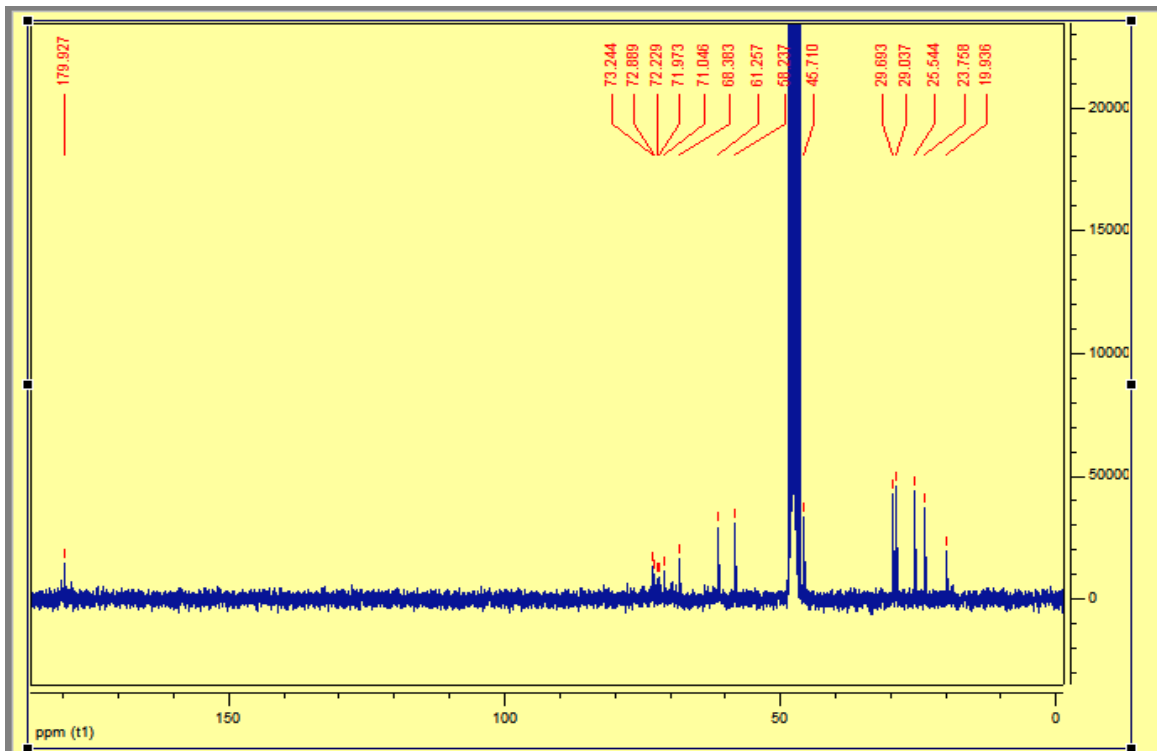


Fig n° IV.B.15 : Spectre RMN ^{13}C : Fraction bioactive $La13_{BF}$

Les déplacements chimiques obtenus à partir de l'analyse RMN¹H et RMN¹³C sont répertoriés dans le tableau n° IV.B.20.

Tableau n° IV.B.20 : Résultat de l'analyse RMN¹H et RMN¹³C: fraction bioactive *La13_{BF}*

Composé <i>La13_{BF}</i>				
Position	¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD)		Position	¹³ C RMN (75 MHz, CD ₃ OD)
	<u>δ (ppm)</u>	Multiplicité		<u>δ (ppm)</u>
H1	<u>2.345</u>	dd 6.69, 2.84	C1	<u>45.710</u>
H2	<u>2.723</u>	<u>m</u> 2.77-2.68	C2	<u>29.692</u>
H3	<u>3.994</u>	M	C3	<u>58.237</u>
H5	<u>3.427</u>	<u>m</u> 3.86-3.15	C5	<u>61.257</u>
H6			C6	<u>25.543</u>
H7	<u>1.368</u>	<u>m</u> 1.54-1.15	C7	<u>29.037</u>
H8	<u>4.104</u>	<u>m</u> 4.22-3.88	C8	<u>71.045</u>
H9	<u>4.665</u>	<u>m</u> 5.16-4.50	C9	<u>68.383</u>
H3'	<u>3.045</u>	<u>m</u> 3.09-3.00	C3'	<u>179.927</u>
H4'	<u>1.061</u>	<u>m</u>	C4'	<u>71.972</u>
H5'	-	-	C5'	<u>72.228</u>
H6'	<u>0.914</u>	<u>m</u> 0.96-0.87	C6'	<u>19.936</u>
H7'	<u>8.528</u>	<u>8.528</u>	C7'	<u>73.244</u>

Les attributions assignées aux déplacements chimiques obtenus reposent sur des données bibliographiques antérieures [201-202].

Le signal obtenu à 3.04 sont attribués à la liaisons OH de l'acide Trachélanthique ou Acide viridiflorique, qui substitue la pyrrolizidine, en position C₃'.

Le signal du multiplet obtenu à 1,01 et 0,914 et 8,52 ppm sont respectivement attribués aux méthyles des groupements CH₃-C des carbones C₄', C₆' et C₇' de l'acide Trachélanthique ou Acide viridiflorique. qui substitut la pyrrolizidine.

Les signaux obtenus à, et 3,99 ppm sont attribuables à CH-Ar en position respectives de C3 du cycle de la pyrrolizidine,

Les signaux obtenus à 2,72 et 3,42 ppm sont attribuables aux protons du groupement CH-CN en position C2 et C5 et celui obtenu à 2.34ppm est attribuable au proton du groupement CH-C-CN en position C1.

L'examen du spectre RMN ¹³C met en évidence les signaux 73.244 et 179.92 ppm respectivement pour le carbone, C₈ et C₉ du groupement -CH₂-O-CO-R de l'acide Trachélanthique qui substitue la pyrrolizidine.

La présence de cette dernière est mise en évidence par les signaux obtenus à 45,71(C1), 29,69 (C2) 58.237 ppm (C3), 61.250ppm (C5) et 25,543ppm (C6) [202].

Les signaux obtenus à 29.037, 71.045 et 68.383 ppm sont attribuables respectivement aux carbones C7, C8 et C9.

Les signaux obtenus à 72,228, 19,936 et 73,244'ppm sont attribuables respectivement aux carbones C5', C6' et C7'.

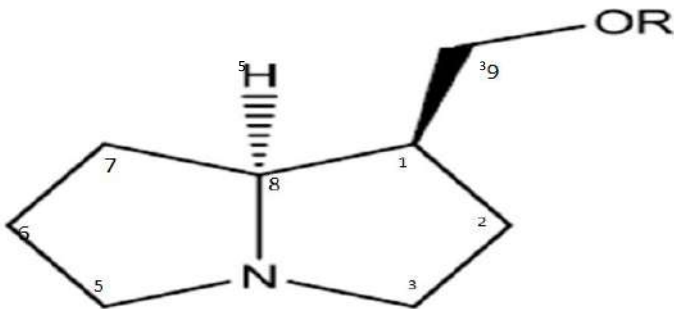
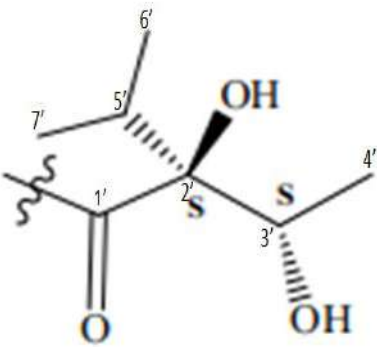
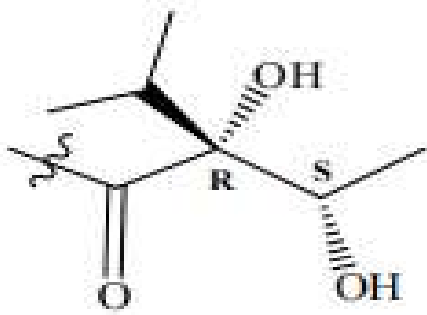
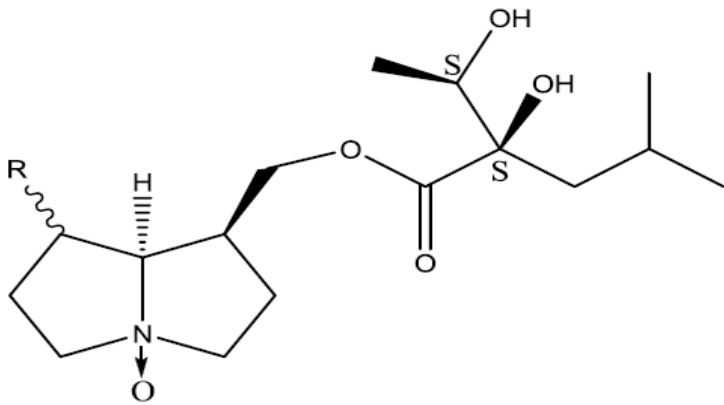
Ainsi l'ensemble des données obtenues par analyses spectrales infrarouges et RMN ¹H et RMN¹³C permettent de proposer la probable existence d'un alcaloïde pyrrolizidinique auquel nous proposons les cinq molécules suivantes vu les similitudes très rapprochées des résultats comparatifs, mais la confirmation exacte nécessite la réalisation d'autres techniques plus performantes.

Les cinq molécules ayant des similitudes des résultats d'analyses spectrales RMN¹H et RMN¹³C sont :

- 1- Floridimine
- 2- Floridine
- 3- Floridinine
- 4-Viridiflorine
- 5- Trachelanthamidine

Les cinq structures probables sont répertoriées dans le tableau n° IV.B.21 :

Tableau n° IV.B.21 : Structures et formules des molécules proposées [203]

Alcaloïdes Pyrolizidiniques saturés		
Structure de Base		
Radicaux	Vir.= Acide viridiflorique	Trach= Acide trachélantique
		
1-Floridimine	R=(-) –Vir. 5'-OH	$C_{15}H_{27}NO_5$
2- Floridine	R=(-) –Vir. 5'-OH-«3'-OAc	$C_{17}H_{29}NO_6$
3- Floridine	R=(-)- Trach.5'-OH	$C_{15}H_{27}NO_5$
4-Viridiflorine	R=H (-)-	$C_{15}H_{25}NO_5$
 <p>5- R=H Trachélanthamidine 2S(1S-hydroxyethyl)-4-methylpentanoyl ester $C_{16}H_{27}NO_5$</p>		

L'étude comparative des résultats d'analyse RMN ^{13}C et RMN ^1H avec ceux des molécules proposées figure dans les tableaux n° IV.B.22 et n° IV.B.23.

Tableau n° IV.B.22 : Etude comparative des résultats d'analyse RMN ^{13}C avec ceux des molécules proposées

Position	Fraction bioactive caractérisée chimiquement La13_{BF}	Floridine $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_6$	Floridine $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{NO}_5$	Floridine $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{NO}_5$	Viridiflorine $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_5$	Trachelanthamidine $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_5$
C1	<u>45.710</u>	44.2	43.4	44.3	44.5	48.0
C2	<u>29.692</u>	31.2	28.6	28.7	31.5	29.7
C3	<u>58.237</u>	54.0	53.8	54.2	54.5	55.9
C5	<u>61.257</u>	54.0	54.0	54.3	54.2	55.8
C6	<u>25.543</u>	25.0	24.6	25.3	25.5	25.6
C7	<u>29.037</u>	29.5	30.6	30.6	30.0	31.3
C8	<u>71.045</u>	67.6	68.4	67.6	67.8	71.9
C9	<u>68.383</u>	66.2	66.2	63.2	67.2	63.4
C1'	<u>179.927</u>	173.4	174.6	174.7	174.4	181.6
C2'	<u>71.972</u>	83.4	82.5	85.1	83.6	81.8
C3'	<u>72.228</u>	72.7	69.8	69.9	71.0	44.1
C4'	<u>19.936</u>	15.1	18.6	18.6	17.2	25.0
C5'	<u>73.244</u>	73.5	73.9	73.8	32.1	24.0
C6'	<u>23.758</u>	26.2	25.0	26.0	17.9	25.0
C7'	<u>72.888</u>	24.9	26.0	24.9	15.9	73.9
*2S-hydroxy-2S-(1S hydroxyethyl)-4-methyl-pentanoyl ester $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_5$						

Le tableau n° IV.B.23 expose une étude comparative des résultats d'analyse RMN ^1H obtenus avec ceux des molécules proposées.

Tableau n° IV.B.23 : Etude comparative des résultats d'analyse RMN ^1H obtenus avec ceux des molécules proposées

Position	Fraction bioactive caractérisée chimiquement $L\alpha 13_{BF}$	Floridine $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_6$	Floridinine $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{NO}_5$	Floridimine $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{NO}_5$	Viridiflorine $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_5$	Trachelanthamidine $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_5$
H1	<u>2.345</u>	2.23	2.36	2.30		
H2	<u>2.723</u>	2.15 α 2,15 β	2.08 α 2.20 β	2.17 α 2.28 β	5.66	5.95
H3	<u>3.994</u>	3.75 α 2.77 β	3.51 α 2.66 β	3.89 α 2.83 β	3.30 α 3.82 β	3.70 α 4.18 β
H5	<u>3.427</u>	3.48 α 2.65 β	3.24 α 2.85 β	3.59 α 2.89 β	2.55 α 3.22 β	3.10 α 2.64 β
H6		2.04	2.0 α 1.94 β	2.11	1.80 α 1.92 β	2.10
H7	<u>1.368</u>	2.20 α 1.70 β	2.15 α 1.63 β	2.26 α 1.80 β	4.13	4.52
H8	<u>4.104</u>	4.01	3.70	4.30	3.97	4.60
H9	<u>4.665</u>	4.16 α 4.27 β	4.20 α 4.53 β	4.35 α 4.45 β	4.70 α 5.00 β	4.85
H3'	<u>3.045</u>	5.45 α 1.98 β	4.19	4.26	3.92	1.74 α 1.79 β
H4'	<u>1.06</u>	1.36	1.27	1.32	1.24	1.82
H5'	-	-	-	-	2.13	0.87
H6'	<u>0.914</u>	1.25	1.28	1.28	0.89	0.99
H7'	<u>8.528</u>	1.40	0.96	1.33	0.85	3.78 (8.1 15)
* Trachelanthamidine 2S-hydroxy-2S-(1S-hydroxyethyl)-4-methyl-pentanoyl ester						

Les molécules proposées appartiennent à la famille des alcaloïdes pyrrolizidinique qui a été mis en évidence chez diverses plantes appartenant à diverses familles.

La confirmation de l'une des structure proposées est possible après réalisation d'une caractérisation chimique faisant appel à des techniques d'analyses plus performantes.

Les molécules proposées ont été isolées à partir de diverses plantes appartenant à diverses familles qui sont présentées par le tableau n° IV.B.24.

Tableau n° IV.B.24 : Molécules bioactives proposées et sources de provenance

Molécule	Source	Reference
Viridiflorine	<i>Anchusa milleri</i>	[204]
	<i>Cynoglossum germanicum</i>	[205]
	<i>Cynoglossum officinale</i>	[204,206]
	<i>Cynoglossum viridiforum</i>	[207]
	<i>Lappula spinocarpus</i>	[204]
	<i>Lindelofia olgae</i>	[208]
	<i>Lindelofia pterocarpa</i>	[209]
	<i>Lindelofia stylosa</i>	[210]
	<i>Lindelofia tschimganic</i>	[211]
	<i>Paracaryum intermedium</i>	[204]
	<i>Paracaryum regulosum</i>	[204]
	<i>Symphytum officinale</i>	[212]
	<i>Trachelanthus hissricus</i>	[213]
Floridanine	<i>Cordia sinensis</i>	[214]
Floridimine	<i>Heliotropium floridum</i>	[214]
Floridine	<i>Heliotropium floridum</i>	[214]
Floridinine	<i>Heliotropium floridum</i>	[214]
Floridinine	<i>Heliotropium floridum</i>	[214]
Trachelanthamidine 2S-hydroxy-2S(1S-hydroxyethyl)-4-methyl-pentanoyl ester	<i>Heliotropium angiospermum</i>	[215]
	<i>Heliotropium confertifolium</i>	[215]
	<i>Heliotropium curassavicum</i>	[215]
	<i>Heliotropium foliosissimum</i>	[215]
	<i>Heliotropium fruticosum</i>	[215]
	<i>Heliotropium gregii</i>	[215]
	<i>Heliotropium indicum</i>	[215]
	<i>Heliotropium molle</i>	[215]
	<i>Heliotropium procumbens</i>	[215]
	<i>Heliotropium racemosum</i>	[215]
	<i>Heliotropium sessei</i>	[215]
	<i>Heliotropium spathulatum</i>	[215]
	<i>Heliotropium strigosa</i>	[216]
<i>Heliotropium wigginsii</i>	[215]	

Les alcaloïdes pyrrolizidiniques ont manifesté diverses activités biologiques qui sont répertoriés dans le tableau n° IV.B.25.

Tableau n° IV.B.25 : Tableau regroupant diverses activités biologiques des PA

Activité	Plantes	Phytoconstituents
Anorexigène	<i>H. floridum</i> var. latifolium	Alkaloidal extract 3'acetyltrachelanthamine Floridine Floridinine Floridimine [217]
Anti- neoplastic and anti- viral	<i>H. subulatum</i> Hochst. ex DC.	Heliotrine angeloyl heliotrine [218] Retronecine Subulacine Subulacine-N-oxide [219]
Anti-oxidante.	<i>H. sclerocarpum</i> Phil.	Composés Phenoliques et resin [213]
Anti- oxidante et Antihyperlipidemique	<i>H. zeylanicum</i> (Burm.f.) Lam	Methanolic extract [220]
Anti- plasmodial and anti- trypanosomal	- <i>H. zeylanicum</i> (Burm.f.) Lam - <i>H. europaeum</i> L. var. Lasiocarpum - <i>H. indicum</i> L.	Methanol extracts [221] Ethanol extract of root [222] Extracts [223]
Anti-proliferative	<i>H. indicum</i> L.	Ethanol extract [224]
Anti-tuberculosis	<i>H. indicum</i> L.	Volatile oil from the aerial parts [225]
Anti-virale	<i>H. filifolium</i> (Miers) Reiche	Filifolinol Filifolinyl senecionate Semi- synthetics derivatives Filifolinone Filifolinoic acid [226]
Histo-gastroprotective	<i>H. indicum</i> L.	Aqueous extract [227]
Immunostimulant	<i>H. filifolium</i> (Miers) Reiche	Filifolinone [228]
Activité inhibitrice	<i>H. foertherianum</i> Diane & Hilger	Aqueous extract [229]
Nephroprotective	<i>H. eichwaldi</i> Stued.ex Dc.	Methanolic extract [204]
Propriétés défensives des Plantes	<i>H. megalanthum</i> J.M. Johnston	Megalanthine [230]
Cicatrisation des plaies	<i>H. indicum</i> L.	Ethanol extract [231]

Les pyrrolizidines dérivent de l'ornithine, ils peuvent être isolés sous la forme de base tertiaire ou sous la forme de *N*-oxyde. Mais, c'est majoritairement, sous cette seconde forme qu'elles sont présentes dans les plantes [232], plus de 200 composés ont été identifiés dans

Niveau 1 : Relation Plante Activité [RPA]

L'enquête ethnobotanique effectuée a mis en évidence une probable relation étroite entre l'activité microbienne recherchée et les plantes de la famille des *Astéraceae* qui recouvrent 11.59% des plantes utilisées pour leurs effets antibactérien et/ou antifongique dans la région, ce qui évoque une probable présence d'analogues structuraux, responsables de l'activité microbiologique étudiée, auprès de plantes de la même famille.

Niveau 2 : Relation nature d'extrait Activité [REA]

Les tests, de l'antibiogramme et du fongigramme, auxquels ont été soumis les extraits obtenus avec des solvants de différentes polarité, ont mis en évidence une relation proportionnelle avec la polarité du solvant utilisé où on constate que l'activité antimicrobienne augmente avec l'augmentation de la polarité des solvants utilisés pour l'extraction, ce qui nous amène à déduire que les molécules recherchées soit relativement polaires.

Niveau 3 : Relation molécules isolées - activité

La Contribution de groupe est largement utilisée pour les propriétés chimiques et physiques des molécules. L'idée de base est de décomposer une molécule en un certain nombre de groupes fonctionnels qui possèdent une contribution constante à la propriété étudiée [234].

Afin d'établir un lien entre les structures des molécules bioactives mises en évidence et l'effet antibactérien et antifongique simultanément mis en évidence, nous nous sommes référés à un ensemble de données bibliographiques évoquant l'origine, la nature et le mode d'action des structures des composés bioactifs que nous avons isolés et caractérisé, que nous avons accompagné à titre comparatif par le mode d'action des β lactamases responsables de résistance et celui des quinolones auxquels aucune souches fongique ou bactérienne testée n'a pas montré de résistance. Voir les figures n° IV.B.17 et n° IV.B.18 .

La forte déssimination des β lactamases au sein des populations bactériennes pose un déficit thérapeutique majeur notamment pour les traitements d'infections nosocomiales et communautaires. Les carbapénèmes sont conciderés comme les antibiotiques de choix pour le traitemaent des infections causées par des bactéries productrices de β lactamase, malheureusement leur usage fut associé à l'apparition de nouvelles réssistances particulièrement chez les enterobactéries et *Pseudomonas*.

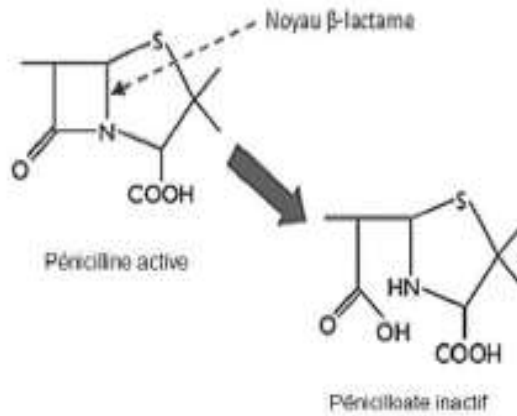


Fig n° IV.B.17 : Structure d'une pénicilline avant et après l'action d'une β lactamase

Ainsi, les β lactamases imposent la recherches de nouveaux principes actifs capables d'échapper à leurs actions d'inactivation.

Les quinolones se sont montré les plus actifs des antibiotiques que nous avons testés. Ces derniers réagissent avec la molleculle d'ADN. Les Alcaloides pyrrolizidiniques sont des composés qui sont réactifs avec la molécule d'ADN [235].

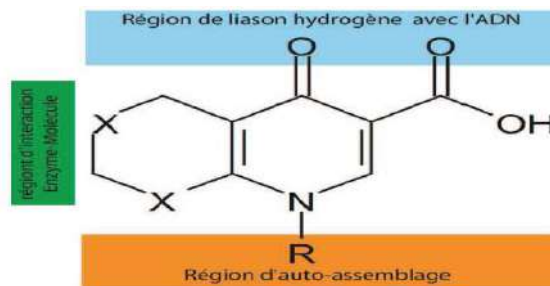


Fig n° IV.B.18 : Régions réactives des quinolones [232]

Nous avons identifié un composé bioactif sur *S. aureus* et *Candida albicans* qui est un alcaloïde pyrrolizidinique saturé auquel nous avons proposé cinq structures d'alcaloides pyrrolizidiniques saturés suite à l'étude comparative des résultats d'identification effectués.

Les alcaloides pyrrolizidiniques

le site de biosynthèse des AP varie selon les espèces [236]. Leur forme N-oxyde est directement lié à l'exsudation du latex [237].

Une étude menée sur des alcaloides pyrrolizidiniques a démontré leurs effets sur *E.coli* et *S.aureus* en endommageant la membrane plasmique avec des CMI comprises entre 39.10^{-4} à 25.10^{-3} mg/ml [238].

Les Alcaloïdes pyrrolizidiniques sont des composés réactifs qui peuvent réagir avec la molécule d'ADN [235] les quinolones qui se sont montrés dans notre étude très actifs et auxquels les microorganismes testés n'ont montré aucune résistance réagissent avec la molécule d'ADN.

Nombreux alcaloïdes inhibent le quorum sensing imidazole isoquinone et piperidine, pyrrolidine. Le composé Betonicide $C_7H_{13}NO_3$ est un alcaloïde extrait de *Achillea millefolium* (*Asteraceae*) inhibiteur du quorum sensing chez plusieurs bactéries. L'usaramine est un alcaloïde pyrrolizidinique qui a démontré son habilité à inhiber la formation des biofilm de *Staphylococcus aureus* à 1 mg/ml, la monocrolatine et azido-retronecine ont démontré un effet sur *Trichomonas vaginalis* sans causer de dommage aux cellules vaginales [239].

Néanmoins l'usage des alcaloïdes pyrrolizidiniques doit répondre strictement aux normes, vues leur hépato-toxicité reconnue [240].

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE

Les résultats obtenus informent sur l'état d'hygiène régnante au seins des structures investiguées, les valeurs obtenues placent l'ensemble des structures en état d'action nécessitant impérativement l'instauration d'actions correctives que nous avons proposé à travers la présente étude; L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique, s'est révélé prometteuse pour l'ensemble des *Asteraceae* étudiées, notamment pour *C. cinerea*.

L'objectif primordial, assigné par cette thèse, est l'évaluation et la valorisation de la flore saharienne dans le contexte de lutte contre les souches microbiennes nosocomiales.

Dans un premier lieu une enquête ethnobotanique à été menée, fait qui a orienté notre choix vers la famille des *Asteraceae* qui a représenté les 11,59% des plantes utilisées, dans la région du sud-ouest algérien, pour traiter les pathologies infectieuses bactériennes et fongiques. Nous avons investigué cinq plantes qui sont : *B.graveolens*, *C. cinerea*, *L. arborescence*, *L. nudicaulis*, et *W. saharae*.

L'activité antibactérienne et antifongique des ces dernières fut évaluée vis-à-vis de diverses collections de souches nosocomiales issues d'environnements de cinq structures hospitalières de quatre wilayas du sud-ouest Algérien.

L'ensemble des structures hospitalières investiguées a présenté des taux de niveaux cible de biosécurité réduit n'excédant pas les 20% pour la qualité microbiologique de l'air et 11,11% pour la qualité microbiologique des surfaces. Nous avons noté que les résultats obtenus pour une structures hospitalière ayant bénéficié d'une désinfection terminale, les niveau cible atteints pour les prélèvements mycologiques étaient nettement supérieurs à ceux obtenus pour les prélèvements bactériologiques avec des taux respectifs allant jusqu'à 100% et 12,5%.

Ces résultats placent l'ensemble des structures en état d'action nécessitant impérativement l'instauration d'actions correctives que nous avons proposé à travers la présente étude.

Le portage des souches de *S. aureus*, par le personnel hospitalier prélevé a été évalué à 64,37%. Ces dernières ont manifesté quatre phénotypes distincts.

64,06% des souches obtenues ont exprimé une déficience en hémolysine interprété par une dysfonction du système *agr*.

91,46% des souches ayant manifesté une résistance aux antibiotiques testés appartiennent aux phénotypes ayant exprimé une déficience simultanée en hémolysine et à la capacité de pigmentation.

Les résultats obtenus permettent de recommander l'utilisation simultanée de la déficience en hémolysine, l'absence de pigmentation jaune ainsi que la taille réduite des colonies de *Staphylococcus aureus* obtenus sur gélose au sang après 48 h d'incubation, comme marqueurs prédictifs de la résistance à la méthicilline.

Le portage des souches de *Pseudomonas spp* par le personnel hospitalier prélevé a été évalué à 13,92% ayant exprimées des taux de résistance variables à l'ensemble des antibiotiques testés ormis l'ofloxacine (quinolone) qui s'est montré très actif sur la totalité des souches testées.

Les niveaux de biosécurité atteints font impérativement appel à l'instauration d'actions correctives relatives aux situations de défaut d'hygiène ainsi qu'à l'installation ou la réinstallation du comité d'hygiène hospitalière, multidisciplinaire, réellement actif est impérative, afin de structurer de manière réglementaire un suivi régulier de l'état hygiène générale des structures hospitalières de notre pays.

Les plantes choisies pour rechercher des molécules bioactives sur des souches bactériennes et fongiques nosocomiales ont pour l'ensemble révélé la présence des flavonoïdes, saponosides et alcaloïdes. Par contre, les anthocyanes sont absents chez l'ensemble des plantes étudiées.

Les extraits testés sur la collection n°2 constituée de souches nosocomiales du genre *Staphylococcus* ont montré des taux variables d'activité avec le taux le plus élevé montré par l'extrait de l'acide chloridrique avec une valeur de 100% et une zone d'inhibition maximale de 22mm suivi par les extraits éthanoliques avec un taux de 90% et une zone maximale de 21mm, les extraits méthanoliques avec un taux de 70% et une zone d'inhibition de 21mm, ether de petrol 70% et 18mm, Dichlorométhane : 65% et 20mm Acetone : 60% et 21mm, Eau distillée : 55% et 14mm, Chloroforme : 50% et 19mm.

Les extrais polaires et aprotiques obtenus par usage du HCl, H₂O, méthanol et de l'éthanol ont montré les meilleurs résultats sur la collection n°1 constituée de souches nosocomiales cocci et batonnets Gram positif et négatif et levures avec des taux respectifs de 84,4%, 45,6%, 35,2% et 29,2%.

L'activité microbienne des différents extraits de plantes testés a présenté des taux variables vis-à-vis des souches nosocomiales de la collection n°1 et n°2 avec des valeurs

respectives de 50,25% et 92,79% pour *Cotula cinerea*, de 42% et 86,7% pour *Bubonium graveolens*, de 42,5% et 82,48% pour *Warionia saharae*, de 26% et 72,17% pour *Launaea nudicaulis*, *Launaea arborescens* a montré le taux d'activité le plus réduit avec une valeur de 12% 69,08%.

Les masses minimales inhibitrices obtenues pour les extraits aqueux testés sur des souches de *Candida albicans* et *Staphylococcus*, ont présentées des taux variables respectifs de 0,65mg et $5 \cdot 10^{-4}$ g pour *Cotula cinerea*, de 0,90mg et $7 \cdot 10^{-4}$ g pour *Warionia saharae*, de 0,95 et $1 \cdot 10^{-3}$ g mg et pour *Bubonium graveolens*, de 1,5mg et $9 \cdot 10^{-4}$ g pour *Launaea nudicaulis* et de 1,5mg et $1 \cdot 10^{-3}$ g pour *Launaea arborescens*.

Les extraits aqueux des plantes étudiées, vis-à-vis des souches nosocomiales fongiques de la collection n°3, ont montré des taux d'inhibition fongique sur les souches *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* et des taux d'activité sur *C.albicans* avec des valeurs respectives de 73,53, 73,63% et 60% pour *Cotula cinerea*; De 21,27% 29,65% et 80% pour *Launaea nudicaulis*; De 59,39%, 64,23% et 70% pour *Warionia saharae*; De 39,77%, 21,96% et 50% pour *Bubonium graveolens* ; De 28,04%, 13,71% et 30% pour *Launaea arborescens*; avec une réduction du rythme de croissance des colonies d'*Aspergillus* allant jusqu'à 4mm par 24h en présence d'extrait aqueux de *Cotula cinerea* contre un rythme de croissance de 1.17mm/24h exprimé par les souches témoins.

Nous avons isolé et purifié un ensemble de 14 fractions à partir des l'extraits aqueux qui ont présenté des λ max variables entre 280 et 350, des Rf variables compris entre 0,12 et 1,09 et des pics majoritaires uniques obtenus par HPLC avec des temps de rétention compris entre 6,100 mn et 7,691mn.

Les Zones d'inhibition montrées par l'ensemble des composés testés étaient comprises entre 6,1 mm et 12mm pour l'effet antibactérien tandis que celles montrées pour l'effet antifongique étaient comprises entre 8mm et 15mm.

La manifestation simultanée des deux effets antibactérien et antifongique a été noté avec un taux de 100% pour les composés ayant présenté les valeurs λ max comprises entre 300 et 330. Les composés ayant des λ max égales à 280nm ont montré uniquement l'effet antifongique tandis que l'effet antibactérien unique ne s'est manifesté que par les composés ayant présenté des valeurs λ max égale à 340 et 350nm.

La caractérisation chimique de la fraction bioactive **La13_{BF}** issue de l'extrait aqueux de *Launaea arborescens* a révélé la présence d'un alcaloïde pyrrolisidinique auquel nous avons

attribué cinq structures similaires probables : La Floridimine, la Floridine, la Floridine, la viridiflorine et la Trachelanthamide.

L'arbre de décisions utilisé, nous a permis à un premier niveau d'établir une probable relation entre l'activité antimicrobienne recherchée et les plantes de la famille des *Asteraceae* qui ont présenté des taux d'usage relativement élevés, à un deuxième niveau d'établir une relation proportionnelle entre l'activité antimicrobienne qui augmente avec l'augmentation de la polarité des solvants utilisés pour l'extraction évoquant ainsi l'éventuelle présence de molécules bioactives polaires que nous avons confirmé par le troisième niveau de l'arbre de décision qui nous a permis d'établir une éventuelle relation entre les activités biologiques recherchées et les molécules isolées qui a révélé la présence d'alcaloïde pyrrolizidinique saturés qui sont dotés de réactivité largement connue pour les structures des alcaloïdes auxquels nous ajoutons le probable effet novateur, qui est l'effet quinner du quorum sensing de certains microorganismes [237].

Enfin en perspective, nous dirons que l'accroissement spectaculaire de la résistance et polypharmacorésistance aux agents antimicrobiens usuels impose la quête de composés bioactifs ayant des mécanismes d'actions novateurs.

Les Alcaloïdes pyrrolizidiniques issus des plantes de la régions constituent une classe de composés chimiques bioactifs qui nécessitent d'être explorés tant sur le plan thérapeutique que sur celui toxique, afin de découvrir de nouveaux alcaloïdes pyrrolizidiniques bioactifs , de répertorier les plantes qui les renfermes et surtout d'évaluer les seuils de toxicité de ces molécules afin de limiter ou de quantifier scientifiquement leur usage sécurisé et d'initier ainsi une plate forme relative au plan législatif de l'usage des plantes qui seront répertoriées contenir des PA (Alcaloïdes pyrrolizidiniques).

Nous recommandons largement une étude de la résistance des PA aux β lactamases , ainsi que l'évaluation de leur effet quinner sur la formation de biofilms de germes nosocomiaux multirésistants.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Savey, A. Infections nosocomiales : Maîtrise des infections nosocomiales de A à Z : Editions Health et CO. 2004 : 315 - 318
- [2] Pujot, J. Thiolet, J.M. Infections nosocomiales chez les soignants.Revue francophone des laboratoires. 2010 ; 45 (418) : 179 - 182
- [3] Gambotti, I. Girard , R. Fabry, J. Etablir un programme de surveillance des infections en hospitalisation à domicile. HygièneS , NosoBase n°8599. 2001; IX (1): 31-37
- [4] Lorrot, M. Doit,C. Dugué,S. Pothier,P. Nosocomial viral infection of the digestive tract in children mt pédiatrie. 2012 ; 15 (1) : 17-25
- [5] Bailly,P. Gbaguidi Haore,H. Crenn, D. Talon,D. Mortalité hospitalière imputable aux infections infectionsnosocomiales:Mise en place d'un observatoire dans un centre hospitalier . Médecine et maladies infectieuses . 2004 ; 34 (2) : 76-82
- [6] Hériteau F. Darras-Joly, C. Astagneau, A. La mortalité associée aux infections nosocomiales . La Lettre de l'Infectiologue - Tome XX - 2005; 3 : 73-79
- [7] Pagani, J.-L. Revelly, J.-P. Chiolero, R.E. ggimann, P. Infections liées aux cathéters en réanimation : recommandations pour la pratique clinique. Rev Med Suisse. 2007; (3): 32761
- [8] Dufour, P. Gillet,Y. Bes, M. Lina, G. Vandenesch, F. Flore, D. Community – acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis. 2002 ; 35: 819–824
- [9] Chevalier, B. Drouillard, I. Dauwalder, O. Lina, G. Un pathogène émergent: Staphylococcus aureus résistant à la Méricilline d'origine communautaire (SARMC). Médecine et Armées. 2007; 35(2) :123-126
- [10] Durand-Zaleski,I. Chaix, C. Brun-Buisson,C. Le coût des infections liées aux soins. adsp. 2002; 38 :29-31
- [11] <http://referenceworks.brillonline.com/browse/encyclopaedia-of-islam-2> Middle East and Islamic Studies Histoire des hôpitaux Bimaristan, l'hôpital de l'islam médiéval. Encyclopaedia of Islam. [Consulté le 20 Janvier 2013]
- [12] Daghfous, S. Historique de l'hygiene hospitaliere et de la lutte contre les infections nosocomiales. Ministère de la Santé Publique Direction Régionale de la Santé de Bizerte. 2008 ; 1. 106 p

Références bibliographiques

- [13] Pibiri, M.C. assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat n° 3311 soutenue à l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne. 2006. 177 p
- [14] Levin, B.R. Bull, J.J. Population and evolutionary dynamics of phage therapy. *Nat Rev Microbiol.* 2004 ; 2 :166-173
- [15] Dublanchet, A. Des virus pour combattre les infections : la phagothérapie : renouveau d'un traitement au secours des antibiotiques. Lausanne, éd. Favre. 2009. 240 p
- [16] Monk, A.B. Rees, C.D. Barrow, P. Hagens, S. Harper, D.R. Bacteriophage applications: where are we now? *Letters in Applied Microbiology.* 2010; 51 : 363–369
- [17] Bücker, G. Infections nosocomiales et environnement hospitalier. *Médecine Sciences Flammarion.* 1998 . 217 p
- [18] Al Moristan ou l'hôpital dans le monde arabo-musulman » : Histoire des sciences médicales – Tome XLVII – N° 2. 2013 :169 – 176
- [19] Astagneau, P. Lepoutre, A. La mortalité attribuable aux infections hospitalières. *adsp.* 2002; 38 : 27-29
- [20] Benichou, B. Boye, J. Maitrise des infections nosocomiales en services de pneumologie. Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Rouen. 2003
- [21] Beziaud, N. Pavese, P. Barnoud, D. Laval, G. Bacterial infections in palliative care: antibiotic and therapeutic limitations. *La Presse médicale.* 2008. 10 p
- [22] Berrebi,W, *Diagnostics et Thérapeutique: du symptome à la prescription. Guide pratique - 3^e* Editions Estem, 2004. 1298 p
- [23] Bossuyt, X. Humbel, R. Mewis, A. Servais, G. Tomasi, J-P. Evaluation externe de la qualite des analyses en biologie clinique : microbiologie/serologie/parasitologie. Rapport global, Bruxelles . 2006 . 6 p
- [24] Po-Ren Hsueh, Mei-Ling Chen, Chun-Chuan Sun, Wen-Hwei Chen, Hui-Ju Pan, Li-Seh Yang, Shan-Chwen Chang, Shen-Wu Ho, Chin-Yu Lee, Wei-Chuan Hsieh, and Kwen-Tay Luh. antimicrobial Drug Resistance in Pathogens Causing Nosocomial Infections at a University Hospital in Taiwan, 1981-1999. *Emerging infectious diseases.* 2002 ; 8(1) :1-114
- [25] Faure, P. Le Non tissé et la sécurité au bloc opératoire (La 2ème partie) :éd. Groupe d'hygiene. Paris. 2002 .44 p

Références bibliographiques

- [26] Rahal, K. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, projet de l'OMS. 4^{ème} rapport d'évaluation. 2004. 144 p
- [27] Wieczorek, P. Sacha, P. Hauschild, T. Zorawski, M. Krawczyk, M. Tryniszewska, E. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*--the role of AdeABC : Efflux pump in resistance to antibiotics. *Folia Histochem Cytobiol.* 2008; 46(3) : 257-267
- [28] Duce, G. Febr, J. Nicole, L. Prévention des infections nosocomiales: Guide pratique de L'OMS, 2e édition. 2002. 152 p
- [29] Pilo, J.-É. Mbongo kama, E. Fabre, R. Garrabé, E. Cavallo, J.D. Limites et indications de l'antifongogramme. *Médecine et Armées.* 2007; 35(2) : 135-140
- [30] Pfaller, M.A. Diekema, D.J. Messer, S.A. Boyken, L. And hollis, RJ, Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion, and E-test methods: report from the ARTEMIS global antifungal susceptibility program, *Journal of Clinical Microbiology.* 2003; 41(4):1440-1446
- [31] Rieu, P. Sensibilité comparée par CLSI, EUCAST, E-test et ATB1 Fungus 2 des souches de *Candida* sp isolées au cours d'une enquête épidémiologique sur les candidémies dans des hôpitaux non universitaires, *J. De Mycologie Médicale.* 2009; 19(2) : 94-103
- [32] Société de pathologie infectieuse de langue française. Stratégies thérapeutiques efficaces pour le traitement des infections fongiques invasives : un traitement précoce approprié pour chaque patient. *Medicine et maladies infectieuses.* 2008; 38 :1-7
- [33] Sandven, P. Detection of Fluconazole-Resistant *Candida* Strains by a Disc Diffusion Screening Test: *Journal of Clinical Microbiology, Oslo.* 1999; 37(12): 3856–3859
- [34] Gleizes O, Desselberger U, Tatochenko V, et al. Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25(1) : S12-21
- [35] Caquet, R. 250 examens de laboratoire prescription et interprétation 11^e édition Elsevier Masson. 2010. 424 p
- [36] Cunliffe, NA. Booth, JA. Elliot, C. and al. Healthcare-associated viral gastroenteritis among children in a large pediatric hospital, United Kingdom. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16 : 55-62

Références bibliographiques

- [37] Astagneau, P. Grandbastien, B. Marion, O. Savey, A. Bernet, C. Emmanuelle Caillat-Vallet, E. Cclin Ouest .Surveillance des infections du site opératoire : réseau d'Alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales. 2000 : 97 -100
- [38] Zhou, Y., Hou, Y., Shen, J. *et al.* Network-based drug repurposing for novel coronavirus 2019-nCoV/SARS-CoV-2. *Cell Discov* 6, 14 (2020)
- [39] Ducl, G. Febry, J. Nicole, L. prévention de infection nosocomial : Guide pratique de l'OMS 2^e édition. 2002. 152 p
- [40] Florence Espinasse, F. Pageb, B. Cottard-Boullea, B. Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs *Revue Francophone des Laboratoires*. 2010 ; 426 :51-63
- [41] <http://www.cclinparisnord.org/Usagers/faq/FAQDream.htm#germes>. Cclin Paris-Nord. Infections nosocomiales. [consulté le 03 Fevrier 2014]
- [42] Commission des communautés européennes, Bruxelles. une stratégie communautaire de lutte contre la résistance antimicrobienne. 2001; I . 43p
- [43] Rahal, K. et al. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, projet de l'OMS 2^eme rapport d'évaluation, 2000. 123 p
- [44] http://fr.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9sistance_aux_antibiotiques/Wikipedia Résistance aux antibiotiques. L'encyclopédie libre. [Consulté le 2014]
- [45] Guide de bonne pratique de désinfection des dispositifs médicaux - CTIN - CSSHPF 1998:117 p
- [46] Mah, T.L.O. Toole, G.A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 2001; 9: 34- 39
- [47] Conseil supérieur d'hygiène publique, comité technique national des infections nosocomiales. Désinfection des dispositifs médicaux - Guide de bonne pratique. France, 1998
- [48] Bemet, C. Babin, G. Chesne, G. et al Couveuses et humidificateurs: Evaluation du risque nosocomial. Enquete menée dans les établissements de la région Basse – Normandie. 1994
- [49] Ritter E, Thurn V, Becker Boost E, Thomas P, Finger H, Wirsing, von Conig CH. Epidemic occurrences of multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1993; 193: 461-70
- [50] Zissu, D. Gervais, P. Le glutaraldehyde : Interet en milieu hospitalier et précautions d'emploi. *Arch Mal Prof.* 1994; 55: 463 - 6

Références bibliographiques

- [51] Organisation Mondiale de la Santé. Sauver des vies : pratiquez l'hygiène des mains. 2019. <https://www.who.int/gpsc/5may/fr/>
- [52] Conseil Supérieur de la Santé. Recommandations en matière d'hygiène des mains durant les soins, . Bruxelles, 2009, n° 8349
- [53] http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_EIP_SPO_QPS_05.2_fre.pdf [Consulté le 08 11 2017]
- [54] http://www.who.int/patientsafety/events/05/HH_en.pdf [Consulté 08 11 2017]
- [55] Lorrot,M. Doit,C. Dugué, S. Pothier,P. Infections nosocomiales virales digestives en pédiatrie , 2012 ; 15 (1) : 17-25
- [56] <http://www.islamweb.net/frh/index.php?page=showfatwa&FatwaId=36103> [Consulté le 08 11 2017]
- [57] <http://www.3ilmchar3i.net/article-la-recommandation-de-se-laver-les-mains-avant-et-apres-les-repas-et-l-avertissement-contre-le-fait-d-121094130.html> , [Consulté le 08 11 2017]
- [58] Imam an Nawawi. Explication Nawawi sur les hadiths rapporté par Muslim, dans le livre de la purification, chapitre n° 16 : Lesqualité de fitra, série n° 257, hadith n° 50, note n°6
- [59] <http://www.alghourabaa.com/index.php/le-culte/la-priere-as-salat/ablutions-bain-rituel/88-la-maniere-d-effectuer-les-petites-ablutions.html> [Consulté le 08 11 2017]
- [60] Imam Al Boukhari Sahih Al Boukhari. Al-Qalam , 6224p
- [61] Berbaoui, H. Gherdine, A. :Guide pratique pour une manipulation sécurisée dans un laboratoire de microbiologie L1,L2,L3,Collection GPE Guide pratique pour étudiant, Université Tahri mohammed Bechar. Guide N°. 2015. 76p
- [62] Flahaut, J. La thériaque diatessaron ou thériaque des pauvres. Revue d'histoire de la pharmacie. 1998;46(318):173-82
- [63] Zhang, X Réglementation des médicaments à base de plantes: La situation dans le monde. OMS 1998. 65 p
- [64] Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle OMS 2000 87p
- [65]. Bouzabata, A. Les Médicaments à base de plantes en Algérie: Réglementation et enregistrement. Phytothérapie. 2017 . 15 : 401- 408
- [66] Cheriti, A. La médecine traditionnelle de la plante au médicament. Rev.Allrhad, 1995: 25-19

Références bibliographiques

- [67] Cheriti, A. Apport de la recherche scientifique sur les plantes médicinales du sud – ouest Algérien. Rev.AIHakika. 2004: 263 - 266
- [68] Cheriti, A. Belboukhari, N. & Hacini S. Savoir traditionnel et valorisation des Plantes médicinales du sud ouest algérien. Ann. Univ. Bechar. 2005; 1: 4 - 8
- [69] Cheriti, A. Plantes médicinales du sud – ouest Algérien, entre culture et développement durable. Revue AlAthar. 2008; 2 : 101 - 106
- [70] Ibn Buṭlān. Taqwīm al-ṣiḥḥâ. Traité médical du XI^e siècle. 1990. p. xxxviii, 262, 15 ; XL, 279, 15 et 280, 15
- [71] Al-Šaqūrī, Maqāla fī l-awbi'a, « Al-Shaquri, Maqāla fī l-awbi'a. Un opuscule grenadin sur la peste noire de 1348, la nasība de Muhammad al-Shaqûrî », trad. Rachel ARIE, in Rachel ARIE, Études sur la civilisation de l'Espagne musulmane, Leyde, E.J. Brill. 1990 : 57-67
- [72] Ibn al-Wardī, Risāla al-Naba' 'an al-Waba', tr. Michael DOLS, « Ibn al-Wardī's Risāla al-Naba' 'an al-Waba': a translation of a major source for the history of the Black Death in the Near East », in Dickran K. KOUYMIJIAN (éd.), Near Eastern Numismatics, Iconography and History: Studies in honor of George C. Miles, Beyrouth, American University Press. 1974 : 443-455
- [73] https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc =lavande_ps
[consulté le 03 Février 2016]
- [74] Shekhar Nautiyal, C. Singh Chauhan, P. Laxman Nene, Y. Medicinal smoke can completely eliminate diverse plant and human pathogenic bacteria of the air within confined space. Ethnopharmacol. 2007;114(3):446-51
- [75] Irigoin, J. Quelques problèmes relatifs à la collection hippocratique: Dans la tradition des textes grecs: Belles Lettres. 2003 : 197-232
- [76] Jeffrey, C. Compositae: Introduction with key to tribes. In J. J. W. Kadereit, & C. Jeffrey (Eds.), Flowering plants: Eudicots; asterales. 2007; 8 : 61–87
- [77] Quezel, P. Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In : CNRS (Ed.). 1963; Vol.1-2.
- [78] Barreda, V.D. Palazzesi, L. Tellería, M.C. Eocene Patagonia fossils of the daisy family, Science. 2010; 329:1621
- [79] Bayer, R.J. Starr, J.R.. Tribal phylogeny of the Asteraceae based on two non-coding chloroplast sequences. 1998; 85 : 242-256

Références bibliographiques

- [80] Barkly,T.M. Brouillet,L. Strother,j.L. Flora of north america-Asteraceae;19 :3-69
- [81] Carlquist, S. « Tribal interrelationships and phylogeny of the Asteraceae », *Aliso*.1976; 8(4). 465p
- [82] Barry Cox, C. Moore,P.D. Ladle, R. Biogeography. An Ecological and Evolutionary Approach, John Wiley & Sons , 2016. 43p
- [83] Ozenda, P. Flore et végétation du Sahara.3e édition. Paris: Ed. du centre national de la recherche scientifique. 1991. 662 p
- [84] Emerenciano, V.P. Miltao, JSLT. Campos, C.C. Romoff, P. Kaplan, M. Zambon, M. and al. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochem Syst Ecol.* 2001 ;29 (9): 947-57
- [85] Bohm, B.A. Stuessy, T.F. Flavonoids of the sunflower Family (Asteraceae).New York: Springer Sciences and Business Media. 2001. 831 p
- [86] Hristozov, D. Da Costa, F.B. Gasteiger, J. Sesquiterpene lactones-based classification of the family asteraceae using neural networks and K- nearest neighbors. *J Chem.Inf Model.* 2007; 47 (1): 9-19
- [87] Arungundrum, S. Prakash Tamara, N. Pereira, P. Reilly, E.B. Alan, A. Seawright, « Pyrrolizidine alkaloids in human diet », *Mutation Research*, vol. 443, 1999
- [88] Bruneton, *Phytochimie, plantes médicinales*, Éditions médicales internationales, 4^e éd. J. Pharmacognosie. 2009. 1288 p
- [89] Nardin, T. Piasentier, E. Barnaba, C. et Larcher, R. « Alkaloid profiling of herbal drugs using high resolution mass spectrometry », *Drug Testing and Analysis.* 2018; 10(3) : 423-448
- [90] Organisation mondiale de la Santé Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens. 2016 . 32 p
- [91] Hiroshi, H. Makoto, U. Kenichi, I. Jyunichiro,Y. Atmika, P. Motoki, M. Takuya, K. Takefumi, K. Kenji, H. Takashi, K. Jie, S.Tatsuo, A. Ryuji, U. Hiroshi T. Maki, Y. Manabu, S. Hiroki, K. Masayuki, I. & Kazuhisa, S. Lysocin E is a new antibiotic that targets menaquinone in the bacterial membrane *Nature Chemical Biology.* 2015 ;11: 127–133
- [92] Motoki, M. et Takuya, K. Takefumi, K. Hiroshi, H. Kasuhisa, S Masayuki, I Total Synthesis and Biological Evaluation of the Antibiotic Lysocin E and Its Enantiomeric, Epimeric, and N-Demethylated Analogues, *Angewandte Chemie International Edition.* 2015; 54(5) : 1556-1560

Références bibliographiques

- [93] http://microbiologie.univ-tours.fr/ue_libre_antibiotiques.pdf [consulté le 13 Février 2015]
- [94] https://www.drugbank.ca/structures/search/small_molecule_drugs/structure[consulté le 13 Février 2015]
- [95] Gangneux, F.R. Chevrier, S. Guiguen, C. Les antifongiques disponibles pour le traitement des mycoses systémiques et cutanées profondes. 2010 ;16(4) Dossier 313
- [96] Aggoune, M. Chalumeau, T. Duval, H. Lamouri, J. Bio-contamination des surfaces après nettoyage et désinfection : centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales de l'inter régions Paris-Nord. Guide du bio-nettoyage n°5670, 1994. 41p.
- [97] Bussières, J.F. Larocque, D. Prot-Labarthe, S. Mise en place d'un protocole de validation microbiologie en hématologie-oncologie. Pharmactuel. 2000; 39 (4) .7p
- [98] Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and Procedures for Detection of Fungi in Clinical Specimens- Direct Examination and Culture; Approved Guideline. M54-A CLSI. Wayne, PA. 2012.
- [99] https://conseils.xpair.com/hygiene_climatisation_hospitaliere/norme_nf, La norme NF S 90-351 : performance et moyens [Consulté le 03 12 2013]]
- [100] La norme ISO 14698-1 Contrôle de la qualité de l'air en salles propres Technologie process La Vague 21 : 21-24
- [101] Simon, A. MCU Mycologie Médicale FCB Université Paris SUD XI. 2010. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr/1.0> septembre. unt-ori2.crihan.fr/unspf/2010_Paris_Simon.../co/04_levures_generalites_1.html
- [102] Chabasse, D. Bouchara, J.P. Gentile, L. Brun, S. Simon, B. Penn, P. Les dermatophytes . Biologie médicale cahier de formation. 2004; 31. 159 p
- [103] Chabasse, D. Bouchara, J.P. Gentile, L. Brun, S. Cimon, P. Penn, P. Cahier de formation biologie médicale, les moisissures d'intérêt médicale, biopharama. 2002 ; 25 .159 p
- [104] Pitt, J. I. An appraisal of identification methods for *Penicillium* species. Novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. Mycology. 1973; 65: 1135-1157
- [105] Ramirez, C. Manual and atlas of the *Penicillium*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. 1982 : 231-236
- [106] Ortu Stéphane, la norme NF S 90 351 Evolutions et principaux changements. ASPEC. 2012 . 133p

Références bibliographiques

- [107] Dauwalder, O. Lina, G. Durand, G. et al. Epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones collected in France in 2006 and 2007. *J Clin Microbiol.* 2008 ; 46 : 3454 - 3458
- [108] Panizzi, P. Friedrich, R. Fuentes-Prior, P. Richter, K. Bock, P.E. Bode, W. Fibrinogen substrate recognition by staphylocoagulase.(pro)thrombin complexes. *J Biol Chem.* 2006; 11: 79-87
- [109] Murray, P.R. Barron, E.J. Jorgensen, J.H. Pfaller, M.A. Tenover, R.H. *Manual of clinical microbiology.* American society for Microbiology. 2003; 8
- [110] Vandenesch, F. Laurent, F. Tristan, A. Rapport d'activité du CNR des Staphylocoques. Institut de veille sanitaire. 2011 .110 p
- [111] Kini, R. Clemetson, K. Markland, F. McLane, M. Morita, T. *Toxins and Hemostasis:* Springer, Dordrecht. 2010 : 575-590
- [112] Rahal, K. Benslimani, A. Tali-Maamar, H. Missoum, M.F.K. Kechih- Bounar, S. Ammari, H. et al. Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale. *Organisation mondiale de la santé.* 2011; 6 . 195 p
- [113] Bonnet, R. Caron, F. Cavallo, J.D. Chardon, H. Chidiac, C. Courvalin, P. et al *Comite de l'antibiogramme. La société française de microbiologie Recommandations.* 2012 . 59 p
- [114] Rahal, K. Belouni, R. Benslimani A, Tali maamar, H. Missoum M.F.K, Aboun, A. Boudouane, M. et al. Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale. *Organisation mondiale de la santé.* 2001; 2 . 56p
- [115] [https:// www . Lustiner.com ArticleSystem d'identification des enterobactéries et autres bacillus a Gram negative](https://www.lustiner.com/ArticleSystem/d'identification-des-enterobacteries-et-autres-bacillus-a-gram-negative) [Consulté le 04 / 03/2013]
- [116] Matthijs, S. Coorevits, A. Tekle, T. Gebrekidan, M. Tricot, C. Vander Wauven, C. Pirnay, J.P. De Vos, P. Cornelis, P. Amplification du gène *OprI* Evaluation of *oprI* and *oprL* genes as molecular markers for the genus *Pseudomonas* and their use in studying the biodiversity of a small Belgian River . *Research in Microbiology.* 2013; 164 : 254 - 261
- [117] Abid L. *Le guide de la médecine et de la santé en Algérie:* Santémaghreb.com 2018
- [118] https://fr.wikipedia.org/wiki/H%C3%B4pital_de_B%C3%A9char [consulté Mai 2018]
- [119] ISO 14644- 1:2015 *Cleanrooms and associated controlled environments — Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration*

Références bibliographiques

- [120] Adjedj, A. Desreumaux, C. Pauchard, V. Les principaux dispositifs médicaux dédiés à la néonatalogie, 2005
- [121] Gardner, P. Griffin, W. B. Swartz, M. N. and Kunz, L.J. Non fermentative Gram-negative bacilli of nosocomial interest. *Am. J. Med.* 1970; 48 : 735-749
- [122] Sarkar, T. K. Gilardi, G. Aguam, A. S. Josephson, J. and Leventhal, G. Primary *Pseudomonas maltophilia* infection of the lung. *Postgrad. Med. J.* 1979; 65: 253-260
- [123] Allan, J. Morrison, J.R. Karen, T. Hoffmann, K. Richard, P. Wenzel journal of clinical microbiology. American Society for Microbiology Associated Mortality and Clinical Characteristics of Nosocomial *Pseudomonas maltophilia* in a University Hospital Department of Internal Medicine, University of Virginia Hospital, Charlottesville. 1986; 24 (1) : 52-55
- [124] Fritsche, D. Lutticken, R. and Bohmer, H. *Pseudomonas maltophilia* as an agent of infection in man. *Zentralbl. Bakteriol.Hyg. Mikrobiol. Abt. 1 Orig. Reihe A.* 1974; 229 :89-97
- [125] Sonnenwirth, A. C. Bacteremia with and without meningitis due to *Yersinia enterocolitica*, *Edwardsiella tarda*, *Comamonas terrigena*, and *Pseudomonas maltophilia*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1970; 174 :488-502
- [126] Narasimham, S. L. Gopaul, D. L. and Hatch, L. A. *Pseudomonas maltophilia* bacteremia associated with a prolapsed mitral valve. *Am. J. Clin. Pathol.* 1977; 68:304-306
- [127] Zuravleff, J. J. and Yu, V. L. Infections caused by *Pseudomonas maltophilia* with emphasis on bacteremia: case reports and a review of the literature. *Rev. Infect. Dis.* 1982; 4 : 1236-1246
- [128] Dismukes, W. E. Karchmer, A. W. Buckley, M. J. Austen, W. G. and Swartz, M. N. Prosthetic valve endocarditis: analysis of 38 cases. *Circulation.* 1973; 48 : 365-377
- [129] Fischer, J. J. *Pseudomonas maltophilia* endocarditis after replacement of the mitral valve: a case study. *J. Infect. Dis.* 1973; 128(1) : S771-S773
- [130] Yu, V. L. Rumans, L. W. Wing, E. J. McLeod, R. Sattler, F. N. Harvey, R. M. and Deresinski, S. C. *Pseudomonas maltophilia* causing heroin-associated infective endocarditis. *Arch. Intern. Med.* 1978; 138:1667-1671
- [131] Gilardi, G. L. *Pseudomonas maltophilia* infections in man. *J. Clin. Pathol.* 1969; 51:58-61
- [132] Gilardi, G. L. Infrequently encountered *Pseudomonas* species causing infection in man. *Ann. Intern. Med.* 1972; 77 : 211- 215

Références bibliographiques

- [133] Ritter, E. Thurn, V. Becker Boost, E. Thomas, P. Finger, H. Wirsing, von conig, C.H. Epidemic occurrences of multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit. Zentralbl hyg Umweltmed. 1993; 193: 461-70
- [134] Fowler, J.r. Sakoulas, G. McIntyre, L.M. Meka, V.G. Arbeit, R.D. Cabell, C.H. and al. Persistent bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection is associated with agr dysfunction and low-level in vitro resistance to thrombin-induced platelet microbicidal protein. J Infect Dis. 2004; 190(6):1140- 1149
- [135] Vuong, C. Saenz, H. L. Götz, F. & Otto, M. Impact of the agr quorum-sensing system on adherence to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. The Journal of Infectious Diseases. 2000; 182(6): 1688–1693
- [136] Schweizer, M.L. Furuno, J.P. Sakoulas, G. Johnson, J.K. Harris, A.D. Shardell M.D. and al. Increased mortality with accessory gene regulator (agr) dysfunction in *Staphylococcus aureus* among bacteremic patients. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(3) :1082- 1087
- [137] Perichon, B. Courvalin, P. VanA-Type Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 2009; 53(11): 4580-4587
- [138] Bonnet, R. Caron, F. Cavallo, J.D. Chardon, H. Chidiac, C. Courvalin, P. et al Comité de l'antibiogramme. La société française de microbiologie Recommandations. 2012 . 59 p
- [139] Rose, W.E. Rybak M.J. and al. Correlation of vancomycin and daptomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus* in reference to accessory gene regulator (agr) polymorphism and function." J Antimicrob Chemother . 2007; 59 : 1190-1193
- [140] Sakoulas, G. Eliopoulos, M. and al. Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycin and platelet microbicidal protein correlates with defective autolysis and loss of accessory gene regulator {agr} function. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(7): 2687-2692
- [141] De Vos, D. Lim, J.r. De Vos, P. Sarniguet, A. Kersters, K. Cornelis, P. Detection of outer membrane lipoprotein I and its gene in fluorescent and non-fluorescent *Pseudomonas*: implications for taxonomy and diagnosis. J. Gen. Microbiol. 1993; 139 : 2215-2223
- [142] Selezska, K. Kazmierczak, M. Mu'sken, M. Garbe, J. Schobert, M. Ha'ussler, S. Wiehlmann, L. Rohde, C. Sikorski, J. *Pseudomonas aeruginosa* population structure revised under environmental focus: impact of water quality and phage pressure. Environ. Microbiol. 2012; 14 : 1952 -1967

Références bibliographiques

- [143] Saint-Onge, A. Romeyer, F. Lebel, P. Masson, L. Brousseau, R. Specificity of the *Pseudomonas* PAO-1 lipoprotein I gene as a probe and PCR target region within the Pseudomonaceae. J. Gen. Microbiol. 1992; 138: 733 - 741
- [144] Richard Bonnet et al : Comité de l'antibiogramme de la société Française de la microbiologie Recommandation 2017
- [145] C-CLIN Paris Nord: Le circuit du linge à l'hôpital, CNEH - Centre National de l'Équipement hospitalier , Revue Hospitalière . 1995 : 4p
- [146] Alilou, H. Bencharki, B. Idrissi Hassani, L.M. Barka, N. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* . Afrique SCIENCE. 2014; 10(3): 316 – 328
- [147] <http://www.sahara-nature.com/index.php/> Sahara nature. Flore du Sahara. [Consulté le 13 janvier 2009]
- [148] El Sayed, A. El Negoumy, N. H. J. Nat prod, 1987; 50 : 519-520
- [149] Melekmi, A. Saad, A. Belboukhari, N. & Cheriti, A. Antimicrobial activity of the essential oil of *Bubonium graveolens*. Ann. Univ. Bechar. 2006; 2 : 22 - 24
- [150] Huetz , A. Boissons et civilisations en Afrique. Éd. Presses Univ. de Bordeaux, 2001. 658 p
- [151] Astralaga, M. A guide of medicinal plants in North Africa. Centre for Mediterranean Cooperation, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources Éd. IUCN, 2005. 256 p
- [152] [http:// www. Sahara-nature.Com / index.php /](http://www.Sahara-nature.Com/index.php/) Sahara nature. Flore du Sahara [Consulté le Janvier 2013]
- [153] Saleem, M. Parveen, S. Riaz, N. Nawaz, M. Ashraf, T.M. and al New bioactive natural products from *Launaea nudicaulis*. Phytochemistry Letters. 2012 ; 5(4): 793–799
- [154] Rashid, S. Mohammad, A. Rubeen, A. and Bidi, C. Insecticidal and Cytotoxic Activities of *Launaea nudicaulis* (Roxb.) and *Launaea resedifolia*(Linn.). Pakistan journal of Biological Sciences. 2000; 3(5) : 808-809

Références bibliographiques

- [155] Bitam, F. Ciavatta, L. Manzo, E. Dibi, A. Chemical characterisation of the terpenoid constituents of the Algerian plant *Launaea arborescens* Margherita Gavagnin .Phytochemistry. 2008; 69 (17) : 2984-2992
- [156] Zidorn, C. Heller, W. Ellmerer, E. Johrer, K. A new sesquiterpene lactone sulfate from *reichardia gaditana* (asteraceae). zeitschrift für Naturforschung. Teil B. 2007; 62(21):132-234
- [157] Belboukhari, N. and Cheriti, A. Ethnomedical and antimicrobial studies of *Launaea naudiculus*. Electronic journal of environmental, Agriculture and food Chemistry. 2008
- [158] Ramaut, J-L. Hofinger, M. Dimbi, R. Corvisier, M. Lewalle, J. Chromatographia, Oxford. 1985; 20(3) :193-194
- [159] Essaqui, A. Elamrani A. Cayueta J.A. Benaissa, M. Chemical Composition of the Essential Oil of *Warionia saharae* from Morocco. J.of Essential Oil-Bearing Plants. 2007; 10 (3): 241-246.
- [160] Beent, J.E. Flora of Tropical East Africa. Royal Botanic Garden. 2002. 315 p
- [161] Mezhoud, S. Derbré, S. Ameddah, Shekkiou, . R. M Boumaaza, O. Seghiri, R. Benayache, S. Richomme, P. Benayache, F. Antioxydant activity and chemical constituents of *Warionia saharae* Bent. et Coss. (Compositae) from Algeria. Int. J. Med. Arom. Plants. 2012; 2(3): 509 - 513
- [162] Liliana, K. *Warionia* (Asteraeae) : a relict genus of Cichorieae. Anales del jardin Botánico de Madride. 2008; 65(2) : 367-381
- [163] Ito, T. Katayama, Y. Asada, K. Mori, N. Tsutsumimoto, K. Tiensasitorn, C. Hiramatsu, K. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 2001; 45 :1323–1336
- [164] Jansen, W.T. Beitsma, M.M. Koeman, C.J. van Wamel, W.J. Verhoef, J. Fluit, A.C. Novel mobile variants of staphylococcal cassette chromosome *mec* in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 2006; 50 :2072 - 2078
- [165] Schaller, M. Borelli, C. Korting H.C. and Hube B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. Blackwell Publishing Ltd • Mycoses . 2005; 48 : 365–377
- [166] Pujol, C. Reynest, J. Renaudt, F. Raymond, M. Tibayren, C.M. yalaini, F. Janbont, F. Mallii, F. Bastide, J.M. The yeast *Candida albicans* has a clonal mode of reproduction in a population of

Références bibliographiques

- infected human immunodeficiency virus-positive patients : Genetic polymorphism/clonal theory/AIDS/population structure, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993; 90: 9456-9459
- [167] Clinical and Laboratory institute Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts ; NCCLS, 2004; 24(15): M44-A
- [168] www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/62806_2009_03_FR.pdf
[consulté le 04 Fevrier 2015]
- [169] NMR Data Processing MestREC.v4.9.9.6-RECOiL_1 Copyrigh © 1996-2006 :
www.mestrec.com
- [170] Picard, C.F. Graphes et questionnaires, Gauthiers-Villards, 1972
- [171] Hunt, E.B. Marin, J. Stone, P.J. Experiments in induction, Academic Press, New York, 1996
- [172] Ca Lipinski, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. Adv. Drogue Del. Tour. 1997, 23. 3 : 3-25
- [173] Quinlan, J.R. Learning efficient classification procedures and their application to chess and games: An Artificial Intelligence Approach, , Morgan Kaufman Publishers, 1983 ; 1: 463 - 482
- [174] Kirkiacharian, S. Structure et activité du médicament, Chimie médicinale. 2015;1. 3280 p
- [175] Patani,G.A. and Edmond, J. LaVoie Bioisosterisme: A Rational Approach in Drug Design Chem. Rev. 1996; 96 (8) :3147–3176
- [176] Boulanouar, N. Substances naturelles a visée antifongique : Cas particulier des polyphenols . T hèse de doctorat Université d'Oran1 - Ahmed Ben Bella . 2011
- [177] Ortuno. Citrus paradisi and citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. Food Chemistry. 2005
- [178] Mabry, T.J. Markham, K.R. and Thomas, M.B. The Systematic Identification of Flavonoids, Springer-Verlag, New York. Heidelberg.Berlin.1970 : 35-230
- [179] Silverstein, R. M. Identification spectroscopique de composés organiques. Paris. 1998 .75p
- [180] Jurd, L. and Horowitz, R. Spectral properties of flavonoid compounds, in the chemistry of flavonoid compounds , edited by T.A. Geissman, Pergamon Press, New York, 1962 : 107-155
- [181] Slade, D. Ferreira, D. and Marais, J. Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids, Phytochemistry . 2005; 66 : 2177-2215

Références bibliographiques

- [182] Sylvie, M. Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thèse de doctorat. l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé d'Angers. 2011
- [183] Harbone, J.B. phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis, chap.2, Eds . Chapman & Hall, London. 1973
- [184] Hing, M. Ruo, C. lai, K. L. franky, C. yu H. and zhen-yu C. Difference in flavonoid and isoflavone profile between soy bean and soy leaf. Biomed pharmacother. 2002 ; 56: 289-295
- [185] Manferd, H. Herbert, M. et Berand, Z. Methodes spectroscopiques pour la chimie organique éd Masson , Paris. 1997: 102 , 104 , 200
- [186] Khan, M.K. Polyphénols d'agrumes (flavanones) : extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec la sérum albumine. Sciences agricoles. Thèse U. d'Avignon, 2010. 238 p
- [187] Mansour-Djaalab , H.. Evaluation chimique et activite antidermatophyte de quelques plantes medicinales d'algerie Doctorat en sciences 2014 .161p
- [188] Sivakumaran, S. Molan, A.L. Meagher, L.P. Kolb, B. Variation in antimicrobial action of pranthocyanmidine from *Dorycrium rectum* against rumen bacteria.PhysChem. 2004; 5(3) :106-111
- [189] Punyasiri, P.A and al. Performed and induced chemical resistance of tea leaf against *Exobasidium vaxans* infections. J.Chem Agri. 2005; 3(6) : 1315-24
- [190] Latte, L.P. Kolodziej, H. Antifungal effect hydrolysables tanins and relates compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. Naturforsch. 2000; 55(5-6) : 467-72
- [191] Borg, MA, Scicluna, E. Kraker, M. Van de Sande-Bruinsma, N. Tiemersma, E. Antibiotic resistance in the south-eastern Mediterranean - Preliminary results from the Armed Project. Euro Surveill. 2006; 11: 164-167
- [192] Araj, G.F. Uwaydah, M.M. Alami, S.Y. Antimicrobial susceptibility patterns of bacterial isolates at the American University Medical centre in Lebanon. Diagn Microbiol Infect Dis . 1994; 3 : 151-158
- [193] Fass, R.J. Helsel, V.L. Barnishan, J. Ayers, L.W. In vitro susceptibilities of four species of coagulase negative Staphylococci. Antimicrob Agents Chemother. 1986 ; 30: 545-552

Références bibliographiques

- [194] Lei, P. A Fibrinogen-Binding Protein from *Staphylococcus epidermidis*. Thesis-Kongl Carolinska Medico Surgical Institute, 2001. 55p
- [195] http://www4.ac-nancy-etz.fr/physique/liens/Jumber/HPLC/Chromatographie_en_phase_liquide.htm. Umber, J. Cours de chimie organique, minérale et structurale: Chromatographie en phase liquide [consulté Janvier 2017]
- [196] <http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9> opyright © Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie de Rouen. Extrait du Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie de Rouen [consulté Mai 2018]
- [197] http://www.chimie-sup.fr/chromatographie.htm#_Toc70906875 Chimie-Sup.fr© 2007-2015, Les cours de chimie en ligne [consulté Mai 2018]
- [298] Jodrey Bergeron, Synthèses d'alcaloïdes indolizidiniques : Vers une nouvelle synthèse totale de la monomorpine via la chimie du cuivre mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en chimie extensionnée de l'université du Québec à Montréal. 2014
- [299] Hing, M. Ruo, C. Lai, k. Franky, C. yu, H. Zhen-yu, C. Diference in flavonoïde and isoflavone profile between soy bean and soy leaf ". *Biomed pharmacother.* 2002; 56 : 289-295
- [200] <https://www.lachimie.fr/analytique/infrarouge/table-infra-rouge.php> Chimie analytique: Table infrarouge IR [consulté octobre 2019]
- [201] Recurt-Carrere, A. La Grande Consoude . Université Toulouse III Paul Sabatier. faculté des sciences pharmaceutiques. thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. 2015. 116 p
- [202] Le Goff, R. Université du Havre U.F.R des sciences et Techniques .Thèse de Doctorat. 2015 313 p
- [203] El-Shazly, A. Wink, M. Diversity of Pyrrolizidine Alkaloids in the Boraginaceae Structures, Distribution, and Biological Properties. *Diversity* 2014, 6, 188-282
- [204] El-Shazly, A. El-Domiaty, M. Witte, L.Wink, M. Pyrrolizidine alkaloids in members of the Boraginaceae from Sinia (Egypt). *Biochem. Syst. Ecol.* 1998; 26: 619-639

Références bibliographiques

- [205] Mattoks, A.R. Pigott, C.D. Pyrrolizidine alkaloids from *Cynoglossum germanicum*.
Phytochemistry 1990; 29: 2871-2872
- [206] Van Dam, N.M. Witte, L. Theuring, C.; Hartmann, T. Distribution, biosynthesis and turnover of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*. Phytochemistry 1995; 39 : 287-292
- [207] Man'ko, I.V. Alkaloids of *Cynoglossum officinale* and *Echium vulgare* and standard preparation from *Cynoglossum officinale*. Farm. Zh. (Kiev) 1964, 19 : 22-26
- [208] Akramov, S.T. Kiyamitdinova, F. Yunusov, S.Y. Alkaloids of *Solenanthus turkestanicus*, *Lindelofia olgae*, and *Trachelanthus korolkovii*. Dokl. Akad. Nauk Uzb. SSR 1962; 19, 29 p
- [209] Akramov, S.T. Kiyamitdinova, F. Yunusov, S.Y. Alkaloids of *Solenanthus circinatus*, *Paracaryum himalayense* and *Lindelofia pterocarpa*. Dokl. Akad. Nauk Uzb. SSR 1964; 21, 28 p
- [210] Kiyamitdinova, F. Akramov, S.T. Yunusov, S.Y. Alkaloids from the family Boraginaceae. Khim. Prir. Soedin. 1967; 3 : 411-412
- [211] Akramov, S.T. Kiyamitdinova, F. Yunusov, S.Y. Study of *Rindera* and *Lindelofia*. Dokl. Akad. Nauk Uzb. SSR 1965; 22 :35-38
- [212] Roeder, E.; Wiedenfeld, H.; Stengl, P. 13C-NMR Data de stereoisomers Alkaloides de *Symphytum officinale* L. Arc. Pharm. (Weinheim) 1982; 315: 87-88
- [213] Hartmann, T.; Witte, L. Chemistry, biology and chemoecology of pyrrolizidine alkaloids. In Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives; Pelletier, S.W., Ed.; Elsevier Science Ltd.: Kidlington, UK, 1995; 9 (4) :155-233
- [214] Reina, M. Gonzalez-Coloma, A. Gutierrez, C. Cabbera, R. Henriquez, J. Villarroel, L. Bioactive saturated pyrrolizidine alkaloid from *Heliotropium floridum*. Phytochemistry 1997; 46 :845-853
- [215] Birecka, H. Frohlich, M.W. Glickman, M. Free and esterified necines in *Heliotropium* species from Mexico and Texas. Phytochemistry 1983 ; 22 :1167-1171

Références bibliographiques

- [216] Smith, L.W. Culvenor, C.C.J. Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *J. Nat. Prod.* 1981 ; 44 : 129-152
- [217] Sharma, R.A. Singh, B. Singh, D. Chandrawat, P. Ethnomedicinal, pharmacological properties and chemistry of some medicinal plants of Boraginaceae in India. *J. Med. Plant Res.* 2009; 3: 1153-1175
- [218] Edgar, J.A. Smith, L.W. Transfer of Pyrrolizidine Alkaloids into Eggs: Food Safety Implications. *ACS Symp. Ser.* 1999; 754 :118-128
- [219] Prakash, A.S.; Pereira, T.N.; Reilly, P.E.A.; Seawright, A.A. Pyrrolizidine alkaloids in human diet. *Mutation Res.* 1999; 443: 53-67
- [220] Roeder, E. Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie* 1995; 50: 83-98
- [221] Roeder, E. Analysis of pyrrolizidine alkaloids. *Curr. Org. Chem.* 1999; 3: 557-576
- [222] Roeder, E. Medicinal plants in China containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie* 2000; 55:711-725
- [223] Wink, M. Plant secondary metabolism: Diversity, function and its evolution. *Nat Prod. Commun.* 2008; 3: 1205-1216
- [224] Wink, M.; van Wyk, B.E. *Mind-altering and Poisonous Plants of the World*; Briza Publications: Pretoria, South Africa, 2008
- [225] Roeder, E.; Wiedenfeld, H. Pyrrolizidine alkaloids in medicinal plants of Mongolia, Nepal and Tibet. *Pharmazie.* 2009; 64: 699-716
- [226] Wiedenfeld, H. Plants containing pyrrolizidine alkaloids: Toxicity and problems. *Food Addit. Contam.* 2011; 28 : 282-292
- [227] Jiang, Y.; Fu, P.P.; Lin, G. Hepatotoxicity of naturally occurring pyrrolizidine alkaloids. *Asian J. Pharmacodyn. Pharmacokinet.* 2006, 6, 187–192.
- [228] Dreger, M. Stanisławska, M. Krajewska-Patan, A. Mielcarek, S.; Mikołajczak, L.P.; Buchwald, W. Pyrrolizidine alkaloids—chemistry, biosynthesis, pathway, toxicity, safety and perspectives of medicinal usage. *Herba Polonica* 2009; 55:127–147
- [229] Roeder, E. Wiedenfeld, H. Plants containing pyrrolizidine alkaloids used in the Traditional Indian Medicine—including Ayurveda. *Pharmazie.* 2013; 68: 83–92

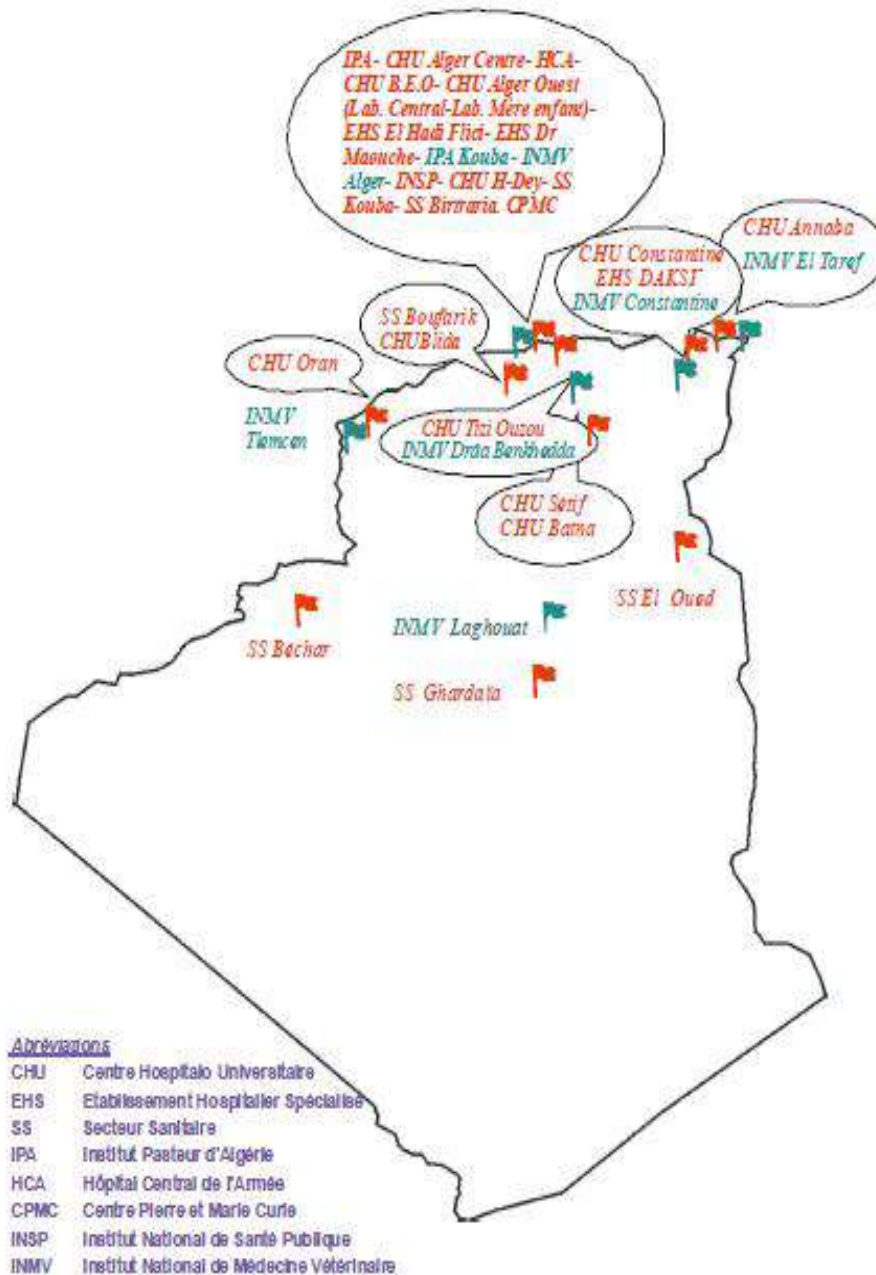
Références bibliographiques

- [230] Roeder, E. Sarg, T. El-Dahmy, S. Abdel-Ghani, A. Pyrrolizidine alkaloids from *Alkanna orientalis*. *Fitoterapia*. 1992; 63: 405–408
- [231] Kelley, R.B. Seiber, J.N. Pyrrolizidine alkaloid chemosystematics in *Amsinckia*. *Phytochemistry* 1992, 31: 2369-2387
- [232] Mauro Neves Muniz. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la camptothécine. Autre. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. 195 p
- [233] Rizk, A.-F. M. Naturally Occuring Pyrrolizidine Alkaloids, Ed. CRC Press : Boston, 1991, Ch. 1(1)
- [234] Wildman, S. A. Crippen, G. M. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 1999; 39: 868-873
- [235] Quingsu xiaa, Ming W.Chou, Fred..F.Kadlubar, Po-Chen Chan, Peter P. Fu. Human liver microsomal metabolism and ADN Adduct formation of the tumoreigenic pyrrolizidine alcaloid, Riddelline. *Chem. Res. Toxicol.* 2003 ;16 (1) : 66 - 73
- [236] Frolich, C. Hartmann, T. Tissue distribution, core biosynthesis and diversification of pyrrolizidine alcaloids of the lycopsamine type in three Boraginaceae species. *phytochemistry*. 2007; 68 (7) : 1026-1037
- [237] Tasca, J. Smith, C.R. Burzynski, E.A. Brynn, N. HPLC-MS detection of pyrrolizidine alcaloides and their N-oxides in herbarium specimens dating back to the 1850s. 2017
- [238] Na li, Sheng-nan Tan, Jian Cui, Na Guo, Wei Wang, Yuan-gangZU, Shuang jin, Xian-xiuXu, Qun Liu et Yu-jie FU. PA-1, a novel synthesized pyrrolizidine alkaloid, inhibits the growth of *Escheria coli* and *Staphylococcus aureus* by damaging the cell membrane. *The journal of Antibiotics* . 2014; 67 : 689-696
- [239] Moreira, R. Pereira, M.d. Valentao, P. Andrade, P. Pyrrolizidine alcaloids: Chemistry, pharmacologi, Toxicology and food safety. *Molecular scienses*. 2018; 19(6): 1668
- [240] Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture et Organisation de la santé OMS. Program mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires Commission du codex alimentairius. 2011 LA Haye . 86p

ANNEXES

Annexe 1

Laboratoires participants au programme OMS Appliqué en Algérie [26] .



*Situation géographique des laboratoires participants
au réseau de surveillance de la résistance
bactérienne aux antibiotiques*

Annexe 2

Produits utilisés pour la désinfection des incubateurs pour prématurés [48]

Produit	Dossier technique	composant	Norme Microbiologique	T72-180 Alimentaire	Mode d'utilisation	Rinçage	Tests Spécifique couveuses	Inflammable	Application en présence du nourrisson
Cidalkan	Oui	Alcool iso propylique Tensio actif amphotère alkyamine	EN 1040 EN 72171 EN 72190 EN 1275 EN 72200 EN 72180 Rotavirus	Non	PAE Appliquer avec une chiffonnette	Sans essuyage	Non	oui	Non
Anios TSA	Oui	Détergent Ammonium IV Biguanide Isopropanol	EN 1040 EN 1276 EN 72190 EN 72200 Rotavirus	oui	PAE Pulvérisation	A essuyer	Oui	Non	Non
Surface haute	Oui	Détergent Ammonium IV acetate de guanidmium Isopropanol	EN 1040 EN 1276 EN 72190 EN 72200 Rotavirus	Non	PAE Pulvérisation	A essuyer	Oui	Non	Non
Bacillol	Oui	Alcool tensioactif non ionique	EN 72150 EN 1040 EN 72190 EN 72200	Non	PAE Appliquer avec une chiffonnette	Sans essuyage	Oui	oui	Non
Bactinyl	Oui	Sels de peroxyde d'ammonium IV Ethanol 95°(4%)	EN 1040 EN 72190 EN 72180 EN 72181 EN 72171 EN 72151	Non	Non PAE Appliquer avec une chiffonnette	A rincer	Non	Non	Non
Sekulyse	Oui	Polyhexenide tensiactif détergents	EN 1040 EN 72171 EN 72190 EN 1275 Rotavirus condida	Non	PAE Pulvérisation	A essuyer	Non	Non	Non
Amphomouse	Oui	Détergent Ammonium IV Biguanide	EN 1040 EN 72151 EN 72171 EN 72201 EN 1275	Non	Pulvérisation PAE	A essuyer	Non	Non	Non
Bactex SID	Oui	Ammonium IV tensiactif non ionique complexant alcalin	EN 1040 EN 72151 EN 72171 EN 72190 EN 72201 EN 1275	oui	Pulvérisation PAE à diluer Appliquer avec une chiffonnette	A rincer	Non	Non	Non

Annexe 3 [61]

III.10 Comment effectuer un bon Lavage des mains ?

Utilisez le **Haka** des mains C'est-à-dire réalisez des gestes synchrones et bien précis comme suis :

 <p>1</p>	<p>1 Enlevez vos gants, en prenant soins de ne pas vous contaminer les</p>
 <p>2</p>	<p>2 Utilisez un désinfectant liquide.</p> <p>3 Lavez vos mains commencez par Frottez paume sur Paume.</p>
 <p>4</p>	<p>4 Paume sur dos</p> <p>5 doigts entrelacés.</p>
 <p>5</p>	<p>6 et 7 chaque pouce et lavé à l'intérieur de la paume de l'autre main.</p>
 <p>6</p>	<p>8 et 9 Bien se frotter les ongles d'une main sur la paume de l'autre main.</p>
 <p>7</p>	<p>10 et 11 chaque paume d'une main va laver le poignet de l'autre main avec des mouvements rotatoires et répétés.</p>
 <p>8</p>	<p>12 Puis bien se rincer.</p> <p>13 Utilisez du papier à usage unique pour vous sécher les mains.</p> <p>14 bien se sécher les deux mains.</p>
 <p>9</p>	<p>15 Fermez le robinet en utilisant le papier pour essuyage, puis jetez ce dernier.</p>
 <p>10</p>	<p>11</p>
 <p>11</p>	<p>12</p>
<p>12</p>	<p>13</p>
<p>13</p>	<p>14</p>
<p>14</p>	<p>15</p>

Annexe 4**Questionnaire n° 1****Structures hospitalières investiguées : Données statistiques**

- Nom de l hôpital ?**
- * Nombre total des malades hospitalisés par année ? 2011, 2012 et 2013 ?
- * Nombre de Lits
- * Nombres de Services hospitalier
- * Population prise en charge.....
- * Ratio de la capacité globale des structures hospitalières par wilaya
- lits/1000 habitants
 - médecin spécialiste / habitants.....
 - médecin généraliste / habitants

Questionnaire n° 2**Suivi : Déchets médicaux****Questionnaire général**

- Existe-t-il un Service de traitement des déchets ? Oui..... ou Non ?.....
- Si oui : INTERNE... OU...EXTERNE ?.....
- QUI ?.....
- Comment ? TECHNIQUES ? Décrire la ou les techniques utilisées ?
-
- Y a t il un traitement des eaux usées de l'hôpital ? Oui..... Non
- Est-ce que les eaux usées de l'hôpital sont jeter directement dans la canalisation publique ?
Oui..... Non

Questionnaire Déchets Pour chaque service

- Nom du service ?
- Quels sont les Types de déchets générés dans le service ? classification des déchets par nature et par danger.
- Est-ce qu'ils sont tous jetés a la poubelle séparément ou en même temps ?.....
- Est-ce qu'ils sont traités séparément?
- Quels sont les traitements utilisés ?
- Est-ce qu'ils sont mis dans des sacs étanches de différentes couleurs (solides).?
.....
- Quelles sont les types de poubelles utilisées ? est-ce qu'ils s'ouvrent avec la mains
Les pieds
- Les couches des malades infectés ?
- Les draps et couvertures, rideaux et matelas à jeter ?

- * OU est ce que vous les jeter ?
- * Est ce qu'ils subissent un traitement avant d'être jeter ? décrire le traitement s'il existe ?
.....
- **Cas particuliers**
- **Maternité** : suivre les placentas ?
- **Hémodialyse** : suivre les sachets d'hémodialyse ?
- **infectieux** : couches des malades infectés.....
- **Laboratoire** : suivre le sang, Les seringues et autres produits biologiques ?
.....
- * Ou est ce qu' ils sont jetés ?
- * Est-ce qu'ils sont d'abord traités oui ou non ?
si oui comment ?

Questionnaire n° 3

Suivi : Traitement du linge

Magasin:

Personne chargée de la Réception

Lieu d' Entreposage

Modalité de Distribution vers les services

Services:

Personne chargée de la Réception

Lieu d' Entreposage

Personne responsable de la gestion du linge

Délais de Séjour du linge sale dans le service

Personne responsable de la réfection des lits

Lieu du stockage du linge sale dans le service

Transport:

Personne chargé du transport

Moyens de transport utilisés

Destination

Lingerie

Linge sale

Entreposage

Traitement

- Tri

- Lavage

-Séchage

Linge propre

- Entreposage au niveau de la lingerie
- Récupération
- Transport
- Entreposage service
- Devenir du Linge usés ou déchiré

Questionnaire n° 4**Suivi : Préparations des biberons et de médicaments pour chimiothérapie**

- * Personne chargée
- *Lieu de stockage des produits de base de la préparation
- * Lieu de Préparation.....
- * Matériels utilisés.....
- * Condition d'asepsie à tous les niveaux.....
- * Suivi et description des différentes étapes de la réalisation du Protocol de désinfection adopté par la structure investiguée.....
- * Relever l'intégralité des points critiques de contamination relatif aux différentes étapes suivies.....

Questionnaire n° 5**Suivi : Désinfection des incubateurs pour prématurés en néonatalogie**

- * Personne chargée de la désinfection
- * Matériels utilisé pour la désinfection
- * Produits utilisés pour la désinfection
- * Suivi et description des différentes étapes de la réalisation du Protocol de désinfection adopté par la structure investiguée
- * Relever l'intégralité des points critiques de contamination relatif aux différentes étapes suivies.....

Annexe 5

Cette annexe présente les techniques et réactifs utilisés pour les prélèvements microbiologiques réalisés.

Composition des milieux de culture utilisés**a) Gélose Chapman**

- Peptone :.....10,0 g
 - Extrait de viande de bœuf :.....1,0 g
 - Chlorure de sodium :.....75,0 g
 - Mannitol :.....10,0 g
 - Rouge de phénol :.....0,025 g
 - Agar-agar :.....15,0 g
 - Eau distillée :.....qsp 1 Litre
- pH = 7,4

b) Gélose Hektoen

- * protéase-peptone:.....12,0 g
- * extrait de levure : facteur de croissance.....3,0 g
- * lactose : critère de différenciations.....12,0 g
- * saccharose : critère de différenciation.....12,0 g
- * salicine : critère de différenciation.....2,0 g
- * citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H₂S.....1,5 g
- * sels biliaires : inhibiteur.....9,0 g
- * fuchsine acide : inhibiteur.....0,1 g
- * bleu de bromothymol : indicateur de pH.....0,065 g
- * chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique.....5,0 g
- * thiosulfate de sodium : précurseur d'H₂S.....5,0 g
- * agar.....14,0 g

pH = 7,6
75g de poudre pour 1L d'eau.

c) Gélose Sabouraud

- * Peptone..... 10 g
- * Glucose massé..... 20 g
- * Agar-agar..... 15 g
- * Eau distillée (qsp)..... 1 000 ml

* vitamines et facteurs de croissance

d) Gélose Mueller-Hinton

- infusion de viande de bœuf:300,0 ml
- peptone de caséine:17,5 g
- amidon de maïs:1,5 g
- agar: 17,0 g

pH = 7,4
38g de poudre pour 1L d'eau.

e) Gélose au sang [tryptone soja]

La gélose tryptone soja est utilisée comme base destinée à être additionnée de sang.

- Tryptone : 15g/l
- Peptone papaïnique de soja : 5
- Chlorure de sodium : 5
- Agar bactériologique : 15
- pH final : 7,3 ± 0,2
- Eau distillée :.....qsp 1 Litre

L'addition de 5 % de sang de cheval apporte les facteurs X et V nécessaires à la croissance d'*Haemophilus influenzae*.

Composition chimique du lactophénoL : bleu de méthyle ou bleu cotton

PhénoL en cristaux :	20 g
Acide lactique (commercial concentré) :	20 g
Glycérine :	40 g
Eau bidistillée :	20 g
Bleu de méthyle :	0,5 g

Les produits doivent être dissous dans l'ordre indiqué et en agitant modérément à l'aide d'une baguette de verre. La dissolution du bleu de méthyle peut prendre un certain temps (laisser reposer 24 h puis agiter à nouveau). Il est impossible de filtrer le mélange, qui est trop épais.

Si vous voulez filtrer, il faut effectuer cette opération avant d'introduire la glycérine dans la solution. Placer sur l'agitateur magnétique durant 2 à 6 heures.

conserver le bleu cotton au lactophénoL à l'obscurité, dans un flacon en verre ou en PVC inerte, fermé hermétiquement (risque d'altération par l'oxygène de l'air et de dilution par absorption de vapeur d'eau).

référence internationale en matière de colorants:

numéro du *Color Index* C.I. 42780

Test de la Staphylocoagulase

Ce test est utilisé pour confirmer l'identification des souches du genre espèce de *Staphylococcus aureus*.

Les souches de *Staphylococcus* à testé sont mise en suspension dense sur 5ml de bouillon BHIB supplémenté de quelques gouttes de plasma de lapin, l'ensemble est incubé à 37°C puis une première lecture est réalisé après 30mn d'incubation , puis Une heure, Deux heures, Trois heures et 24 heures.

Un résultat positif est exprimé par la formation de particules de coagulation visible à l'oeil nue certaines souches même coagules complètement ou une grande portion du bouillon incubé.

Pastorex™ Staph Plus

Tests d'agglutination au Latex pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.

Principe :

Le réactif Pastorex™ Staph Plus [code 56356] est un test d'agglutination rapide permettant la recherche simultanée :

du facteur d'affinité pour le fibrinogène (facteur d'agglutination), également appelée coagulase liée ou « clumping factor ».

- de la protéine A qui possède une affinité pour le « fragment cristalisable » [Fc] des immunoglobulines gamma [IgG].
- des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

Réactifs

un control positif, une plaque pour tester l'agglutination et des sticks pour homogénéisation.

Mode opératoire:

- Déposer une goutte du latex dans un cercle de la plaque
- Mettre en suspension avec une colonie bactérienne à identifier
- Bien homogénéiser.

Lecture

Positive: agglutination franches rouges.

Négative: suspension homogène de couleur rose foncé.

**Pastorex™ Strep****Réactifs**

six latex tests (A, B, C, D, F, G), un control positif, une plaque pour tester l'agglutination et des sticks pour homogénéisation.

Mode opératoire

- Déposer une goutte de chaque latex dans un cercle de la plaque
- Mettre en suspension avec une colonie bactérienne à identifier
- Bien homogénéiser.

Lecture

Positive: agglutination rouge sur fond vert

Négative: suspension homogène de couleur marron



Galeries API utilisées pour l'identification**1 Galerie biochimique API 10 S****2 Galerie biochimique API NH 4H****3 Galerie biochimique API Staph****1 Galerie biochimique API 10 S**

La galerie API 10S comporte 10 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β Dgalactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/vert	Jaune/gris
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/vert	Jaune
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu/vert
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin Liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat Jaune	TDA/ immediate Marron/Rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James / immédiat Incolore/vert/ Jaune	James/ immediate Rose
Ox	Sur papier filtre	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet
NO2	Tube GLU	Production de NO ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-5 mn Jaune	NIT 1 + NIT 2 / 2-5 mn Rouge

1 Technique :**Préparation de la galerie :**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

1 Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans une ampoule Suspension Medium ou dans un tube d'eau physiologique stérile.

1 Inoculation de la galerie :

Introduire la suspension dans les tubes de la galerie en évitant la formation de bulles.

Pour le caractère CIT, remplir tube et cupule.

Pour les autres caractères, seuls le tube doit être rempli.

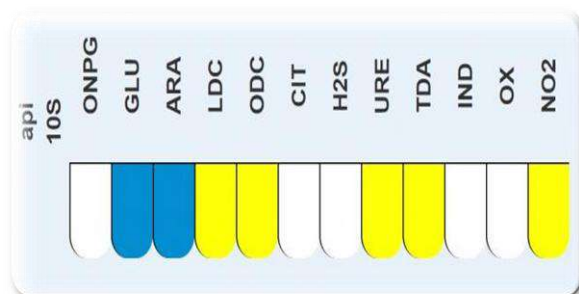
Pour les caractères LDC, ODC, URE, H₂S, remplir les cupules d'huile de paraffine.

Incuber 24 heures à 37°C

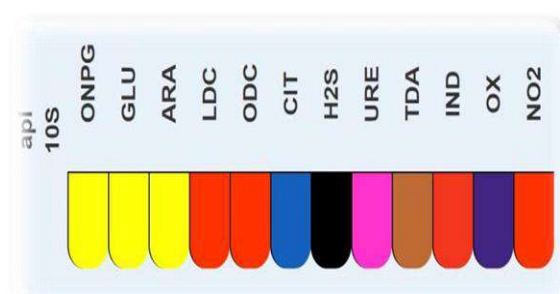
1 Lecture :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture

Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de résultats.



1 Résultats des tests négatifs



1 Résultats des tests positifs

1 Identification :**– Avec le tableau d'identification :**

Comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau ;

– Avec le catalogue analytique :

Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.

Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.

On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification.

Avec un logiciel d'identification

A l'aide d'une table de code pour chaque bactérie.

Tableau d'identification N°1 API 10S

API 10 S	V3.1	ONPG	GLU	ARA	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	OX	NO ₂
<i>Citrobacter koseri/amalonaticus</i>		97	100	95	0	86	87	0	2	0	92	0	99
<i>Citrobacter braakii</i>		51	100	99	0	99	75	81	1	0	1	0	99
<i>Citrobacter farmeri</i>		98	100	99	0	100	0	0	0	0	100	0	99
<i>Citrobacter freundii</i>		90	100	94	0	0	75	65	1	0	1	0	98
<i>Edwardsiella tarda</i>		0	99	1	99	100	1	94	0	0	99	0	99
<i>Escherichia coli 1</i>		76	95	80	98	56	1	3	4	0	70	0	99
<i>Escherichia coli 2</i>		74	99	90	0	32	1	0	2	0	50	0	98
<i>Escherichia vulneris</i>		100	99	99	15	0	0	0	4	0	0	0	99
<i>Enterobacter aerogenes</i>		99	99	99	98	99	84	0	2	0	0	0	99
<i>Enterobacter amnigenus</i>		99	98	98	0	95	56	0	0	0	0	0	99
<i>Enterobacter spp/Escherichia coli/Shigella sonnei</i>		100	100	100	0	100	0	0	0	0	0	0	99
<i>Enterobacter cloacae</i>		99	99	99	1	93	94	0	1	0	0	0	99
<i>Hafnia alvei</i>		60	99	75	100	98	40	0	5	0	0	0	99
<i>Klebsiella oxytoca</i>		99	99	96	78	2	90	0	40	0	100	0	99
<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>		99	99	99	72	0	90	0	60	0	0	1	99
<i>Morganella morganii</i>		2	97	1	5	96	2	1	99	91	97	0	88
<i>Pantoea spp 1</i>		100	100	80	0	0	28	0	0	1	0	0	85
<i>Pantoea spp 2</i>		96	100	99	0	0	68	0	0	0	100	0	85
<i>Proteus mirabilis</i>		1	96	1	1	98	57	83	99	98	2	0	93
<i>Proteus penneri</i>		0	100	0	0	0	1	15	100	100	0	0	99
<i>Proteus vulgaris group *</i>		0	97	1	0	1	31	83	98	99	94	0	99
<i>Providencia rettgeri</i>		1	99	1	0	0	70	0	94	99	88	0	98
<i>Providencia stuartii/alcalifaciens</i>		1	99	2	0	0	91	0	15	100	98	0	99
<i>Salmonella choleraesuis ssp arizonae</i>		97	100	99	96	97	50	96	0	0	1	0	99
<i>Salmonella choleraesuis ssp choleraesuis</i>		0	99	0	97	97	4	70	0	0	0	1	99
<i>Salmonella ser.Gallinarum</i>		0	100	100	100	1	0	33	0	0	0	0	99
<i>Salmonella ser.Paratyphi A</i>		0	100	99	0	100	0	5	0	0	0	0	99
<i>Salmonella ser.Pullorum</i>		0	100	68	75	99	0	85	0	0	0	0	99
<i>Salmonella spp</i>		4	100	94	92	95	74	85	0	0	3	0	99
<i>Salmonella typhi</i>		0	99	0	98	0	0	8	0	0	0	0	99
<i>Serratia liquefaciens</i>		94	100	98	70	99	85	0	5	0	0	0	99
<i>Serratia marcescens</i>		94	100	19	98	95	97	0	28	0	1	0	95
<i>Serratia odorifera</i>		95	99	95	97	43	87	1	0	0	99	0	99
<i>Shigella spp</i>		26	99	40	0	0	0	0	0	0	20	0	99
<i>Yersinia enterocolitica 1</i>		41	100	98	0	74	0	0	98	0	49	0	98
<i>Yersinia enterocolitica 2</i>		85	97	0	0	58	0	0	99	0	0	0	98
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>		77	98	29	0	0	13	0	96	0	0	0	95
<i>Aeromonas hydrophila</i>		96	98	61	50	0	50	0	0	0	85	99	98
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		95	99	0	100	100	0	0	1	0	99	99	99
<i>Vibrio alginolyticus/parahaemolyticus</i>		0	99	19	98	75	61	0	5	0	99	100	47
<i>Vibrio vulnificus/cholerae</i>		97	98	1	82	92	56	0	1	0	99	100	96
<i>Acinetobacter baumannii</i>		0	86	75	0	0	54	0	0	0	0	0	3
<i>Chryseobacterium indologenes</i>		20	0	0	0	0	14	0	92	0	70	99	20
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>		70	0	0	0	0	20	0	0	0	81	100	6
<i>Pseudomonas aeruginosa/fluorescens/putida</i>		0	30	11	0	0	68	1	15	0	0	99	14
<i>Pseudomonas spp</i>		1	7	8	0	0	54	1	4	0	0	98	48
<i>Shewanella putrefaciens group *</i>		0	6	1	0	80	83	90	1	0	0	100	96
<i>Sphingobacterium multivorum</i>		96	46	17	0	0	30	0	92	0	0	96	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		60	1	0	48	0	76	1	0	0	0	4	26

1 Tableau d'identification N°2 API 10S

0 002	<i>Pseudomonas</i> spp/ <i>aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Chryseobacterium meningosepticum</i> / <i>indologenes</i>	2 005	<i>Shigella</i> spp/ <i>Escherichia coli</i> 2
0 003	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> / <i>indologenes</i>	2 006	<i>Pseudomonas</i> spp/ <i>aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i>
0 004	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> / <i>Shigella</i> spp/ <i>Pseudomonas</i> spp	2 022	<i>Sphingobacterium multivorum</i> / <i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i>
0 006	<i>Pseudomonas</i> spp	2 024	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> / <i>enterocolitica</i> 2
0 007	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> / <i>indologenes</i>	2 045	<i>Providencia stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i> / <i>Proteus vulgaris</i> group* / <i>Morganella morganii</i>
0 016	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 055	<i>Proteus vulgaris</i> group *
0 022	<i>Chryseobacterium indologenes</i> / <i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Sphingobacterium multivorum</i> / <i>Pseudomonas</i> spp	2 060	<i>Proteus penneri</i>
0 023	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 064	<i>Proteus penneri</i>
0 026	<i>Chryseobacterium indologenes</i> / <i>Pseudomonas</i> spp/ <i>aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i>	2 065	<i>Providencia rettgeri</i> / <i>Proteus vulgaris</i> group* / <i>Morganella morganii</i> / <i>Providencia stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i>
0 027	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 074	<i>Proteus penneri</i> / <i>vulgaris</i> group * <i>mirabilis</i>
0 075	<i>Proteus vulgaris</i> group *	2 075	<i>Proteus vulgaris</i> group *
0 100	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 100	<i>Salmonella typhi</i>
0 104	<i>Salmonella typhi</i> / <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 103	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i>
0 206	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 104	<i>Salmonella typhi</i>
0 216	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 105	<i>Escherichia coli</i> 1
0 265	<i>Morganella morganii</i>	2 107	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i> / <i>Aeromonas hydrophila</i> / <i>Vibrio vulnificus</i> / <i>cholerae</i>
0 274	<i>Proteus mirabilis</i>	2 114	<i>Salmonella typhi</i> / <i>choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i>
0 314	<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i>	2 204	<i>Salmonella</i> ser. <i>Paratyphi A</i> / <i>Pullorum</i> / <i>choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i> / <i>Escherichia coli</i> 2
0 315	<i>Edwardsiella tarda</i>	2 214	<i>Salmonella</i> ser. <i>Pullorum</i> / <i>choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i>
0 400	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> / <i>Acinetobacter baumannii</i> / <i>Pseudomonas</i> spp/ <i>aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i>	2 215	<i>Edwardsiella tarda</i>
0 402	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> /spp	2 224	<i>Yersinia enterocolitica</i> 2/ <i>enterocolitica</i> 1/ <i>Morganella morganii</i> / <i>Proteus mirabilis</i>
0 403	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> / <i>indologenes</i>	2 225	<i>Morganella morganii</i> / <i>Yersinia enterocolitica</i> 1
0 404	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 245	<i>Morganella morganii</i>
0 406	<i>Pseudomonas</i> spp/ <i>aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 261	<i>Morganella morganii</i>
0 416	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 264	<i>Proteus mirabilis</i> / <i>Morganella morganii</i>
0 422	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Chryseobacterium indologenes</i> / <i>Pseudomonas</i> spp/ <i>Sphingobacterium multivorum</i>	2 265	<i>Morganella morganii</i>
0 423	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 270	<i>Proteus mirabilis</i>
0 427	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 274	<i>Proteus mirabilis</i>
0 445	<i>Providencia stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i>	2 303	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i>
0 465	<i>Providencia rettgeri</i> / <i>stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i> / <i>Proteus vulgaris</i> group*	2 304	<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i> / <i>Hafnia alvei</i> / <i>Salmonella</i> ser. <i>Pullorum</i>
0 500	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 305	<i>Edwardsiella tarda</i> / <i>Escherichia coli</i> 1
0 504	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 307	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i> / <i>Plesiomonas shigelloides</i> / <i>Vibrio vulnificus</i> / <i>cholerae</i>
0 606	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 310	<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i> / <i>ser. Pullorum</i> / <i>Edwardsiella tarda</i> / <i>Salmonella</i> spp
0 612	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 311	<i>Edwardsiella tarda</i>
0 616	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *	2 314	<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i> / <i>ser. Pullorum</i> / <i>Edwardsiella tarda</i> / <i>Salmonella</i> spp
0 674	<i>Proteus mirabilis</i>	2 315	<i>Edwardsiella tarda</i>
1 000	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 365	<i>Morganella morganii</i>
1 002	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> / <i>Sphingobacterium multivorum</i>	2 400	<i>Acinetobacter baumannii</i>
1 003	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	2 402	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Pseudomonas</i> spp
1 007	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	2 406	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Pseudomonas</i> spp/ <i>Shewanella putrefaciens</i> group*/ <i>Aeromonas hydrophila</i>
1 020	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	2 422	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Sphingobacterium multivorum</i> / <i>Pseudomonas</i> spp
1 022	<i>Sphingobacterium multivorum</i> / <i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 424	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> / <i>Providencia rettgeri</i>
1 023	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 425	<i>Providencia rettgeri</i>
1 024	<i>Yersinia enterocolitica</i> 2/ <i>pseudotuberculosis</i>	2 441	<i>Providencia stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i> / <i>rettgeri</i>
1 027	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 444	<i>Providencia stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i> / <i>rettgeri</i>
1 100	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 445	<i>Providencia stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i> / <i>rettgeri</i>
1 104	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> / <i>Escherichia coli</i> 1	2 461	<i>Providencia rettgeri</i> / <i>stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i> / <i>Proteus vulgaris</i> group*
1 224	<i>Yersinia enterocolitica</i> 2	2 464	<i>Providencia rettgeri</i>
1 307	<i>Plesiomonas shigelloides</i> / <i>Vibrio vulnificus</i> / <i>cholerae</i>	2 465	<i>Providencia rettgeri</i> / <i>stuartii</i> / <i>alcalifaciens</i> / <i>Proteus vulgaris</i> group*
1 400	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 474	<i>Proteus vulgaris</i> / <i>mirabilis</i> / <i>penneri</i>
1 402	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> / <i>Sphingobacterium multivorum</i> / <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> / <i>Pseudomonas</i> spp	2 475	<i>Proteus vulgaris</i> group *
1 403	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	2 503	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i>
1 404	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 507	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i> / <i>Aeromonas hydrophila</i> / <i>Vibrio vulnificus</i> / <i>cholerae</i>
1 422	<i>Sphingobacterium multivorum</i> / <i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 616	<i>Shewanella putrefaciens</i> group *
1 423	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 634	<i>Proteus mirabilis</i>
1 500	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 664	<i>Proteus mirabilis</i>
1 504	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 665	<i>Morganella morganii</i>
1 707	<i>Vibrio vulnificus</i> / <i>cholerae</i>	2 670	<i>Proteus mirabilis</i>
2 000	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 674	<i>Proteus mirabilis</i>
2 002	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / <i>fluorescens</i> / <i>putida</i> / <i>Pseudomonas</i> spp	2 703	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i>
2 004	<i>Shigella</i> spp	2 704	<i>Hafnia alvei</i> / <i>Serratia marcescens</i> / <i>Salmonella choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i> / <i>Salmonella</i> spp
* groupe / group / Gruppe / grupo / gruppo / Grupo / ομάδα / grupp / grupe / grupa		2 707	<i>Vibrio alginolyticus</i> / <i>parahaemolyticus</i> / <i>vulnificus</i> / <i>cholerae</i>
		2 714	<i>Salmonella</i> spp/ <i>choleraesuis</i> ssp <i>choleraesuis</i>
		2 724	<i>Serratia marcescens</i> / <i>Hafnia alvei</i>

2 Galerie biochimique API NH 4H

API NH est un système standardisé pour l'identification des *Neisseria*, *Haemophilus* et *Brahmella catarrhalis*. En 4 Heures.

2 Principe

Le principe repose sur l'utilisation par les enzymes bactériennes, de substrats desséchés dans les cupules d'une microplaque et réhydraté par l'inoculum bactérien au moment de l'emploi.

La galerie API NH comporte 10 microtubes contenant des substrats deshydratés, pour réaliser 12 tests d'identification (réactions enzymatiques et fermentation des sucres) ainsi que la recherche d'une pénicillinase.

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

2 Les caractères biochimiques testés sont :

a) L'utilisation des glucides : glucose [GLU], maltose [MAL], fructose [FRU], Saccharose [SAC], acidification du milieu et virage du rouge de phénol au jaune.

b) Mise en évidence d'une β galactosidase [ONPG] par hydrolyse de l'ONPG qui libère de l'ortho- Nitrophénol de couleur jaune.

c) Hydrolyse de la tributyrine [TRY] sous l'action d'une lipase avec libération d'acide butyrique provoquant l'acidification du milieu et virage au jaune.

d) Synthèse de polysaccharides [PS/ 24 h] : La présence de polysaccharides se traduit par l'apparition d'une coloration violette à brune lorsqu'on ajoute une à deux gouttes de lugol.

e) Mise en évidence d'une g- glutamyltransférase [GGT] par hydrolyse du g- glutamylparanitro-anilide qui libère du paranitro-anilide coloré en jaune.

f) Réduction des nitrates en nitrites [NO₃] : révélé par l'addition des réactifs de Griess : Nitrites I / Nitrites II [code 53912].

g) Réduction des nitrites[NO₂ (1)] [NO₂ (2)] : L'action de la nitrate réductase se traduit par l'apparition d'une coloration jaune dans le milieu.

2 Lecture

Lire les résultats au bout de 4 heures (à l'exception de la cupule « synthèse des polysaccharides» dont la révélation, si besoin, sera faite après la 24^e heures).

Noter pour chaque cupule, sur l'étiquette de la microplaque, le résultat (+) ou (-).

Révéler ensuite la réduction des nitrates [NO₃] en ajoutant successivement dans la cupule une goutte de réactif Nitrite I et une goutte de réactif Nitrite II.

La lecture des résultats se fait à l'aide de tableau de lecture et la liste d'identification est obtenue en consultant la liste des profils de la notice ou à l'aide d'un logiciel.

3 Galerie biochimique API Staph

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune-gris
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune
<u>LDC</u>	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>ODC</u>	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>CIT</u>	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (2)
<u>H₂S</u>	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	<u>TDA / immédiat</u> jaune	marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	<u>JAMES / immédiat</u> incolore vert pâle / jaune	rose
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	
NO ₂	(tube GLU)	-	production de NO ₂	<u>NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min</u> jaune	rouge

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.

(2) Lecture dans la cupule (zone aérobie).

(3) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

TABLEAU D'IDENTIFICATION DES STAPHYLOCOQUES
(Galerie API-STAPH de API-SYSTEM)

Pourcentages de réactions positives après 24 h à 35-37°C

Galerie API-STAPH	O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL
Staph. aureus	0	100	100	99	93	90	96	85	1	1
Staph. epidermidis	0	100	100	60	89	74	2	1	0	1
Staph. saprophyticus	0	100	100	2	99	99	94	99	1	1
Staph. cohnii	0	100	100	17	75	0	92	92	33	0
Staph. xylosus 1	0	100	100	99	27	5	72	88	1	1
Staph. xylosus 2	0	100	100	89	88	98	98	96	26	48
Staph. haemolydcus 1	0	100	1	1	99	88	95	50	1	0
Staph. haemolydcus 2	0	100	1	1	99	88	95	50	1	0
Staph. hominis 1	0	100	100	1	99	19	99	25	0	0
Staph. hominis 2	0	100	100	70	99	19	99	1	0	0
Staph. wameri	0	100	100	50	99	5	100	60	0	0
Staph. capitis	0	100	100	94	13	7	2	30	0	0
Staph. simulans	0	100	100	85	1	99	99	99	0	0
Staph. hyicus*	0	100	100	99	1	95	80	1	0	0
Staph. sciuri*	0	100	100	40	72	9	90	100	0	2
Staph. lentus	0	100	100	99	67	78	90	100	0	99
Micrococcus spp	0	11	16	4	4	0	0	0	0	0
Micrococcus varians	0	100	81	18	0	54	22	0	0	0

Galerie API-STAPH	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
Staph. aureus	99	98	99	0	0	96	1	98	71	54
Staph. epidermidis	56	92	75	1	0	100	11	29	51	75
Staph. saprophyticus	3	8	95	0	0	100	1	54	4	95
Staph. cohnii	0	33	99	33	0	1	1	1	1	1
Staph. xylosus 1	77	22	94	1	99	99	5	5	5	11
Staph. xylosus 2	87	89	75	21	99	99	1	93	6	90
Staph. haemolydcus 1	93	50	60	0	0	99	45	96	94	10
Staph. haemolydcus 2	98	40	6	0	0	99	1	5	10	90
Staph. hominis 1	99	50	90	0	0	100	3	5	92	96
Staph. hominis 2	95	5	35	0	0	100	80	95	5	80
Staph. wameri	17	12	99	0	0	100	1	1	93	94
Staph. capitis	99	1	93	0	0	20	1	1	60	15
Staph. simulans	99	1	65	0	0	99	1	99	85	85
Staph. hyicus*	50	99	85	0	0	100	1	85	99	60
Staph. sciuri*	100	25	0	1	1	100	1	99	1	1
Staph. lentus	100	75	0	89	33	100	1	99	1	1
Micrococcus spp	31	36	36	0	4	4	0	0	4	18
Micrococcus varians	100	11	45	0	0	0	0	0	0	93

Annexe 6

Questionnaire n°6**Questionnaire établi pour recenser les Plantes médicinales à effets Antibactérien et antifongique****Plantes médicinales et Maladies infectieuses Bactériennes et mycosiques**


QUESTIONS : Quelles plantes utilisez vous pour les pathologies suivantes ?

Plantes utilisées contre les maladies aux symptômes apparents suivants:

- CU *Cuir chevelu - boutons -----
 - abcès -----
 - plaques -----
- PH *Phanères * Ongles
 - changement de couleur -----
 - irritations -----
 - dentelés -----
 - abcès -----
- OE *Œil - pus et prurites -----
- OT *Otite -pus -----
 - douleur -----
- N *Nez -sinusite -----
 - pus -----
- B *Bouche - candidoses -----
 - abcès dentaires -----
- G *Gorge - inflammation (irritation) -----
 - angines -----
- T *appareil respiratoire - toux-----
 - expectoration-----
- D *appareil digestif - vomissements -----
 - diarrhées -----
 - douleur -----
- U *appareil urinaire et - brulures mictionnelles -----
 Appareil génital - incontinences -----
 - goutte urétrale -----
 - prurits -----
 - pertes vaginales -----
 - irritations -----
- S *Septicémie - frissons -----
 - brucellose ? -----
- P *Peau - acné -----
 - furoncles -----
 - abcès. -----

NB: Les symptômes doivent être accompagnés de :- Etat fébrile et/ou présence de pus

Questionnaire complémentaire (LPSO)


 Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
 University Centre of Bechar, 08000, Bechar, Algeria
 Fax: (213) 049 81 52 44. Email: Karimcheriti@yahoo.com

PREPARATS MEDICAMENTEUX TRADITIONNELS (Sud - Ouest Algérien)

Ville:

Nom de la Plante:

Partie de la plante utilisée: Feuille Fleur Fruit Graine
 Tige Racine Parties aériennes Plante entière

Maladies traitées:

Préparation:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Quantité prise par jour:

Annexe 7

Tableau N° 7.1 : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités: Familles aux taux représentatifs compris entre 4,34% et 17,39% et dont le nombre d'organes traités est compris entre 12 et 2

Organe traité	Taux de Répartition*			
	<i>Asteraceae</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Apiaceae</i>	<i>Poaceae</i>
Peau	25%	8,33%	NT	66,66%
Ongle	12,5%	8,33%	NT	NT
tube digestif	62,5%	25%	75%	NT
Appareil urinaire	50%	41,66%	25%	33,33%
Poumon	25%	16,66%	100%	NT
Oreille	25%	16,66%	NT	NT
Nez	25%	16,66%	NT	NT
Gorge	12,5%	33,33%	50%	NT
Bouche	25%	25%	NT	NT
Œil	12,5%	16,66%	NT	NT
Sang	12,5%	NT	25%	NT
Cuir chevelu	12,5%	16,66%	NT	NT
NT: Non Trouvé				
* Relatif à l'ensemble des plantes de la famille				

Tableau N°7.2 : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités[6 à 9]: Familles au taux représentatifs de 2,86% et dont le nombre d'organes traités est compris entre 6 et 9

Organe traité	<i>Oléaceae</i>	<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Alliaceae</i>	<i>Lythraceae</i>	<i>Myrtaceae</i>
Peau	100%	50%	50%	50%	NT
Ongle	100%	50%	100%	50%	NT
tube digestif		50%	NT	50%	50%
Appareil urinaire	100%	50%	50%	50%	50%
Poumon	NT	NT	100%	NT	NT
Oreille	NT	NT	100%	NT	NT
Nez	100%	NT	100%	NT	50%
Gorge	100%	NT	50%	50%	50%
Bouche	100%	NT	NT	50%	50%
Œil	NT	NT	NT	100%	NT
Sang	NT	50%	50%	NT	50%
Cuir chevelu	100%	100%	50%	100%	50%

Tableau N° 7.3 : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités: Familles au taux représentatifs de 2,86% et dont le nombre d'organe traités est compris entre 4 et 5

Organe traité	<i>Cupressaceae</i>	<i>Brassicaceae</i> 2,89%	<i>Fagaceae</i> 2,89%	<i>Zygophyllaceae</i>	<i>Fabaceae</i>
Peau	50%	100%	NT	NT	50%
Ongle	NT	50%	NT	50%	NT
tube digestif	50%	NT	50%	100%	NT
Appareil urinaire	50%	NT	50%	NT	50%
Poumon	NT	100%	NT	50%	50%
Oreille	NT	NT	NT	NT	NT
Nez	NT	NT	NT	NT	NT
Gorge	NT	100%	50%	NT	50%
Bouche	NT	NT	50%	NT	NT
Œil	NT	NT	NT	NT	NT
Sang	50%	NT	NT	NT	NT
Cuir chevelu	50%	NT	50%	50%	50%

NT: Non Trouvé

Tableau N°7.4 : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités: Familles au taux représentatifs de 2,86% et dont le nombre d'organe traités est compris entre 1 et 2

Organe traité	<i>Cucurbitaceae</i> 2,89%	<i>Capparaceae</i> 2,89%
Peau	NT	50%
Ongle	NT	NT
tube digestif	NT	NT
Appareil urinaire	NT	50%
Poumon	NT	NT
Oreille	50%	NT
Nez	NT	NT
Gorge	NT	NT
Bouche	NT	NT
Œil	50%	NT
Sang	NT	NT
Cuir chevelu	NT	50%

Tableau N°7.5 : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités: Familles au nombre de plantes représentatives relativement faible (1,44%) et dont le nombre d'organe traité est compris entre 3 et 5.

Organes traité	<i>Salvadoraceae</i>	<i>Rutaceae</i>	<i>Rosaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Rhamnaceae</i>
Peau	100%	100%	100%	NT	100%
Ongle	NT	NT	NT	NT	
tube digestif	100%	NT	NT	NT	100%
Appareil urinaire	NT	NT	100%	100%	NT
Poumon	NT	NT	NT	100%	NT
Oreille	NT	NT	NT	NT	100%
Nez	NT	100%	NT	NT	100%
Gorge	100%	NT	NT	100%	NT
Bouche	NT	NT	NT	NT	NT
Œil	NT	100%	100%	NT	NT
Sang	NT	NT	NT	NT	NT
Cuir chevelu	100%	NT	NT	NT	NT

Tableau N°7.6 : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités: Familles au nombre de plantes représentatives relativement faible (1,44%) et dont le nombre d'organe traité est compris entre 3 et 5.

Organe traité	<i>Cyperaceae</i> 1,44%	<i>Amaranthaceae</i> 1,44%	<i>Ranunculaceae</i> 1,44%	<i>Moraceae</i>	<i>Iridaceae</i> 1,44%
Peau	NT	100%	100%	NT	NT
Ongle	NT	NT	NT	NT	NT
tube digestif	100%	NT	NT	NT	100%
Appareil urinaire	100%	100%	NT	NT	NT
Poumon	NT	NT	NT	100%	NT
Oreille	NT	NT	NT	NT	NT
Nez	NT	NT	NT	NT	100%
Gorge	NT	NT	NT	NT	NT
Bouche	NT	NT	NT	NT	NT
Œil	NT	NT	NT	NT	100%
Sang	NT	NT	NT	NT	NT
Cuir chevelu	NT	100%	100%	100%	NT

Tableau N°7.7 : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités: Familles au nombre de plantes représentatives relativement faible (1,44%) et dont La localisation à traiter est unique.

Organe traité	Taux de Répartition					
	<i>Linaceae</i>	<i>Apocynaceae</i>	<i>Tamaricaceae</i>	<i>Solanaceae</i>	<i>Anacardiaceae</i>	<i>Thymelaceae</i>
Peau	NT	NT	100%	NT	NT	NT
Ongle	NT	NT		NT	NT	100%
tube digestif	NT	NT	NT	NT	100%	NT
Appareil urinaire	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Poumon	100%	NT	NT	NT	NT	NT
Oreille	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Nez	NT	100%	NT	NT	NT	NT
Gorge	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Bouche	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Œil	NT	NT	NT	100%	NT	NT
Sang	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Cuir chevelu	NT	NT	NT	NT	NT	NT

NT: Non Trouvé

Tableau N°7.8 (suite) : Taux de répartition Par Famille recensée et organes traités: Familles au nombre de plantes représentatives relativement faible (1,44%) et dont La localisation à traiter est unique

Organe traité	Taux de Répartition				
	<i>Liliaceae</i>	<i>Salsolaceae</i>	<i>Plumbaginaceae</i>	<i>Caesalpiniaceae</i>	<i>Aristolochiaceae</i>
Peau	NT	NT	NT	NT	100%
Ongle	NT	NT	NT	NT	NT
tube digestif	100%	NT	NT	NT	NT
Appareil urinaire	NT	100%	100%	NT	NT
Poumon	NT	NT	NT	NT	NT
Oreille	NT	NT	NT	NT	NT
Nez	NT	NT	NT	NT	NT
Gorge	NT	NT	NT	NT	NT
Bouche	NT	NT	NT	NT	NT
Œil	NT	NT	NT	100%	NT
Sang	NT	NT	NT	NT	NT
Cuir chevelu	NT	NT	NT	NT	NT
NT: Non Trouvé					

Annexe 8

Taux d'activité des différents extraits des plantes étudiées sur la collection de souches nosocomiales n° 1 : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures.

Tableau n° 8.1 : Taux d'activité des différents extraits de *Bubonium graveolens* sur la collection de souches nosocomiales n°1: Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures.

Groupes microbiens/Taux d'activité des extraits: <i>Bubonium graveolens</i>		HCl	H ₂ O	Acétone	Ethanol	éther de pétrole	Dichlorométhane	méthanol	Chloroforme	% ADEMG**	
Souches bactériennes	Cocci	Gram +	100	60	40	60	60	60	60	62,5	
		Gram -	100	0%	0%	0%	0%	60	100	0%	32,5
	Bâtonnets	Gram +	100	100	0%	60	0%	40	100	60	57,5
		Gram -	100	60	40	80	20	20	60	40	40
Souches fongiques		40	40	0%	20	0%	0%	20	20	17,5	
% AMEDG *		88	52	16	44	16	36	34	36	42 ***	

% AMEDG * : Taux d'activité des extraits de même nature sur les différents groupes microbiens .

% ADEMG** : Taux d'activité des extraits de différente nature sur un même groupe microbien.

*** Activité des différents extraits sur les différents groupes microbiens pour la plante concernée.

Tableau n° 8.2 : Taux d'activité des différents extraits de <i>Cotula cinerea</i> sur la collection de souches nosocomiales n°1: Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures.											
Groupes microbiens/Taux d'activité des extraits : <i>Cotula cinerea</i>			HCl	H2 O	Acét one	Etha nol	éth er de pétr ole	Dichl orom ethane	méth anol	Chl oro forme	% ADEMG **
Souches bactériennes	Cocci	Gram +	100	60	100	100	60	100	80	60	82,5
		Gram -	100	40	60	60	60	60	40	40	56,25
	Bâtonnets	Gram +	100	60	60	60	00	40	00	60	47,5
		Gram -	100	80	40	40	20	20	20	20	42,5
Souches fongiques			60	40	20	20	20	00	00	20	22,5
% AMEDG* :			92	56	56	56	32	44	28	40	50,25 ***

% AMEDG* : Taux d'activité des extraits de même nature sur les différents groupes microbiens .
 % ADEMG** : Taux d'activité des extraits de différente nature sur un même groupe microbien.
 *** Activité des différents extraits sur les différents groupes microbiens pour la plante concernée.

Tableau n°8.3 : Taux d'activité des différents extraits de <i>Launaea arboresens</i> sur la collection de souches nosocomiales n°1: Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures.											
Groupes microbiens/Taux d'activité des extraits de <i>Launaea arboresens</i>			HCL	H2 O	Acét one	Etha nol	éth er de pétr ole	Dichlo rometh ane	mét han ol	Chlo roforme	% ADEMG **
Souches bactériennes	Cocci	Gram +	100	60	20	20	20	20	40	20	36,25
		Gram -	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	Bâtonnets	Gram +	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		Gram -	100	20	0%	20	0%	0%	0%	20	0%
Souches fongiques			40	20	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7,5
% AMEDG*			48	20	4	8	4	4	4	4	12 ***

% AMEDG* : Taux d'activité des extraits de même nature sur les différents groupes microbiens .
 % ADEMG** : Taux d'activité des extraits de différente nature sur un même groupe microbien.
 *** Activité des différents extraits sur les différents groupes microbiens pour la plante concernée

Tableau n° 8.4 : Taux d'activité des différents extraits de <i>Launaea nudicaulis</i> sur la collection de souches nosocomiales n°1: Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures.											
Groupes microbiens/Taux d'activité des extraits : <i>Launaea nudicaulis</i>			HCl	H ₂ O	Acétone	Ethanol	éther de pétrole	Dichlorométhane	méthanol	Chloroforme	% ADEMG**
Souches bactériennes	Cocci	Gram +	100	100	20	60	20	40	60	20	52,5
		Gram -	100	00	00	00	00	00	00	00	12.5
	Bâtonnets	Gram +	100	100	00	00	00	00	00	00	25
		Gram -	100	60	00	20	00	00	00	20	25
Souches fongiques			100	20	00	00	00	00	00	00	15
% AMEDG *			100	56	4	16	4	8	12	8	26 ***

% AMEDG * : Taux d'activité des extraits de même nature sur les différents groupes microbiens.
 % ADEMG** : Taux d'activité des extraits de différente nature sur un même groupe microbien.
 *** Activité des différents extraits sur les différents groupes microbiens pour la plante concernée.

Tableau n° 8.5 : Taux d'activité des différents extraits de <i>Warionia saharae</i> sur la collection de souches nosocomiale n°1 : Cocci, bâtonnets Gram +/- et levures.											
Groupes microbiens/Taux d'activité des extraits: <i>Warionia saharae</i>			HCL	H ₂ O	Acétone	Ethanol	éther de pétrole	Dichlorométhane	méthanol	Chloroforme	% ADEMG**
Souches bactériennes	Cocci	Gram +	100	60	60	40	20	40	60	40	53,75
		Gram -	100	40	60	40	0%	0%	100	0%	42.5
	Bâtonnets	Gram +	100	0%	0%	100	0%	0%	100	0%	37.5
		Gram -	100	60	60	80	20	40	80	20	57,5
Souches fongiques			80	60	20	0%	0%	0%	0%	0%	20
% AMEDG *			96	44	40	52	8	20	68	12	42.5 ***

% AMEDG *Activité des extraits de même nature sur les différents groupes microbiens.
 % ADEMG** Activité des extraits de différente nature sur un même groupe microbien .
 *** Activité des différents extraits sur les différents groupes microbiens pour la plante concernée.

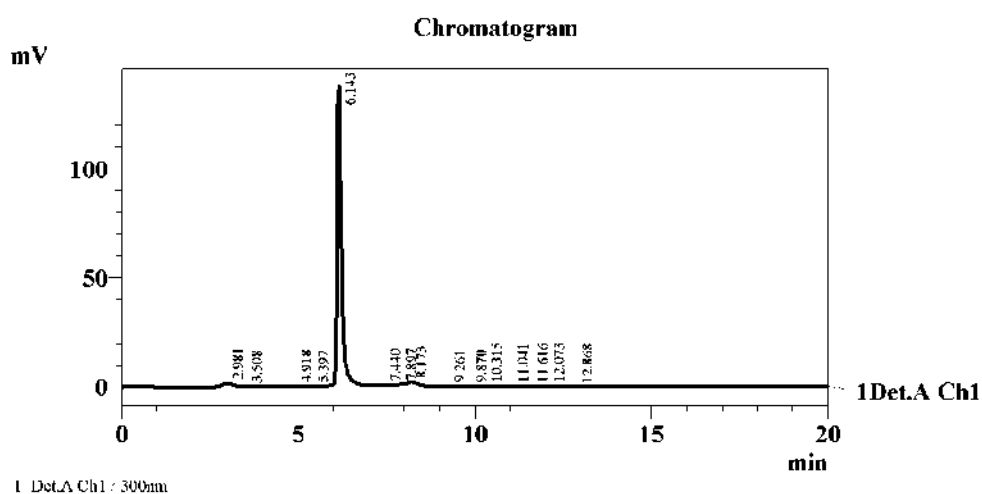
Annexe n°9

Laboratoire de Phytochimie et Synthèse Organique université Tahri Mohamed de Bechar <i>Chromatogrammes HPLC</i>		
Conditions opératoires		
Volume d'injection : 20µl phase mobile : Acetonitrile Colonne : C18 (125 x 4,6 mm) Débit : 0.5 ml / min		
Plantes	Nombre de Fractions Chromatographiques	Numéro des Fractions Chromatographiques N°
<i>Cotula cinerea</i>	4	24
		25 : Cc25 _{BF} *
		26
		27
<i>Bubonium graveolens</i>	2	23
		21
<i>Warionea Saharae</i>	3	2
		3
		4
<i>Launaea naudicaulis</i>	2	7
		8
<i>Launaea arboresens</i>	3	13 : La13 _{BF} *
		5
		12
*Molécule identifiée		

Fraction chromatographique n°24

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°24
 Injection Volume : 20 uL
 Date Acquired : 27/12/2016 10:52:41
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0.5ml/min



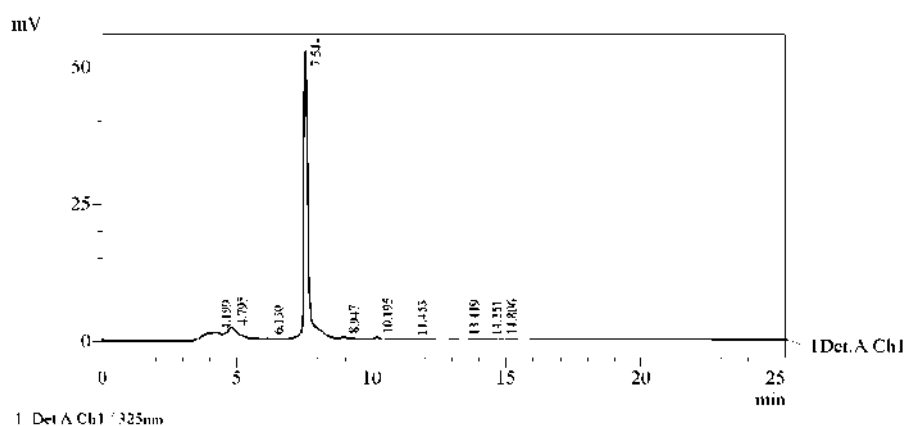
PeakTable

Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
2.981	0.000	0.000	0.000	2.649
3.508	0.000	0.000	0.177	0.117
4.918	3.674	0.000	0.650	1.247
5.397	1.247	0.454	0.810	0.132
6.143	1.309	1.713	1.061	90.875
7.440	1.410	4.725	1.496	0.309
7.897	1.102	0.701	1.649	0.432
8.173	1.056	0.362	1.741	2.634
9.261	1.210	2.380	2.107	0.156
9.870	1.097	0.985	2.311	0.418
10.315	1.065	0.678	2.460	0.331
11.041	1.099	1.475	2.704	0.249
11.616	1.071	1.238	2.896	0.100
12.073	1.053	1.232	3.050	0.252
12.868	1.087	1.916	3.316	0.099
				100.000

Fraction chromatographique n° 25 : Cc25_{BF}

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : 25
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 02/05/2011 10:19
 Mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow : 0.4ml/min



1 Det A Ch1 / 325nm

PeakTable

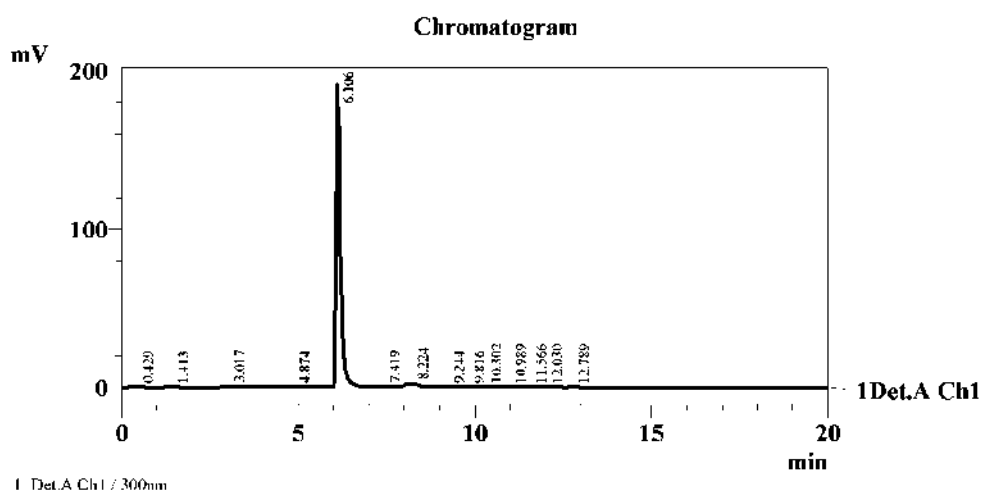
Detector A Ch1 325nm					
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %	
4.199	0.000	0.000	0.000	8.211	
4.795	0.000	0.495	0.142	10.369	
6.130	3.243	1.843	0.460	0.398	
7.544	1.733	3.403	0.797	79.071	
8.947	1.419	5.161	1.131	0.265	
10.195	1.263	3.545	1.428	0.669	
11.453	1.210	2.616	1.727	0.176	
13.419	1.271	3.393	2.196	0.262	
14.251	1.090	1.483	2.394	0.158	
14.806	1.055	1.101	2.526	0.519	
				100.000	

Height %
2.398
3.554
0.216
92.154

Fraction chromatographique n°26

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°26
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 27/12/2016 11:13:50
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0.5ml/min



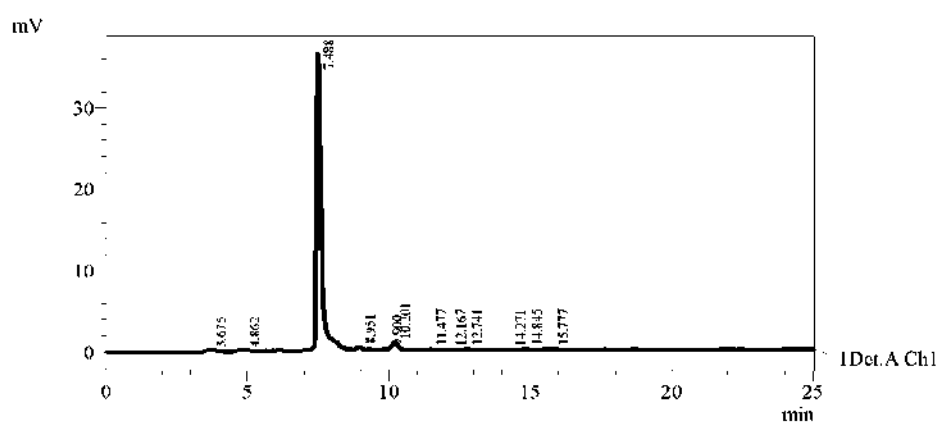
PeakTable

Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
0.429	0.000	0.000	0.000	0.531
1.413	0.000	1.591	2.294	0.541
3.017	2.629	2.976	6.032	1.051
4.874	1.718	1.802	10.360	1.148
6.106	1.277	1.330	13.232	91.258
7.419	1.231	4.583	16.293	0.317
8.224	1.115	1.657	18.169	3.561
9.244	1.131	1.955	20.546	0.180
9.816	1.065	0.748	21.880	0.473
10.302	1.052	0.625	23.013	0.404
10.989	1.070	1.519	24.614	0.189
11.566	1.055	1.439	25.959	0.058
12.030	1.042	1.280	27.041	0.193
12.789	1.065	1.659	28.810	0.096
				100.000

Fraction chromatographique n°27

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : 27
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 02/05/2011 10:19
 Mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow : 0.4ml/min



1 Det.A Ch1 / 325nm

PeakTable

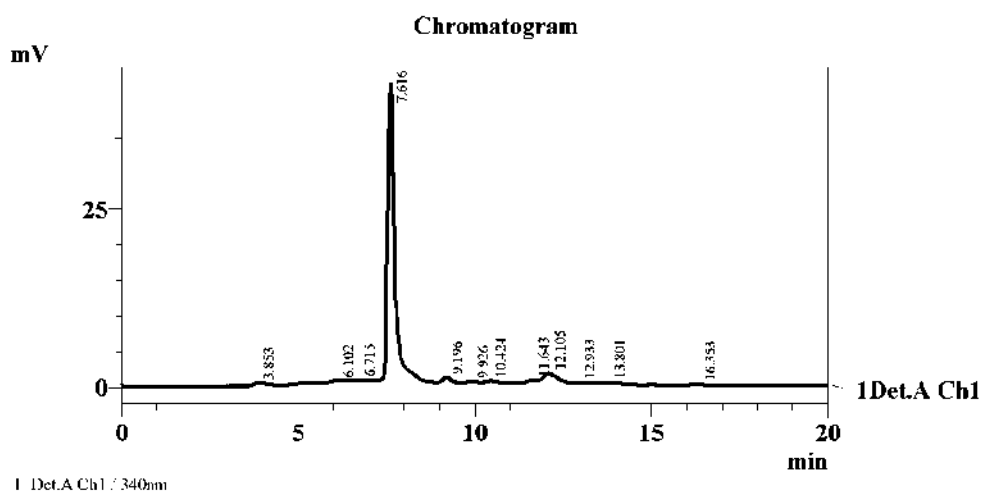
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
3.675	0.000	0.000	0.000	1.186
4.862	0.000	1.612	0.323	0.709
7.488	3.212	5.781	1.038	91.212
8.951	1.384	4.945	1.436	0.734
9.900	1.180	0.218	1.694	0.394
10.201	1.048	0.068	1.776	3.158
11.477	1.195	2.894	2.123	0.588
12.167	1.088	1.465	2.311	0.237
12.741	1.068	1.113	2.467	0.346
14.271	1.169	2.930	2.884	0.222
14.845	1.054	1.087	3.040	0.484
15.777	1.083	1.371	3.294	0.728
				100.000

Height %
0.482
0.386

Fraction chromatographique n° 23

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°23
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 11/01/2017 15:28:42
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0,5ml/min



PeakTable

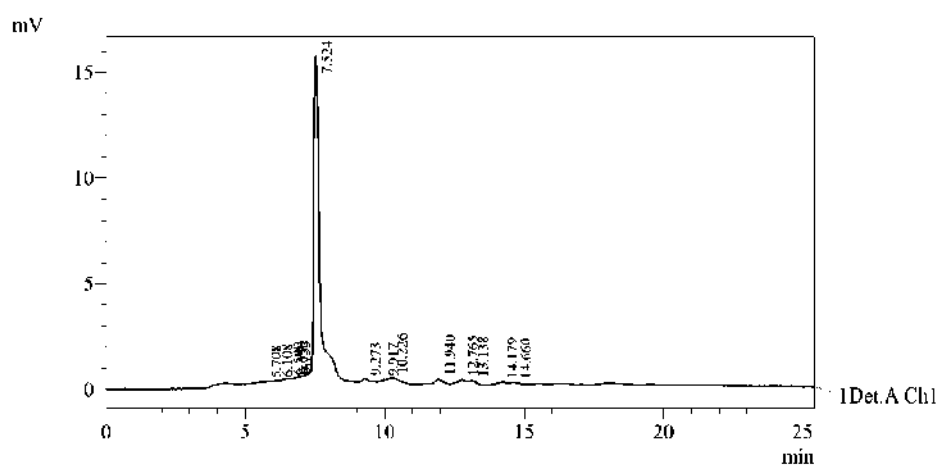
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
3.853	0.000	0.000	0.000	1.439
6.102	0.000	3.313	0.584	0.485
6.715	1.273	0.447	0.743	0.751
7.616	1.315	0.729	0.977	85.531
9.196	1.420	4.383	1.387	1.665
9.926	1.137	1.465	1.576	0.433
10.424	1.082	0.842	1.705	0.768
11.643	1.186	0.855	2.022	0.990
12.105	1.059	0.304	2.142	5.940
12.933	1.100	0.794	2.357	0.846
13.801	1.096	0.897	2.582	0.834
16.353	1.257	3.928	3.244	0.317
				100.000

Height %
0.776
0.402

Fraction chromatographique n° 21

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : 21
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 02/05/2011 10:19
 Mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow : 0.4ml/min

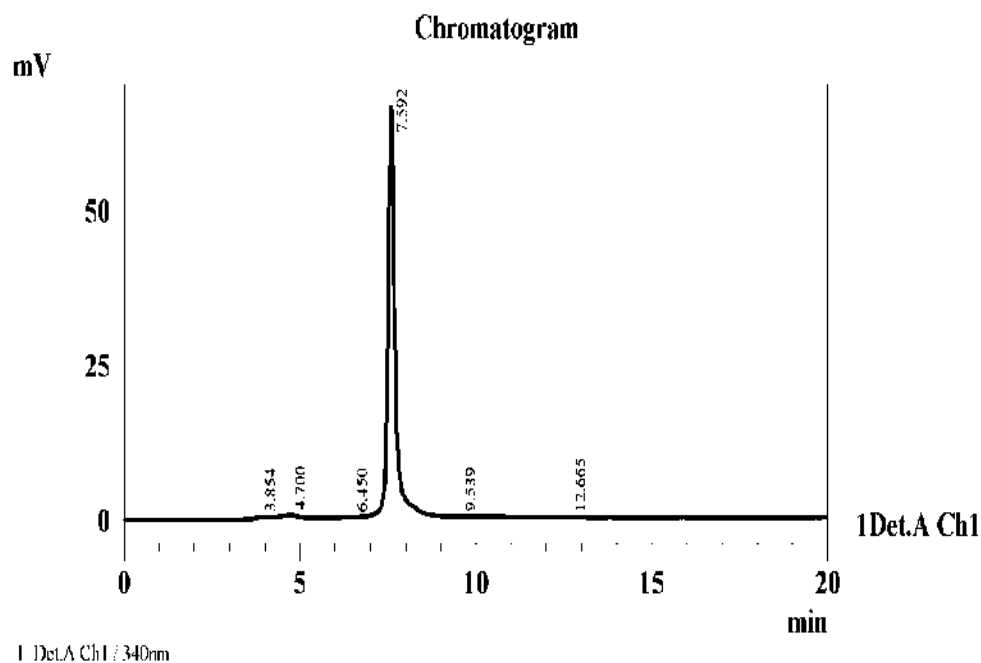


1 1Det.A Ch1 / 350nm

PeakTable

Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
5.708	0.000	0.000	0.000	0.341
6.108	0.000	0.248	0.070	0.914
6.500	1.979	0.171	0.139	1.359
6.650	1.189	0.031	0.165	0.813
6.733	1.088	0.000	0.180	0.478
7.524	1.771	0.000	0.318	86.018
9.273	1.963	4.462	0.624	1.059
9.917	1.181	0.347	0.737	0.637
10.226	1.073	0.152	0.791	2.831
11.940	1.379	2.479	1.092	1.639
12.765	1.132	1.264	1.236	1.585
13.138	1.053	0.532	1.302	1.133
14.179	1.140	1.592	1.484	0.762
14.660	1.057	0.736	1.568	0.432
				100.000

Fraction chromatographique n° 2

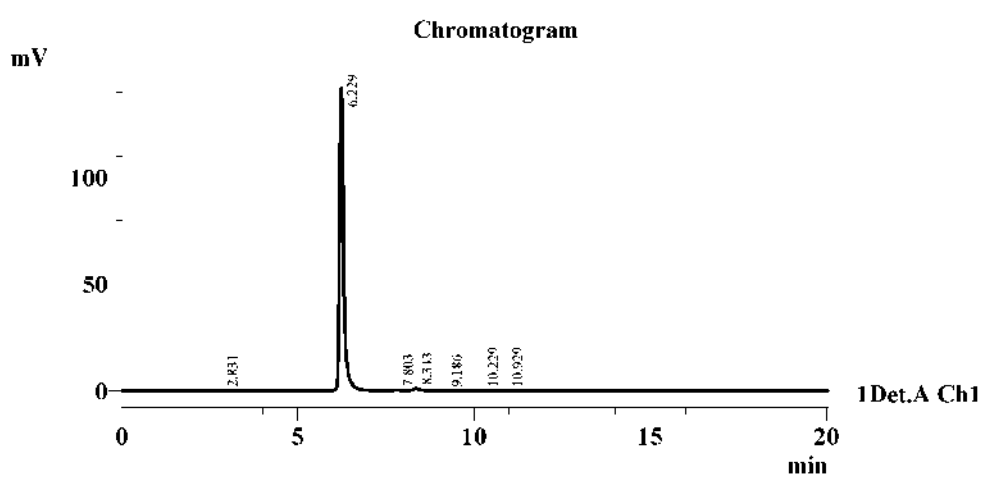


PeakTable						
Detector A Ch1 340nm						
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %		
3.854	0.000	0.000	0.000	0.505		
4.700	0.000	0.947	0.219	2.134		
6.450	3.069	1.601	0.674	0.159		
7.592	1.440	1.440	0.970	96.933		
9.539	1.521	4.933	1.475	0.117		
12.665	1.550	6.172	2.286	0.151		
				100.000		
Height %						
0.472						
0.768						
0.115						
98.420						
0.112						
0.112						
100.000						

Fraction chromatographique n° 3

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°3
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 26/12/2016 10:30:00
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0.5ml/min



1 Det.A Ch1 - 280nm

PeakTable

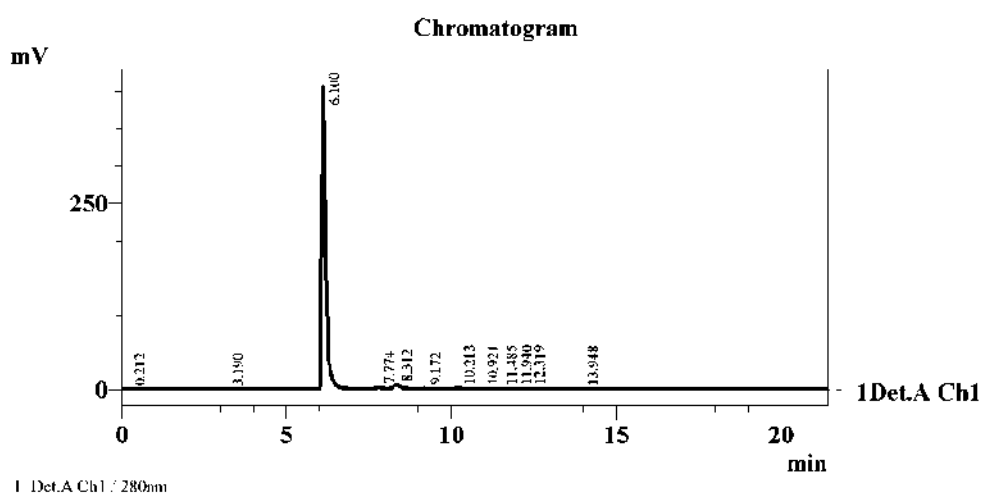
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
2.831	0.000	0.000	0.000	0.326
6.229	0.000	8.482	1.200	97.627
7.803	1.463	5.739	1.756	0.311
8.343	1.109	1.526	1.947	1.245
9.186	1.153	1.562	2.245	0.221
10.229	1.164	1.766	2.614	0.123
10.929	1.095	1.574	2.861	0.147
				100.000

Height %
0.114
98.743
0.213
0.693
0.071
0.078
0.087

Fraction chromatographique n° 4

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°4
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 26/12/2016 10:52:04
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0.5ml/min



PeakTable

Detector A Ch1 280nm

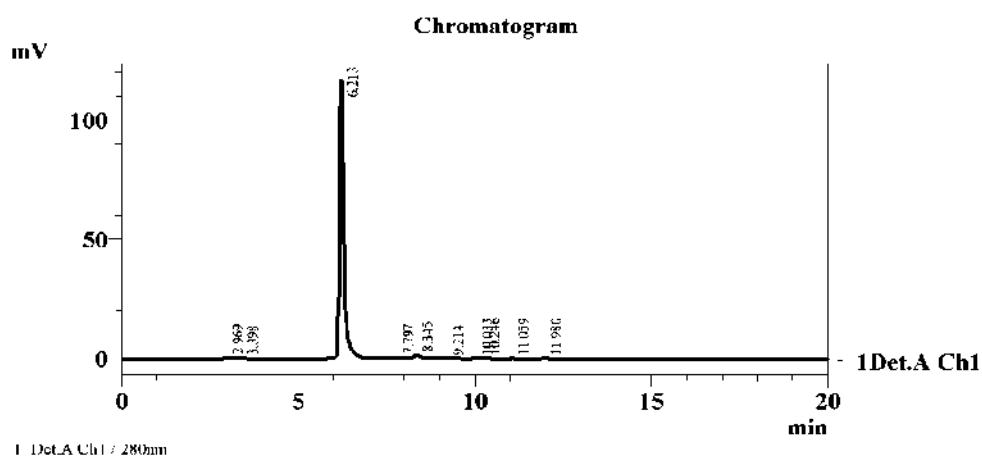
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
0.212	0.000	0.000	0.000	0.039
3.190	0.000	4.480	14.016	0.259
6.100	1.977	5.302	27.711	95.102
7.774	1.284	5.607	35.589	0.731
8.312	1.071	1.314	38.123	2.321
9.172	1.106	1.572	42.169	0.393
10.213	1.116	1.869	47.069	0.554
10.921	1.071	1.515	50.399	0.318
11.485	1.053	1.426	53.053	0.038
11.940	1.040	1.257	55.196	0.153
12.319	1.032	0.890	56.980	0.048
13.948	1.135	3.092	64.646	0.045
				100.000

Height %
0.021
0.071

Fraction chromatographique n° 7

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°7
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 26/12/2016 11:14:45
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0.5ml/min



1 Det.A Ch1 / 280nm

PeakTable

Detector A Ch1 280nm

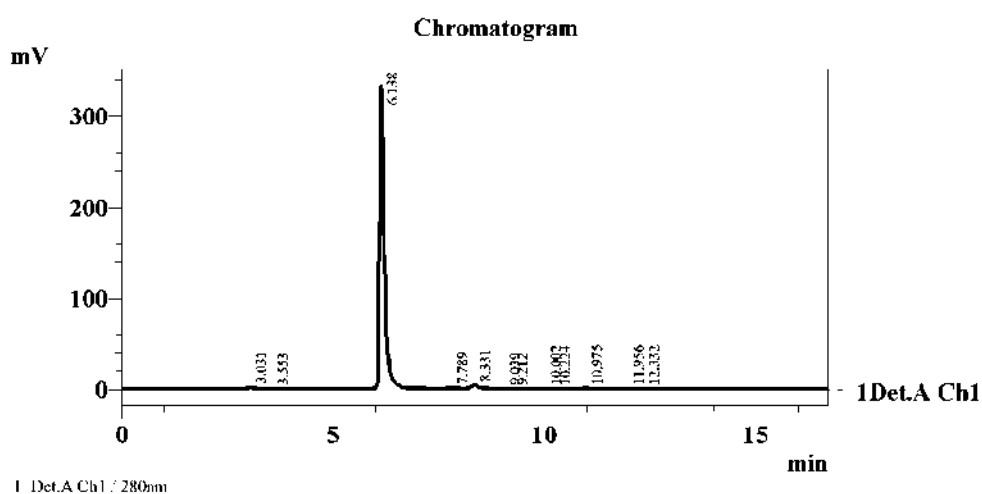
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
2.969	0.000	0.000	0.000	1.007
3.398	0.000	0.638	0.144	0.653
6.213	7.564	4.964	1.093	94.658
7.797	1.488	5.760	1.626	0.589
8.345	1.113	1.575	1.811	1.847
9.214	1.162	1.428	2.103	0.366
10.033	1.131	0.441	2.379	0.126
10.246	1.030	0.130	2.451	0.459
11.039	1.112	2.076	2.725	0.126
11.980	1.114	2.449	3.035	0.169
				100.000

Height %
0.574
0.334
96.634
0.464

Fraction chromatographique n° 8

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°8
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 26/12/2016 11:38:10
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0.5ml/min



PeakTable

Detector A Ch1 280nm

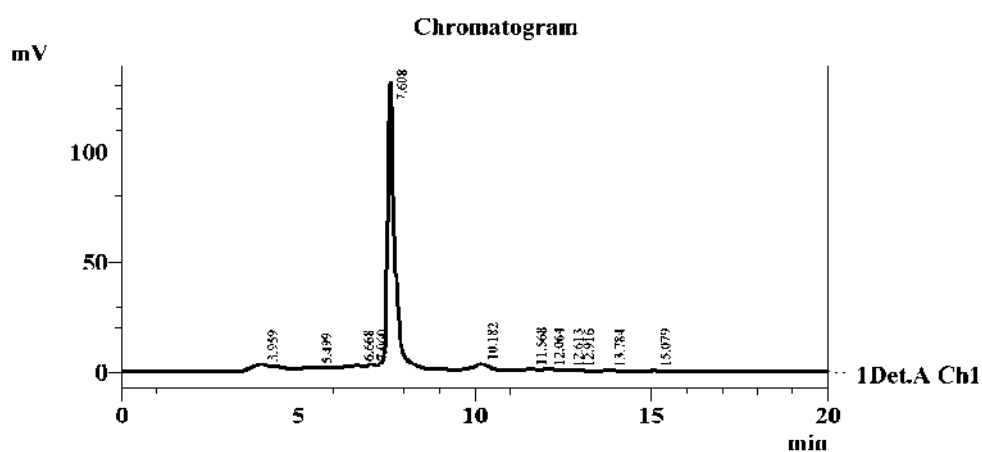
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
3.031	0.000	0.000	0.000	0.950
3.553	0.000	0.596	0.172	0.409
6.138	5.955	3.233	1.025	95.100
7.789	1.531	5.884	1.569	0.578
8.331	1.114	1.441	1.748	1.978
9.039	1.134	1.317	1.982	0.088
9.212	1.029	0.264	2.039	0.228
10.002	1.128	1.174	2.300	0.055
10.224	1.032	0.398	2.373	0.178
10.975	1.104	1.775	2.621	0.333
11.956	1.123	2.391	2.944	0.067
12.332	1.042	0.974	3.068	0.037
				100.000

Height %
0.569
0.129

Fraction chromatographique n° 13 : La13_{BF}

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°13
 Injection Volume : 20 μ l
 Date Acquired : 10/01/2017 15:38:09
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0.5ml/min



1 Det.A Ch1 / 325nm

PeakTable

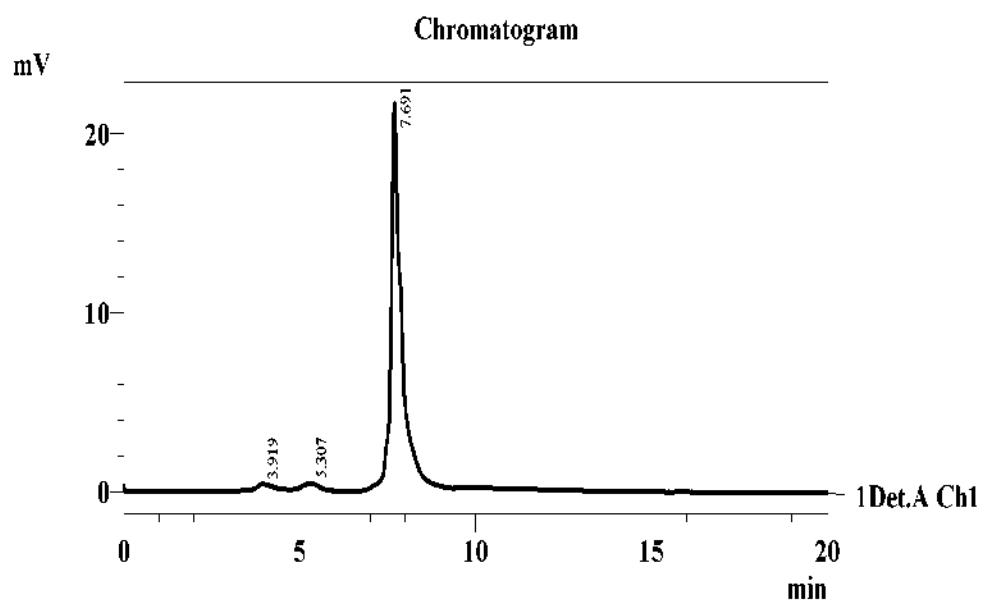
Detector A Ch1 325nm

Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
3.959	0.000	0.000	0.000	7.324
5.499	0.000	0.308	0.389	4.053
6.668	1.759	0.221	0.684	4.577
7.060	1.145	0.239	0.783	2.052
7.608	1.177	0.927	0.922	76.619
10.182	1.705	5.358	1.572	3.311
11.568	1.223	2.359	1.922	0.548
12.064	1.065	0.804	2.047	0.634
12.613	1.068	0.679	2.186	0.145
12.916	1.035	0.339	2.262	0.183
13.784	1.097	1.188	2.482	0.337
15.079	1.132	2.207	2.809	0.218
				100.000

Height %
2.224
1.134

Fraction chromatographique n° 5

n°5



1 Det.A Ch1 : 330nm

PeakTable

Detector A Ch1 330nm

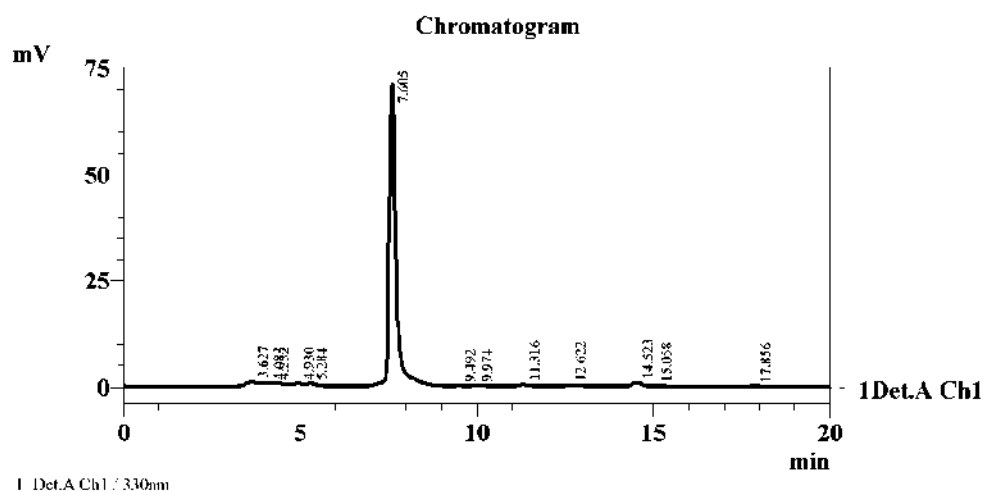
Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
3.919	0.000	0.000	0.000	2.111
5.307	0.000	1.755	0.354	2.421
7.691	2.718	3.939	0.963	95.468
				100.000

Height %
1.566
1.654
96.781
100.000

Fraction chromatographique n° 12

Phytochemistry and Organic Synthesis Laboratory

Sample Name : n°12
 Injection Volume : 20 μ L
 Date Acquired : 10/01/2017 16:59:28
 mobile phase : ACN
 column : C-18
 flow rate : 0,5ml/min



PeakTable

Detector A Ch1 330nm

Ret. Time	Separation	Resolution	k'	Area %
3.627	0.000	0.000	0.000	3.939
4.083	0.000	0.113	0.126	0.302
4.232	1.325	0.021	0.167	2.337
4.930	2.154	0.181	0.359	1.327
5.284	1.271	0.429	0.457	1.676
7.605	2.400	3.335	1.097	86.465
9.492	1.474	5.390	1.617	0.103
9.974	1.082	1.275	1.750	0.124
11.316	1.211	3.150	2.120	0.539
12.622	1.170	1.712	2.480	1.000
14.523	1.211	2.419	3.004	1.727
15.058	1.049	0.705	3.152	0.202
17.856	1.245	3.602	3.924	0.258
				100.000

Height %
1.523