REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ YAHIA FARES DE MEDEA

Faculté des Sciences

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par

ALI KHOUDJA Nada**.**

BENSLIMANE Yazid**.**

SAIDI Imene**.**

THÈME

Isolement des souches sensibles ou résistantes au niveau de la production des antibiotiques injectables (SAIDAL.MEDEA), et l'étude de leurs éliminations par des différents agents biocides

---

Soutenue le : 20 /06/2023, devant les Jury :

Mr. BACHENE, M.S	MCA	Université Médéa	**Président**
Mr. TOUZOUT, N	PHD	Université Médéa	**Examinateur**
Mr. AINAS, M	MCB	Université Médéa	**Promoteur**
Mme. TOUMI, N	ING d'Etat	SAIDAL Médéa	**Co-promotrice**

Année Universitaire : 2022-2023

REMERCIEMENTS

Avant de commencer la présentation de ce rapport, nous profitons l'occasion pour remercier du fond du cœur toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nos remerciements à **Mme. TOUMI Nadjet,** elle été plus qu'une maîtresse de stage, elle nous a guidé, fait des suggestions. Un grand merci pour son soutien moral et son encouragement, son rigueur, son sens critique, ses conseils et sa disponibilité. Nous apprécions également sa sympathie, son écoute, sa sincérité et son amitié.

Nous tenons à remercier l'encadrement **Mr. AINAS Mahfoud,** pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, sa patience, sa rigueur et sa disponibilité tout au long de la préparation de ce mémoire, ainsi que pour sa relecture consciencieuse de ce document.

Nous voudrons désormais remercier l'ensemble des membres de l'unité SAIDAL Médéa qui ont participé de près ou de loin à ce projet de recherche, Un grand merci à **Mr. LAIDI Karim** et **Mme. Sarah GHAZALI** pour leur aide pratique et leurs soutiens morals et ses encouragements. Merci également à **Mme. BAKHTI** la directrice des laboratoires de contrôle de qualité pour son aide, compréhension et son accord lors de la réalisation de ce travail.

Merci à **Mr. BENSLIMANE, M, Mr. LAMOURI, Dj, Mr. IMAM, B, Mr.BOUDERGA,K, Mr. FAHIS.**

Nous souhaiterons tout d'abord remercier **Mr. TOUZOUT, N** et **BACHENE, M.S** qui ont accepté d'être rapporteur de ce manuscrit de thèse. Tous deux ont apporté des remarques précieuses et constructives dans leur rapport et lors de la soutenance.

Je remercie également **Mr. OUTHMANINE** pour leur aide. Merci à toutes personnes qui ont contribué à la réussite de ce travail.

Dédicace

Tout d'abord je remercie ***Allah*** *de nous avoir donné la santé et la volonté d'entreprendre et de réaliser ce travail.*

Je dédie ce projet :

À mes très chers parents ***« Ahmed »*** *et* ***« Naima »,*** *pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leur prières tout au long de mes études et qui n'a pas cessé de m'encourager durant toute ma vie, je souhaite prouver mon grand remerciement qui ne sera jamais suffisant à eux que rendre fière par ce travail.*

À mes chers frères ***Montasser*** *et* ***Abdelrahim****, merci infiniment d'être toujours à mes côtés.*

À tous les membres de ma famille ***ALI KHOUDJA*** *et* ***BENHADJ MAAMAR*** *pour leur soutien.*

À ma chère ***belle famille****, Merci du fond du cœur pour votre amour et votre soutien.*

À mon cher ***Wassim****, ta présence dans ma vie a été une source constante de soutien et d'encouragement. Ta confiance en moi, tes encouragements sincères et ta volonté de partager les hauts et les bas de ce parcours ont été d'une valeur inestimable, je te remercie du fond du cœur pour ton amour inconditionnel et ton soutien indéfectible.*

À mon binôme ***SAIDI Imene*** *et à ma merveilleuse compagne depuis ces sept dernières années,*

Cette dédicace de fin d'études est avant tout un témoignage de gratitude et de reconnaissance pour tout ce que nous avons traversé ensemble. Depuis nos premiers jours à travailler côte à côte jusqu'à ce moment où nous célébrons cette réalisation commune, chaque instant passé à tes côtés a été précieux et inspirant. Tu as été à la fois ma complice de folie, mon pilier, ma source de motivation et de soutien constant.

À ma copine d'enfance ***CHOUTRI Ines****, Je te remercie du fond du cœur pour ton encouragement et ta gentillesse sans faille.*

A ma chère cousine ***GHRIS Ikram,*** *Je souhaite te remercier du fond du cœur pour ta présence et ton soutien, tu es plus qu'une cousine, merci d'avoir partagé des moments précieux.*

À tous ***mes cousines Nihed*** *et* ***Ibtissem****…,* ***mes amies****,* ***mes camarades*** *de la Microbiologie Appliquée Promo 2018*

.Nada

Dédicace

EL HAMDOULILLAH « Le beau de toute fin est la réussit et l'atteinte du but ».

En premier lieu, ce modeste travail n'aurait pas être dédier sans le bon dieu ***« ALLAH »****.*

*Je remercie « **ALLAH »** tout Puissant, le Clément et Miséricordieux, le Généreux, Maitre des cieux et de terre pour avoir m'aider à finir cette année et ce parcoure en bon santé morale et physique, me donné le temps, la santé, la force et surtout la volonté, le courage et la patience pour voir ce jour-là et collecte le fruit du long cursus scolaire, surtout l'universitaire.*

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents : MUSTAPHA & NASSIMA*, qui mon tout donné et m'ont encouragé et soutenu tous le long de ma vie, dans mes choix professionnels et de loisirs, de m'avoir laissé faire tout ce que J'avais envie de faire, ceux qui ont attendu avec amour et patience les fruits de leur bonne éducation.*

PAPA, MAMAN, *Merci beaucoup pour être là pour moi et pour tous ce que vous m'avais offert de belle enfance et une jeunesse si merveilleuse, Merci surtout pour l'amour chaleureux. Tous simplement :* ***je T'aime MAMAN, je T'aime PAPA.***

La mémoire du ***mon grand-père B. BOUAMRA****, à qui son départ a vraiment laissé un grand vide, j'aurais tant aimé que tu sois présent aujourd'hui avec moi pour voire le réussit de ton fis, avec* ***ma grand-mère*** *(ton épouse) et* ***mon grand-père S.BENALIA*** *qui j'ai pu jamais le voire vivant un jour. La miséricorde d'**ALLAH** sur vous. Qu'**ALLAH** vous accueille dans son vaste paradis.*

A ma grand-mère ***Y.FATIMA****, cette perle rare et la femme généreuse, que Dieu vous donne la santé et vous bénisse et protège pour toute la famille. Je t'aime* ***YEMA.***

A mes deux frères ***OUALID & MAROUAN,*** *mes potos et mes bras. A l'épouse de mon frère ma belle-sœur* ***K.*** *et ma belle-grand-mère* ***DJOUHAR.***

A les deux nouveaux membres de ma vie et de la famille : ***AYA,*** *ma belle histoire et ma merveilleuse chance.* ***& LINA,*** *soyer la bienvenu ma belle adorable nièce.*

A toute ma famille maternelle et paternelle : mes ***oncles, tantes, cousins & cousines.***

A mes ***Amis*** *et* ***Amies*** *du l'Université, chaque par son nom, mais comme même je site :* ***D.MAHFOUD, B.SIDALI, M.HOUSSEM, B.TAREK, D.AMINE, B.ADEL, DJALIL . . .*** *et la liste est assez long* ***: S.F, D.D, T.L, S.C, H.F,*** *. . . a tout la promo de* ***master 2 microbiologie appliquée 2022-2023,*** *sans exception.*

A tous mes ami(e)s en dehors de la fac et du travail et loisir. Chacun par son nom.

A toute personne qui m'a aidé et encouragé durant mon chemin d'études, même par un simple mot. ***A mes enseignants … du primaire a … l'université****. Toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

A mes deux sœurs ***NADA & IMENE****, qui sans eux, ce travail n'aurait pas être facile, je les remercie au fond du mon cœur pour tous,* ***MERCI LES FILLES.***

A TOUS CEUX QUI J'AIME, ET CEUX QUE M'AIMENT. ***Yazid***

Dédicace

Je remercie dieu de m'avoir accompagné à chaque étape, me donnant la détermination et la résilience dont j'avais besoin guidance et gratitude.

Je dédie ce travail :

Mes parents, *vous êtes toujours là pour moi, me guidant avec sagesse, me prodiguant des conseils avisés et m'encourageant a pour suivre mes rêves, je suis fière d'être ta fille et d'avoir hérité de ton amour.*

A ma chère mère, A celle qui m'a porté avant le monde, ta présence et ton soutien indéfectible ont façonné la personne que je suis. Tu m'as donné la force et le courage nécessaire pour affronter les défis de la vie.

Mon cher père, tu as une figure paternelle extraordinaire, un pilier de force et un exemple à suivre dans ma vie. Tu as sacrifié tant de choses pour notre famille, travaillant sans relâche pour nous assurer un avenir meilleur.

A mes frères ***Amine***, ***Nabil*** *et ma sœur* ***Selma,*** *je suis honoré de vous merci d'être là et de faire partie de ma vie, de m'encourager dans mon parcours, sans oublie ma belle-sœur* ***Salima***.

Mon neveu ***Mohamed*** *et ma nièce* ***Nada*** *depuis votre arrivée dans nos vies, vous apporté une joie immense.*

A ma ***grand-mère****, j'aurais tellement aimé que tu sois là avec moi en ce jour la vie est parfois injuste, nous séparant mais tu es toujours présente dans mon cœur et dans mes pensées.*

A mon binôme et mon amie ***Nada,*** *le travaille avec toi était une expérience spéciale et enrichissante, et je sais que notre présence mutuelle aurait rendu cette journée encore meilleure. Nos aventures les plus folles, les rires, les larmes, les moments inoubliables, ont tissé entre nous un lien indéfectible.*

A mon amie ***Ines,*** *merci pour notre amitié les mots ne suffisent pas pour exprimer notre lien, tu as été la dans les moments de joie et de tristesse, toujours prête à tendre la main et à offrir ton soutien inconditionnel.*

A toutes ma ***famille*** *et mes* ***amies***.

Merci à toutes les personnes ceux qui ont laissé un impact dans ma vie.

.Imene

Résumé

Les produits pénicilliques de la famille β-lactamine sont des antibiotiques largement utilisés pour traiter les infections bactériennes, mais la résistance peut limiter son efficacité. Cela on a réalisé notre travail sur trois antibiotiques qui sont l'Amoxicilline, la Pénicilline G et l'Amoxicilline + Acide clavulanique produites dans la zone à atmosphère contrôlée ''ZAC'' dans le bâtiment (A) au niveau de site SAIDAL – MÉDÉA.

L'objectif de notre étude vise à collecter des microorganismes au niveau des zones ''ZAC'' bâtiment (A) pénicillique par l'utilisation de Bio-collecteur, identifier des microorganismes trouvés par la coloration de Gram et les tests biochimiques ainsi que l'utilisation des galeries biochimiques API, étudier de la sensibilité des microorganismes collectés aux antibiotiques injectables produises dans le bâtiment pénicillique (A), étudier l'efficacité des antiseptiques et des désinfectants sur les microorganismes, surtout celles résistantes aux antibiotiques, comme une méthode d'élimination de la totalité des germes collectés de la ZAC. Parmi les 46 échantillons collectés, une prévalence de 9% (4 échantillons) a été observée concernant la présence de quatre souches contaminants identifiées dont *Staphylococcus xylosus, Micrococcus spp, Enterobacter sakazakii et Staphylococcus epidermidis*. Ces résultats indiquent la présence de ces microorganismes dans les échantillons prélevés dans le contrôle de l'air par la méthode du Biotest. On a testé l'efficacité de quatre agents biocides pour éradiquer les bactéries contaminantes. Les résultats ont montré que l'eau de Javel 12% et l'eau oxygénée 10V ont réussi à éliminer de manière efficace les bactéries. Cependant, lors des tests avec l'isopropanol 70% et l'alcool éthylique 96%, des réponses sensibles des souches bactériennes ainsi que des réponses intermédiaires ont été observées**.**

Mots clés : Production injectable, β-lactamine, Zone à atmosphère contrôlé, Biotest, Sensibilité, Biocides**.**

Abstract

β-lactam penicillin products are widely used antibiotics for treating bacterial infections, but resistance can limit their effectiveness. Our work focused on three antibiotics, namely Amoxicillin, Penicillin G, and Amoxicillin + Clavulanic Acid, produced in the controlled atmosphere zone (ZAC) in building 'A' at the SAIDAL-MEDEA site.

The purpose of our study is to collect microorganisms from the ZAC areas of the penicillin building (A) using a bio-collector, identify the microorganisms through Gram staining and biochemical tests, as well as the use of API biochemical galleries, study the sensitivity of the collected microorganisms to injectable antibiotics produced in the penicillin building (A), and investigate the efficacy of antiseptics and disinfectants on microorganisms, particularly those resistant to antibiotics, as a method for eliminating all collected germs from the ZAC. Among the 46 samples collected, a prevalence of 9% (4 samples) was observed regarding the presence of four identified contaminating strains, namely Staphylococcus xylosus, Micrococcus spp, Enterobacter sakazakii, and Staphylococcus epidermis. These results indicate the presence of these microorganisms in the samples collected in the air control through the biotest method. We tested the efficacy of four biocidal agents to eradicate contaminating bacteria. The results showed that 12% bleach and 10V hydrogen peroxide successfully eliminated bacteria, leading to a significant reduction in bacterial contamination. However, during the tests with 70% Isopropyl alcohol and 96% Ethyl alcohol, both sensitive and intermediate responses were observed in bacterial strains.

Keywords : Injectable production, β-lactam, Controlled atmosphere zone, Biotest, sensitivity, Biocides.

الملخص

تعتبر المنتجات البنسيلينية من عائلة ال β-matcalien مضادات حيوية مستخدمة على نطاق واسع لعلاج العدوى البكتيرية، ولكن يمكن أن تقلل المقاومة من فعاليتها لقد قمنا بإجراء عملنا على ثلاث مضادات حيوية وهي الأموكسيسيلين، البنسيلين G والأموكسيسيلين + حمض الكلافولانيك المُصنعة في المنطقة ذات التهوية المحكمة "CAZ" في المبنى "A" على مستوى موقع صيدال-المدية.

يهدف هذا البحث إلى جمع الكائنات الدقيقة من مناطق " ذات التهوية المحكمة" في المبنى "A" الخاص بالبنسيلين باستخدام جهاز oiB-uetcellocr، وتحديد الكائنات الدقيقة التي تم العثور عليها باستخدام rGam itaroloCon ed والاختبارات البيوكيميائية بالإضافة إلى استخدام الفحوصات البيوكيميائية PIA، ودراسة حساسية الكائنات الدقيقة المجمعة تجاه المضادات الحيوية المحقنة التي تنتج في المبنى "A" الخاص بالبنسيلين ودراسة فعالية المطهرات و المعقمات على الكائنات الدقيقة، خاصة تلك التي تقاوم المضادات الحيوية، كوسيلة للقضاء على جميع الجراثيم المجمعة من المناطق " ذات التهوية المحكمة" .من بين 46 عينة تم جمعها، لوحظت انتشار بنسبة 9٪ (4 عينات) فيما يتعلق بوجود أربع سلالات ملوثة محددة وهي *staphylococcus xylosus, Micrococcus spp, Enterobacter sakazakii* و *Staphylococcus epidermidis*،تشير هذه النتائج إلى وجود هذه الكائنات الدقيقة في العينات المأخوذة في مراقبة الهواء باستخدام طريقة الاختبارات البيولوجية. تم اختبار فعالية أربع مطهرات ومعقمات للقضاء على البكتيريا الملوثة، أظهرت النتائج أن محلول الكلور 12٪ وماء الأكسجين 10 V انها نجحت في القضاء على البكتيريا بشكل فعال، مما أدى إلى تقليل كبير في التلوث البكتيري. ومع ذلك، أثبت اختبار Isoporponal 70%وÉnahtol 96% استجابة حساسة من سلالات البكتيريا بالإضافة إلى استجابات وسطية.

الكلمات المفتاحية: الإنتاج القابل للحقن، β- lactamine، منطقة ذات التهوية المحكمة، الاختبارات البيولوجية، حساسية، المطهرات والمعقمات.

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction ……...….1

Chapitre I : Généralité sur les médicaments

I.1. Définition de médicament ……....2

I.2. Composition de médicament ……...2

I.3. L'action de médicament……...……3

I.4. L'autorisation sur le marché (AMM)……..…4

I.5. Pharmacocenitiques de médicament ……..5

I.6. Pharmacodynamique de médicament ……..…….….6

I.7. Les formes pharmaceutiques d'administration des médicaments……..……....…7

I.7.1. La voie orale ……..……..……7

I.7.2. Autres voies ……8

I.7.3. Voie parentérale ……..…….…...9

I.7.3.1. Propriétés des préparations parentérales……...……..... 11

I.7.3.2. La production injectable ……12

I.7.3.2.1. Zones à atmosphères contrôlées ……12

I.7.3.2.2. Mode de stérilisation de la zone ZAC ……13

A. Formaldéhyde ……..13

I.7.3.2.3. Contrôle de qualité des produits injectables…...…… 14

A .Les méthodes du contrôle de contamination ……15

A.1. Bio-test ……...…..15

A.2. Swab test ……...……...…15

II. Les antibiotiques …….…….16

II.1. Définition et historique ……16

II.2. Choix d'un antibiotique ……16
II.3. Classification et mode d'action des antibiotiques ……17
II.4. Antibiotiques β-lactamine ……..……..20
II.4.1. Les principaux groupes de β-lactamine…… 20
II.4.1.1. Les pénicillines ……..…….20
A. Historiques ……..……20
B. Allergie a la pénicilline ……..…….21
II.4.1.2. Les autres β-lactamines …….……...……..22
II.5. Antibiotiques non β-lactamine ……...……..22

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

I.1. Définition de l'antibioresistance ……...…….23
I.2. Les types de la résistance bactérienne ……..…….24
I.2.1. La résistance naturelle…….……... 24
I.2.2. La résistance acquise……..…… 24
A. La résistance par mutation …….…….24
B. La résistance par transfert génétique…….…….. 25
I.3. Les mécanismes de résistance……... 25
I.3.1. Mécanismes non enzymatique ……26
I.3.2. Mécanisme enzymatique…… 26
I.4. La surveillance d'antibioresistance…… 27
II.1. L'antibiogramme……..…… 28
II.1.1. Activité des antibiotiques …….….29
II.1.1.1. Mesures de base de l'activité antibiotique……. 29
A. La CMI…… 29
B. La CMB ……...…29
II.2. Les antibiotiques penicilliques et la résistance …….30
II.2.1.Amoxicilline Amoxypen ®…….....31
II.2.2. Pénicilline G Gectapen® …….……..32

II.2.3. Amoxicilline + acide clavulanique Clamoxypen® ……..33

III. Les agents biocides ……...….34

III.1.definition des agents biocides ……..34

III.2.Notion d'antibiotiques, antiseptiques et désinfectants……. 35

III.3.les facteurs influençant ……37

A. les facteurs liés au biocide……... 37

B. les facteurs liés à la cellule…….. 38

III.4.notion d'éthanol, isopropanol eau oxygénée et eau de javel ……38

A .isopropanol…… 39

B. éthanol ……39

C. Eau oxygénée ……..39

D. l'eau de javel …….……..39

Partie expérimentale : matériels et méthodes

I. Matériels……... 40

I.1.Équipement, matériels et systèmes…….…… 40

I.2. Réactifs pour l'identification bactérienne…….…….…… 41

I.3. Échantillon …….....41

II. Méthodes ……..…42

II.1.Collection des germes dans la ZAC…….. 42

II.2. Purification des germes collectés……..……...… 43

II.3. Étude macroscopique ……...43

II.4. Conservation……. 43

II.5. Identification bactérienne……. 43

II.5.1. État frais ……....43

II.5.2. Coloration de Gram ……..……..44

II.5.3.Tests biochimiques……... 44

II.5.3.1. Tests d'orientation ……...44

II.6.Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques……..… 47

II.6.1. L'antibiogramme……. 47

II.6.1.1.Milieu utilisée ……47

II.6.1.2. Inoculum ……...….48

II.6.1.3.Ensemencement ……..48

II.6.1.4.Préparation des dilutions d'ATB……..48

II.6.1.5. Application des disques d'ATB……..49

II.6.1.6. Incubation……....50

II.7. Utilisation des agents biocides puissantes ……..….51

Chapitre III : Résultats et discussion

I.1. Répartition de prélèvement ……...…….52

I.1.1. Résultats de prélèvement de l'air…….53

I.2. Résultats de l'isolement, purification et d'identification de souches isolées à partir de prélèvement de l'air……...…… ..54

I.2.1. Isolement et purification des souches……...…….. 54

I.2.2. Identification des souches……...…… 54

I.2.2.1. Etat frais ……...……54

I.2.2.2. Coloration de gram…….....55

I.2.2.3. Identification biochimiques……...….56

I.2.2.4. Etude de sensibilité des souches aux antibiotiques …….60

I.2.2.5.Test de sensibilité aux agents antiseptiques……. 66

Conclusion ……..69

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Médicament - composition, origines et formes

Figure 02 : Les principes clés de la pharmacocinétique par l'acronyme ADME

Figure 03 : Le cycle de pharmacodynamique

Figure 04 : Les types des formes galiniques

Figure 05 : les formes pharmaceutiques de la voie parentérale

Figure 06 : Architecture de la zone ZAC

Figure 07 : Éléments de l'appareil bio-collecteur d'air

Figure 08 : Les mécanismes d'action (cibles) des antibiotiques

Figure 09 : La structure chimique de la penicilline

Figure 10 : Mécanismes de résistance enzymatiques et non enzymatiques aux antibiotiques

Figure 11 : Schéma représente un antibiogramme

Figure 12 : Présentation de l'antibiotique injectable AMOXYPEN®

Figure 13 : Présentation de l'antibiotique injectable GECTAPEN®

Figure 14 : Présentation de l'antibiotique injectable CLAMOXPEN®

Figure 15 : Les étapes de la coloration de Gram

Figure 16 : La galerie chimique API 20E

Figure 17 : La galerie chimique API Staph

Figure 18 : Boites de Pétri contenant la gélose Trypticase-Soja (TSA)

Figure 19 : Préparation de l'inoculum

Figure 20 : Solution mère, dilution 1 et 2 des antibiotiques AMX, PENG et AMC

Figure 21 : Technique d'immersion de disques vierges

Figure 22 : Les boites de pétri divisant en deux concentrations

Figure 23 : Répartition des souches isolées

Figure 24 : Aspect de colonie de la souche CL3

Figure 25 : Aspect de colonie de la souche CL4

Figure 26 : Coloration de gram de la souche TT

Figure 27 : Coloration de gram de la souche DOS

Figure 28 : Coloration de gram de la souche CL3

Figure 29 : Coloration de gram de la souche CL4

Figure 30 : Test catalase de la souche CL3 et CL4

Figure 31 : Test catalase de la souche TT et DOS

Figure 32 : Test oxydase de la souche TT et DOS

Figure 33 : Test oxydase la souche CL3 et CL4

Figure 34 : Résultats d'identification de la souche TT par la galerie API Staph

Figure 35 : Résultats d'identification de la souche DOS par la galerie API Staph

Figure 36 : Résultats d'identification de la souche CL4 par la galerie API Staph

Figure 37 : Résultats d'identification de la souche CL3 par la galerie API 20E

Figure 38 : Diagramme présente les résultats d'antibiogramme

Figure 39 : Résultats d'antibiogramme de la souche *S.xylosus*

Figure 40 : Résultats d'antibiogramme de la souche *Micrococcus spp*

Figure 41 : Résultats d'antibiogramme de la souche *E.sakazakii*

Figure 42 : Résultats d'antibiogramme de la souche *S.epidermidis*

Figure 43 : Diagramme présente l'effet des agents biocides sur les souches contaminants.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Les formes pharmaceutiques de la voie orale**.**

Tableau 02 : Les formes pharmaceutiques selon les voies d'administration**.**

Tableau 03 : les formes pharmaceutiques de la voie parentérale

Tableau 04 : La classification des antibiotiques de la famille β-lactame

Tableau 05 : Les **β-** lactames et leurs caractéristiques

Tableau 06 : Les antibiotiques pénicilliques - DCI, spectre d'action.

Tableau 07 : Les divers groupes et types des agents biocides

Tableau 08 : Les biocides - cibles, efficacité et toxicité et leur application

Tableau 09 : Les structures chimiques et l'action des produits biocides

Tableau 10 : Les antibiotiques utilisés dans la méthode de l'antibiogramme

Tableau 11 : Les agents biocides utilisés, leurs concentrations et nombre de disque posés

Tableau 12 : Répartition des prélèvements

Tableau 13 : Bulletins des quatre prélèvements de l'air non conformes

Tableau 14 : Résultats de l'état frais

Tableau 15 : Résultats de coloration de Gram des souches isolées

Tableau 16 : Résultats de l'identification des souches isolées

Tableau 17 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition

Tableau 18 : Résultats de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques

Tableau 19 : Résultats de la sensibilité des souches isolées aux agents antiseptiques.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADME : Processus d'absorption, de Distribution, Métabolisme et d'excrétion

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMC : AMOXICILIINE +ACIDE CLAVULANIQUE

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AMX : AMOXICILLINE

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et de Produits de Santé

ATB : Antibiotiques

BGN : Les Bacilles à Gram négatif

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CL : Centre de ligne

CL3 : Centre de ligne de bulletin 3

CL4 : Centre de ligne de bulletin 4

CLV : Certificat de Libre Vente

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPP : Certificat du Produit Pharmaceutique

DCI : Dénomination Commerciale Internationale

DO : Densité optique

DOS : Doseuse

HGT : Transfert de gêne horizontal

ID : La voie Intradermique

IM : La voie Intramusculaire

IV : La voie Intraveineuse

LTSF : Low Temperature Steam Formaldehyde

OMS **:** Organisation Mondiale de la Santé

ORL **:** La voie Otorhinolaryngologique

PENG **:** PENICILLINE G

PH **:** Le Potential Hydrogen

PNAS **:** The Proceeding of the National Academy of Sciences

SC **:** La voie Sous Cutanée

SCN **:** Staphylocoque à coagulase négative

TT **:** Table tournante

UFC **:** Unité formant colonie

UV **:** Lumière Ultraviolet

ZAC **:** Zones à Atmosphère Contrôlé.

INTRODUCTION

Au niveau mondial, l'industrie pharmaceutique occupe une place significative au sien des systèmes de santé. Elle comprend de nombreux services et entreprises, publics ou privés, qui découvrent, mettent au point, la recherche, le développement, la fabrication et la commercialisation des médicaments au service de la santé humaine et animale **(Tait, 2002).**
Les antibiotiques sont des medicaments utilisés pour traiter et prévenir les infections dues à des bactéries mais leur efficacité est menacée car les bactéries peuvent s'adapter et résister aux traitements **(Burnand & Clarke, 2006).**

Pour toute industrie pharmaceutique des produits injectables, la maitrise de la contamination microbienne de ses médicaments est un point crucial, de garantir des produits stériles. Elle implique une surveillance stricte au niveau des locaux de production, surtout par le contrôle de l'air quotidien (le bio-test), pour cibler les zones critiques class (A) et même les autres zones classe (B) et (C), et l'utilisation des agents biocides efficaces pour assurer la stérilité des locaux de production injectable ainsi d'éviter la contamination qui peut arrêter cette dernière.

L'objectif de notre étude a été réalisé au niveau de laboratoire de la microbiologie, département de contrôle de qualité du site de production SAIDAL Médéa, a été d'identifier tous les microorganismes, collecter au niveau des locaux de production, spécialement le département ''A'' des médicaments pénicilliques dans les zone a atmosphère contrôlé (les ZAC) ou autrement dit ¨les salles blanches¨, ainsi de tester la résistance de ces microorganismes vis-à-vis les antibiotiques produises à l'intérieur de ses salles où la contamination a eu lieu.

Notre étude a déroulé en quatre étapes :

- Collection des microorganismes au niveau des zones ¨ZAC¨ bâtiment (A) pénicillique par l'utilisation de Bio-collecteur.
- L'identification des microorganismes trouvés par la coloration de Gram et les tests biochimiques ainsi que l'utilisation des galeries biochimiques API.
- L'étude de la résistance des microorganismes collectés aux antibiotiques injectables produises au bâtiment pénicillique (A).
- L'étude de l'efficacité des agents biocides sur les microorganismes, surtout celle résistantes aux antibiotiques, comme une méthode d'élimination de la totalité des germes collecter de la ZAC.

  Le travail est subdivise en deux parties et plusieurs chapitres, chapitre I : généralité sur les médicaments ; chapitre II : résistance aux antibiotiques ; et une 2ème partie : matériel et méthode résume les différentes technique utiliss durant l'expérimentale, chapitre III résultats et discussion.

Chapitre I : Généralité sur les médicaments

I.1. Définition de médicament

Un médicament se réfère à toute substance ou une composition qui prétend avoir des propriétés thérapeutiques ou préventives vis-à-vis des maladies humaines ou animales. Il inclut également toute substance ou composition peuvent être utilisée chez l'homme ou animale, ou leur être administrée , dans le but d'établir un diagnostic médicale ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques par le biais d'une action pharmacologique, immunologique ou métabolique **(Safon, 2021).**

I.2. Composition de médicament

Un médicament comprend une partie responsable de ses effets sur l'organisme humain, le **principe actif** est le plus souvent, et une partie inactive faire d'un plusieurs **excipients (Burnand & Clarke, 2006)**. Voir la figure (01)

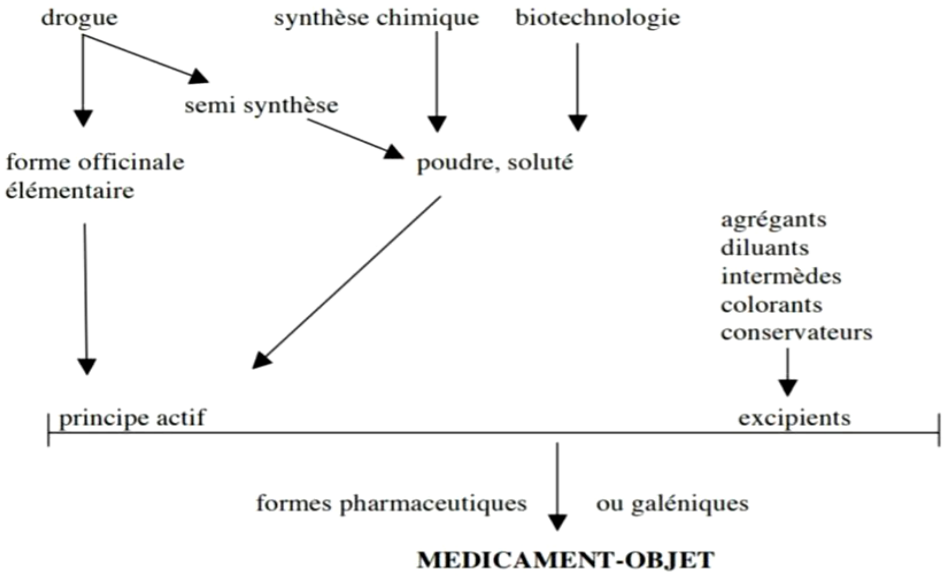


Figure 01 : Médicament - composition, origines et formes **(Burnand & Clarke, 2006)**.

A. Le principe actif

Les substances utilisées comme matières premières dans la fabrication des médicaments sont communément appelées "substances pharmaceutiques". Le terme "drogue" est généralement associé à des substances illicites et n'est pas utilisé pour décrire les composants des médicaments. Les matières premières peuvent provenir de sources minérales, végétales ou animales, et sont souvent désignées comme des "principes actifs traditionnels". Cependant, la plupart des principes actifs utilisés aujourd'hui sont synthétisés chimiquement de manière Complète ou semi-synthétique à partir de substances naturelles. Les avancées biotechnologie,

telles que les techniques de fermentation et de génie génétique, permettent également la production de molécules complexes par des organismes vivants. Les principes actifs synthétisés chimiquement ou produits par biotechnologie sont habituellement présentés sous forme de poudres ou, occasionnellement, de solutions **(Burnand & Clarke, 2006).**

B. Les excipients

Les excipients sont des substances, qu'elles soient d'origine chimique ou naturelle, qui sont utilisées dans les médicaments pour faciliter leur utilisation, mais qui n'ont pas d'effet curatif ou préventif en eux-mêmes. Ces excipients sont classés en fonction de leur rôle dans le médicament, notamment en tant qu'agents de liage, diluants, intermédiaires, colorants, édulcorants ou conservateurs **(Aiache et al., 2001).**

I.3. L'action de médicament

Elle est en général engendrée par une molécule inchangée ou dans certains cas par une molécule partiellement ou substantiellement modifiée.

Dans la chimio-thérapeutique anti-infectieuse et antiparasitaire, chaque classe de molécule active a son propre mécanisme d'action sur les micro-organismes.

Pour le traitement des maladies qui se déclarent en l'absence de germes pathogènes, l'ACTION :

- A une simple propriété chimique (alcalinisation, acidification, effet osmotique).
- Chaque classe de médicaments a son cible dans l'organisme : la molécule active réagit avec une entité moléculaire appelé le RECEPTEUR, «*Corpora non aguntnisifixata*›› c'est-à-dire (les substances médicamenteuses n'agissent pas, si elles ne sont pas fixées) .Une action pharmacologique médiée par des récepteurs, engendre une séquence d'événements cellulaires, que l'on peut schématiser ainsi :

M+R ⟶ M-R ⟶ ACTION PHARMACODYNAMIQUE ⟶ EFFET THERAPEUTIQUE

M : la molécule de médicament

R : le récepteur

L'ACTION PHARMACOLOGIQUE : étant appelée aussi l'ACTIVITE Intrinsèque.

L'action est donc une conséquence biologique de la fixation préalable de la molécule active sur un récepteur **(M.Shorderet et al, 1998).**

I.4. L'autorisation de mise sur le marché (AMM)

Pour être commercialisé en Algérie, il est nécessaire que le médicament obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) dans son pays d'origine, ainsi qu'un certificat du produit pharmaceutique (CPP) et un certificat de libre vente (CLV), ou tout autre document émis par les autorités réglementaires pharmaceutiques attestant de son enregistrement et de sa commercialisation dans le pays d'origine.

L'obtention de l'AMM repose sur l'évaluation d'un dossier soumis par le laboratoire, visant à évaluer l'équilibre entre les bénéfices et les risques du médicament, en se concentrant notamment sur les éléments suivants :

- La démonstration de son efficacité pour les indications revendiquées, en tenant compte du profil des patients ciblés et de la posologie recommandée ;
- Les effets indésirables potentiels associés à son utilisation et leur fréquence, recueillis lors des études ;
- La qualité chimique, biologique ou microbiologique du médicament (substance active et produit fini), ainsi que la qualité des processus de fabrication.

Une fois l'AMM obtenue, le laboratoire a le choix de commercialiser ou non le médicament. Cependant, si le médicament n'est pas commercialisé dans les trois années suivant l'obtention de l'AMM, celle-ci devient caduque. L'AMM est initialement délivré pour une durée de cinq ans, pouvant être renouvelée par la suite sans limitation de durée, à moins que l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM) ou l'Agence européenne des médicaments ne décide, pour des raisons de pharmacovigilance, de procéder à un renouvellement supplémentaire de cinq ans **(Journal officiel ,2021).**

I.5. Pharmacocinétique de médicament

La pharmacocinétique des antibiotiques a été très étudiée ces dernières années. C'est l'étude de la cinétique dès les processus (ADME) d'**absorption**, de **distribution** et **métabolisme** (transformation en produit actif ou inactif) et d'**excrétion** en pharmacocinétique et leurs réponses pharmacologiques, thérapeutiques ou toxiques chez l'homme et les animaux**.** Voir la figure (02) qui présente les principes clés de la pharmacocinétique par l'acronyme ADME **(Jambhekar & Breen, 2009).**

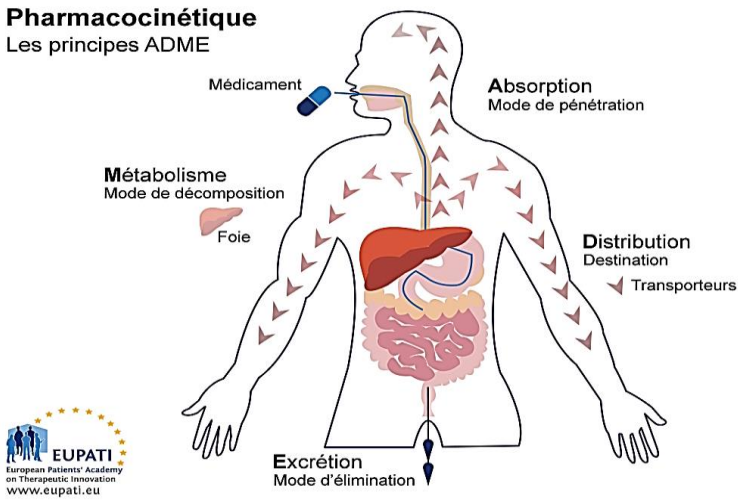


Figure 02 : Les principes clés de la pharmacocinétique par l'acronyme ADME **(Eupati.2023).**

I.6. Pharmacodynamique de médicament

Il s'agit d'une analyse approfondie de l'interaction entre la substance active et sa cible. Cette réponse est une composante de l'effet thérapeutique recherché **(Eupati,2023)**. Voir la figure (03) qui présente le cycle de la pharmacologie.

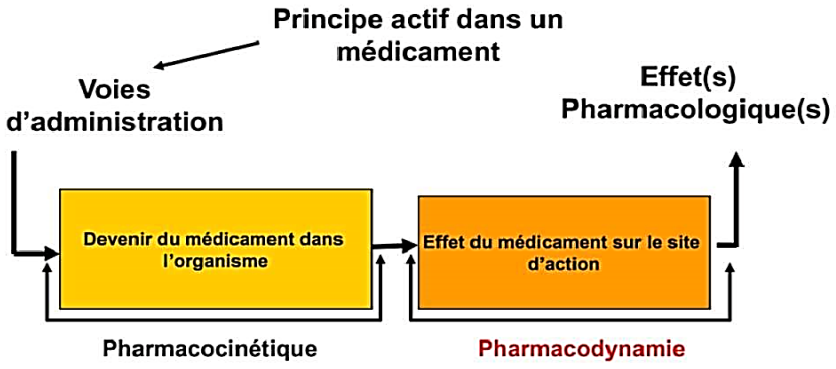


Figure 03 : Le cycle de pharmacodynamique **(Marie, 2020)**

I.7. Les formes pharmaceutiques d'administration des médicaments

La notion de "forme" dans le domaine pharmaceutique va au-delà de l'apparence physique d'un médicament. Elle se réfère à la "forme galénique", qui englobe la présentation spécifique par laquelle le médicament est administré. Chaque forme galénique présente des caractéristiques distinctes, elle est conçue pour répondre à des besoins spécifiques **(Boulanger T, 2014)**. Il est primordial de suivre attentivement les précautions d'utilisation mentionnées dans la notice du médicament afin d'assurer une efficacité maximale et de garantir la sécurité de son utilisation **(Roger, 2021)**.

Il y'a trois principales voie : la voie sous cutanée (SC) ; voie intraveineuse (IV) ; voie intramusculaires (IM), et d'autres voies moins utilisées : la voie intradermiques (ID) ; voie intrarachidienne ; voie intra artérielle ; voie intracardiaque **(Kassa et al, 2010).** Voir la figure (04) qui présente les types des formes galéniques**.**

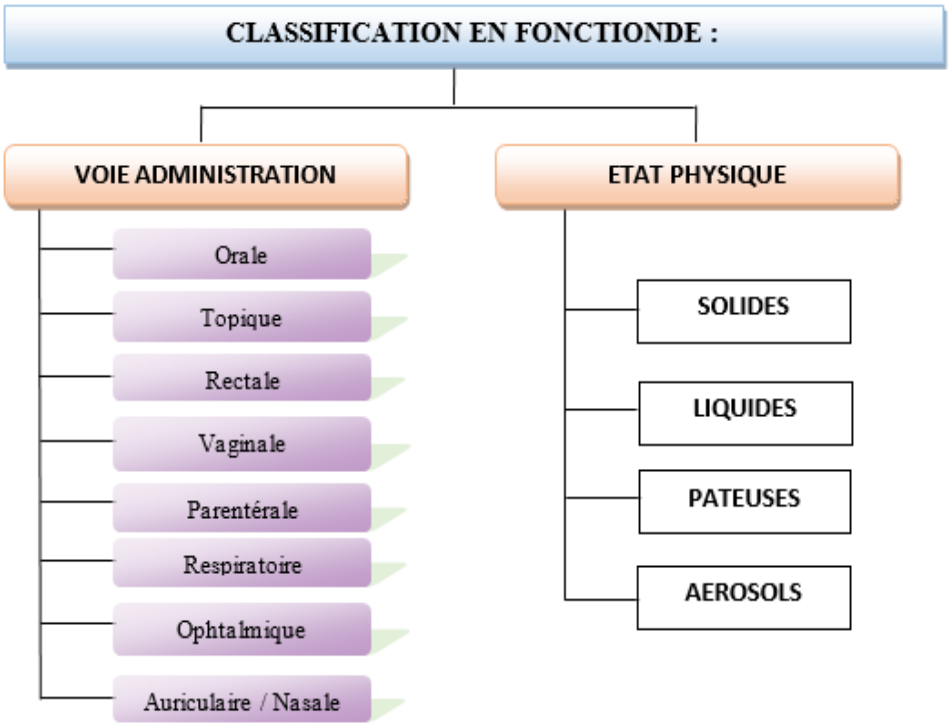


Figure 04 : Les types des formes galinique **Gozalo (2009).**

Le choix d'une voie d'administration dépend :

- **Type d'action souhaité**, selon qu'on recherche, exemple : une action locale ou générale ;

- **Circonstances de l'administration**, exemple : situation d'urgence, volume important à administrer, nature et composition particulière du médicament etc. **(Moulin & Coquerel, 2002)**.

Les formes existantes sont généralement classées en fonction de la voie d'administration du médicament tel que : la voie orale ; voie parentérale ; et autres voies.

I.7.1. La voie orale

La voie orale est une voie d'administration des médicaments qui consiste à l'avaler par la voie buccale. Le tableau (01) ci-dessous résume des formes de médicaments utilisées par la voie orale.

Tableau 01 : Les formes pharmaceutiques de la voie orale **(Brossard et al., 2016).**

La voie orale	
Formes liquides (action plus rapides)	**Formes solides (une langue conservation)**
– Sirops – Potions – Emulsions et suspensions buvables –Solutés divers – Ampoules des solutés buvables – Huiles ...se sont des formes multidoses	– Comprimés – Cachets – Sachets – Capsules – Ampoules buvables. – Gélules – Granules ... se sont des formes unitaires

I.7.2. Autres voies

Autres voies sont existées, tel que la voie rectale ; vaginale ; respiratoire ; ORL ; cutanée ; ophtalmique ; pulmonaire et leurs formes pharmaceutiques sont résumé dans le tableau (02) ci-dessous.

Tableau 02 : Les formes pharmaceutiques selon les voies d'administration **Gozalo (2009).**

La voie d'administration	La forme pharmaceutique
❖ **La voie rectale**	Suppositoires Pommade rectale Capsule rectale Lavement
❖ **La voie vaginale**	Ovules Capsules vaginales Comprimés vaginaux Solutés ; Crème ; Gelées vaginales
❖ **La voie respiratoire**	Inhalations ; Aérosols
❖ **La voie ORL (nasale, buccopharyngée, auriculaire)**	Bains de bouche Bollutoires Pommades Aérosols Goutes nasales
❖ **La voie cutanée / percutanée**	Pommades Crèmes Lotions Liniments Gels Dispositifs transdermiques (patchs)
❖ **La voie ophtalmique**	Collyres ; Solutés d'irrigation ; Pommade ophtalmique
❖ **La voie pulmonaire**	Dispositifs

I.7.3. Voie parentérale

La voie parentérale désigne une méthode d'administration de médicaments que se fait par une voie autre que digestive, c'est la nutrition par voie entérale **(Humbert-delaloye, 2013)**. Elle englobe donc les injections par sous-cutanée (SC), intradermique (ID), intraveineuse (IV), intramusculaire (IM), intra-artérielle, intracardiaque, intra articulaire et intrarachidienne. Il y'a deux formes principales sont appliquées. La forme **liquide**, généralement sous forme de solution, d'un médicament est couramment utilisée, parfois sous forme d'émulsions ou de suspensions soit directement, soit après dilution, et la forme **solide** existe en poudres à diluer ; implants **(Berard, 2021)**. Les diverses préparations injectables administrées par la voie parentérale sont les suivants :

A. Préparations injectables

Les préparations injectables sont des solutions, des émulsions ou des dispersions d'une substance active et les adjuvants (suspensions stérile) **(Berard, 2021),** compose de :

- L'eau pour préparations injectables ;
- Un liquide non aqueux approprié ;
- Un mélange de deux liquides, s'ils sont miscibles l'un a l'autre.

B. Préparations injectables pour perfusion

Les préparations injectables pour perfusion sont des solutions aqueuses ou des émulsions à phase externe aqueuse stériles, normalement isotonique au sang. Elles sont destinées à être administrer en grand volume **(Palliez, 2000).**

C. Poudres pour préparations injectables ou perfusion

Les poudres destinées à la préparation d'injections ou de perfusions sont des substances solides stériles, contenues dans des récipients finaux. Après agitation avec la quantité appropriée de liquide stérile prescrite, elles se dissolvent rapidement pour former une solution pratiquement limpide ou une suspension uniforme **(Le Hir, 2009).**

Le tableau (03) présente les deux formes de la voie parentérale

Tableau 03 : les formes pharmaceutiques de la voie parentérale **(Nouvel & Lepape, 2015).**

La voie parentérale (IV, IM, SC)		
''FORME LIQUIDE''		**''FORME SOLIDE''**
Préparations injectables	**P**réparations injectables pour perfusion	**P**oudres pour préparations injectables ou perfusion
Unidoses	**Multidose s**	**Unidoses**
Exemple : -Ampoule autocassable -Ampoule cylindrique	**Exemple :** - Solution de perfusion - Flacon pour plusieurs injections	**Exemple :** -Poudres à reconstituer avec un solvant - Implants

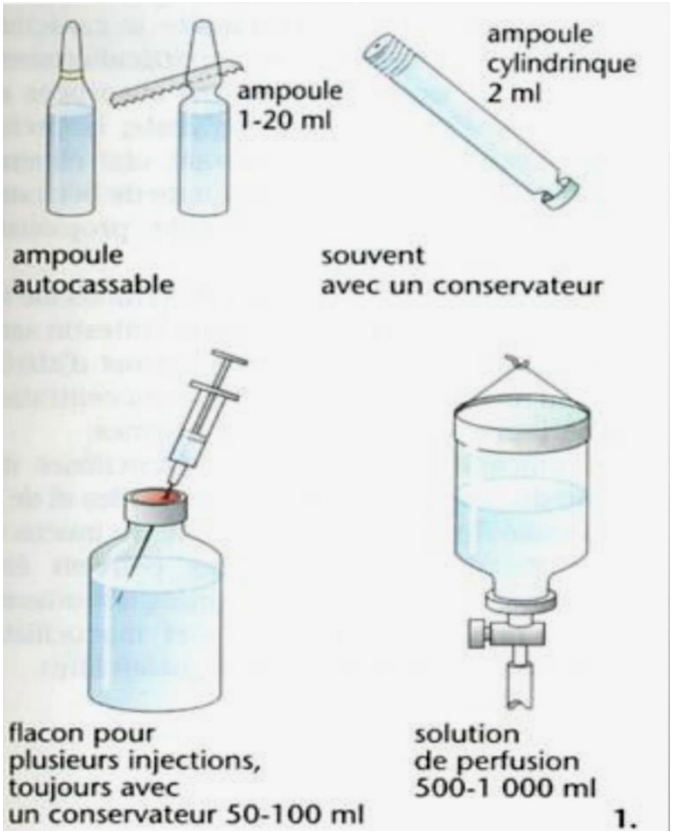


Figure 05 : les formes pharmaceutiques de la voie parentérale **(Berard, 2021)**.

I.7.3.1. Propriétés des préparations parentérales

Les préparations parentérales sont des formulations stériles conçues pour être administrées par injection, perfusion ou implantation dans le corps humain ou animal. Elles sont préparées selon des procédures rigoureuses visant à garantir leur stérilité, à prévenir l'introduction de contaminants, la présence de substances pyrogènes et la prolifération des micro-organismes **(Woussi Djewe, 2012)**.

- **Limpidité,** le contrôle optique d'une préparation injectable comprend d'une part le contrôle de son aspect, et sa coloration. La solution injectable est transparente et ne contient presque pas de particules lorsqu'elle est inspectée dans des conditions de visibilité appropriées **(Labrude, 2015).**
- **Neutralité,** le pH joue un rôle important dans la production des injectables car il détermine la tolérance de l'organisme et donc sa stabilité, sa conservation et son activité. Pour les fluides corporels (sang, lymphe et liquide céphalo-rachidien), le pH est d'environ 7,35 à 7,40. Par conséquent, nous cherchons à ne pas trop nous éloigner de la neutralité dans les formulations injectables **(Le Hir, 2009).**
- **Isotonicité,** la pression osmotique de l'injection doit être proche de celle du plasma pour éviter une osmose de l'eau à travers la membrane. C'est un paramètre très important pour les solutions IV **(Boulsa, 2014).**
- **Stérilité,** aucun micro-organisme, vivant ou revivifiable. La stérilité est testée avant la commercialisation et lors de l'installation de la perfusion, et toutes les précautions de stérilité doivent être mises en œuvre pour éviter la contamination septique de la perfusion **(European pharmacopoeia commission, 2012).**
- **Apyrogénicité, l**a préparation pour injection doit être apyrogène, c'est-à-dire qu'elle ne contient pas de substances susceptibles de provoquer une élévation soudaine de la température corporelle lors de l'injection, qui peuvent être produites par des bactéries, en particulier des endotoxines présentes dans la paroi gram négatif pour les bactéries, les virus, les champignons et les levures **(Bruneaux, 2002).**

La voie parentérale est très importante vue les avantages qu'elle présente tel que :

- Action rapide ;
- Action secondaires des médicaments sur le système digestif écartent ;
- Destruction des substances actives par les sucs digestifs évitées ;
- Absence de dégoût du a l'odeur ou à la saveur ;
- Possibilité d'action thérapeutique localisée ;

- Absorption intégrales des médicaments assurée **(Le Hir, 2009) ;**
- La voie intraveineuse est largement utilisée, notamment dans un contexte d'urgence ;
- Instabilité hémodynamique ou pour administrer des médicaments sans alternative par voie orale **(Rwabihama et al., 2006)**.

I.7.3.2. La production injectable

La production injectable nécessite de se prémunir et de contrôler et maîtriser les contaminations internes. Cela est devenue un enjeu crucial de nombreux secteurs d'activités variés, ces secteurs présentent des besoins distinctifs et spécifiques, il en résulte une variété d'appellation utilisées pour distinguer les zones où il est nécessaire de contrôler la présence des microorganismes tels que : les salles propres ; salles blanches ; zones à atmosphère contrôlée.

I.7.3.2.1. Zones à atmosphère contrôlée

La production des médicaments injectables doit s'effectuer dans des installations appelées les zones à atmosphères contrôlées (ZAC), qui sont des zones de production spécialement conçues pour maintenir un environnement contrôlé et propre, en limitant l'exposition des produits à des contaminants externes. Elles sont conçues pour répondre à des normes spécifiques de propreté de l'air, de la température, de l'humidité et de la pression différentielle, afin de minimiser le risque de contamination microbiologique ou particulaire **(Maia et al., 2008).**

Ces zones (ZAC) sont classées en fonction de leur niveau de propreté (figure 04), on distingue 04 classes :

Classe **A** : Les emplacements où des opérations à haut risque sont effectuées comprennent le point de remplissage, les zones où sont positionnés les bols vibrants de bouchons, les ouvertures d'ampoules et de flacons, ainsi que les points de raccordement aseptiques ;

Classe **B** : Opérations de préparation et de remplissage aseptiques ;

Classe **C** et **D** : Destinées aux étapes de moindre criticité dans la fabrication des médicaments stériles **(Brossard et al., 2016).**

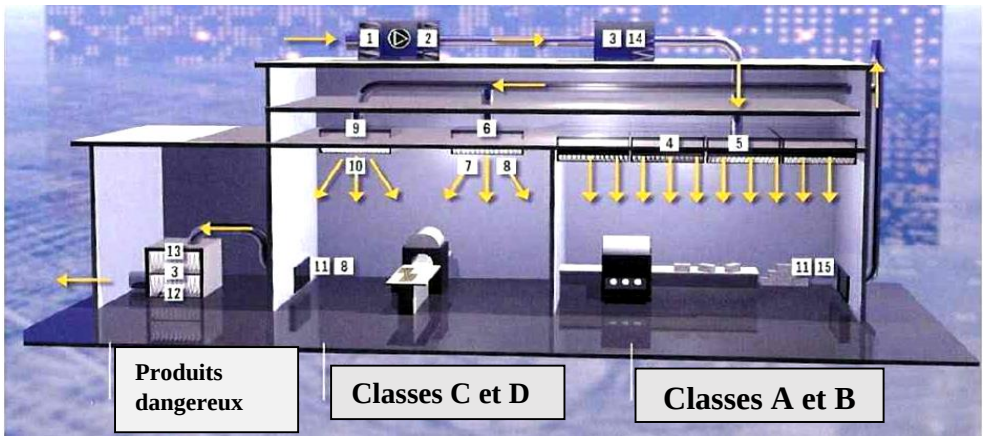


Figure 06 : Architecture de la zone ZAC**(ER2i, 2017)**.

Selon **BPF** les critères établis par les autorités sanitaires et les normes internationales. Le personnel qui travaille dans ces zones doit également suivre des protocoles stricts de sécurité et de stérilité, et porter des vêtements de protection, tels que des combinaisons, des gants, des masques et des casques, afin de minimiser les risques de contamination. Ces normes peuvent inclure des installations, de formation du personnel, de contrôles de qualité, de validation des procédés et d'inspection réglementaire **(Brossard et al., 2016).**

I.7.3.2.2. Mode de stérilisation de la zone ZAC

La stérilisation des zones ZAC est effectuée à l'aide de plusieurs méthodes pour garantir un environnement propre et exempt de contaminants. Les méthodes couramment utilisées sont : la stérilisation par filtration ; rayonnement ultraviolet UV ; chaleur ; certains gaz (formaldéhyde) **(Bonnefoy et al., 2002).**

A. Formaldéhydes

Le formaldéhyde est une substance utilisée sous forme gazeuse ou en solution aqueuse. Il est bactéricide, fongicide, tuberculocide et virucide. Il perd de son efficacité en présence de protéines. Cela signifie que les agents enfermés, par exemple dans des crachats, du pus ou du sang ne peuvent être atteints. De plus, le formaldéhyde est utilisé comme agent désinfectant dans de nombreux médicaments et produits cosmétiques destinés aux êtres humains. Il joue également le rôle d'antiseptique dans les produits médicaux et biologiques destinés aux animaux, ainsi que dans les fongicides, les textiles et les liquides utilisés dans le processus d'embaumement. La stérilisation par le formaldéhyde, LTSF (Low Temperature Steam Formaldéhyde) ne doit pas être confondue avec la désinfection au formol **(Eickmann, 2014)**.

- **Appareillage**

Stérilisateur à formaldéhyde s'agit souvent de stérilisateurs mixtes, soit par la vapeur seule (températures habituelles de stérilisation par la vapeur), soit par formaldéhyde/vapeur à 55 ou 80 ˚).

- **Principe**

Mise à profit des propriétés bactéricides, sporicides, fongicides et virucides du formaldéhyde dans une enceinte soumise préalablement au vide et à humidité contrôlée, à 55 °C ou 80 °C **(Bonnefoy et al., 2002).**

I.7.3.2.3. Contrôle de qualité des produits injectables

Le contrôle de la contamination est une science interdisciplinaire pour le contrôle des environnements intérieurs, l'objectif principal de cette technologie est de réduire la possibilité que des contaminants critiques influencent négativement le produit final, l'installation de production, en utilisant un air contrôlé et propre **(Ramstorp, 2008).**

Il existe deux méthodes de contrôle de qualité concernant d'une part la stérilité des préparations et d'autre part la bio-contamination des surfaces du local de préparation. La méthode employée a été validée l'étude de tours montrant l'absence d'activité antimicrobienne des produits injectables. En pratique, il s'agit d'un ensemencement direct de différents milieux de culture liquides comme décrit dans la *Pharmacopée européenne* Ve édition, ces contrôles permettent de caractériser, de quantifier et de suivre dans le temps cette bio-contamination. D'autres part le contrôle de l'aérobio-contamination, permet de compléter ce travail en recherchant les micro-organismes présentent dans l'air du local de préparation par l'utilisation d'un bio-collecteur à impaction **(Maia et al., 2008).**

A. Les méthodes de contrôle de contamination

Dans la phase de la production injectable, le contrôle de la contamination repose sur l'utilisation des bio-collecteurs par les méthodes de Bio-Test et Swab-Test.

A.1. Bio-Test d'air

Le bio-collecteur permet de dénombrer les microorganismes présentent dans un volume d'air prélevé, l'air aspiré passe au travers d'une grille perforée par 300 pores de 0.6 mm de diamètre. Après le passage par les pores, il impacte sa surface d'une boite de Pétri **(Serrayet, 2014).**

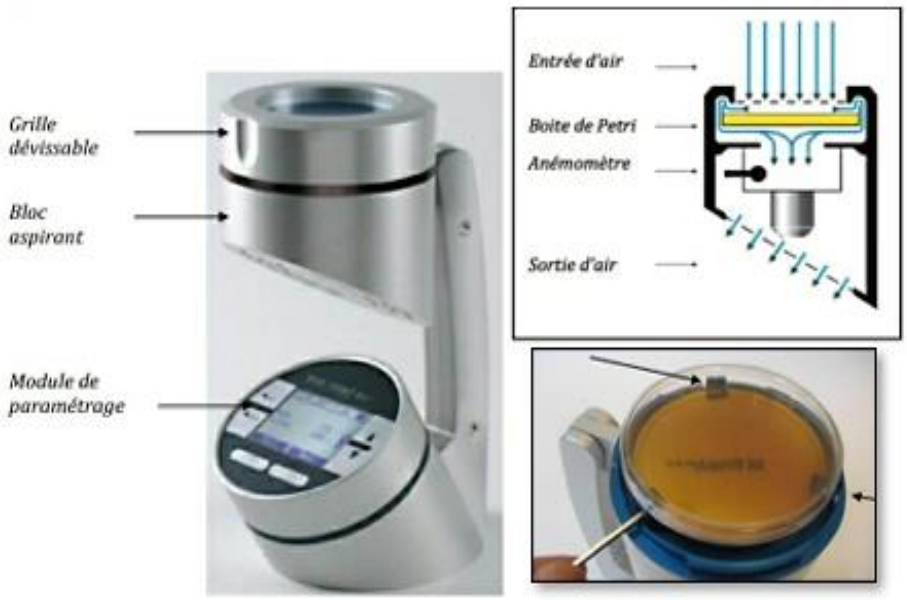


Figure 07 : Éléments de l'appareil bio-collecteur d'air **(Serrayet, 2014)**

A.2. Swab-Test des surfaces

L'échantillonnage par écouvillonnage est utilisé pour détecter les contaminants organiques et inorganiques (poussières, pesticides, métaux, dérive de pulvérisation, résidus de contaminants, etc.) sur différentes surfaces. La technique est plus efficace sur les surfaces lisses telles que le verre, le métal (y compris les tuyaux), les surfaces peintes et les surfaces de végétation lisses telles que les feuilles **(Bonnefoy et al., 2002)**.

II. Les antibiotiques

II.1. Définition et historique

Les antibiotiques (du grec *anti* : contre, et *biôtikos* : qui concerne la vie)
Les antibiotiques (ATB) sont des substances naturelles ou synthétiques qui agissent spécifiquement et à faible dose afin d'induire la lyse (effet bactéricide) ou l'arrêt de la croissance (effet bactériostatique) des bactéries à l'exception notable des virus. Leur utilisation a permis une avancée majeure en médecine humaine et vétérinaire pour le traitement de maladies infectieuses, permettant une augmentation notable de l'espérance de vie. Il existe une grande variété d'ATB, la plupart sont des dérivés de molécules naturellement produites par les microorganismes. Les ATB se fixent au niveau de leur cible et perturbent les processus cellulaires **(FAUCHER, 2018).**

Le premier ATB a été découvert en 1928 par Alexandre Flemming **(SEBBAH, 2010)**, qui a découvert par hasard qu'une ou des substances produites par un champignon, Penicillium notatum, il s'agit de la pénicilline.

II.2. Choix d'un antibiotique

Le choix d'un ATB pour la prophylaxie antimicrobienne est basé sur des paramètres microbiologiques, pharmacocinétiques, chimiques et pharmacodynamiques

La connaissance des paramètres pharmacodynamiques tels que l'activité bactéricide, l'effet post-antibiotique, l'activité sur les facteurs de virulence (adhésion bactérienne), permet d'affiner le choix de l'ATB et d'optimiser sa posologie.

Lors de la sélection d'un ATB pour traiter une infection chez un patient, le médecin évalue attentivement la bactérie la plus susceptible d'être responsable, étant donné que chaque ATB est efficace uniquement contre certains types de bactéries. Dans le processus de choix d'un ATB, les médecins prennent en considération les facteurs suivants :

- La nature et la gravité de l'infection.
- L'état du système immunitaire du patient, qui peut soutenir l'action du médicament contre l'infection.
- Les éventuels effets secondaires associés à l'utilisation du médicament.
- Le risque d'allergies ou d'autres réactions graves au médicament.
- La clairance rénale, qui peut varier en fonction de l'âge du patient.

Ces éléments sont pris en compte afin d'optimiser le traitement antibiotique en choisissant le médicament le plus approprié pour cibler spécifiquement la bactérie responsable de l'infection, tout en tenant compte des caractéristiques individuelles du patient et des risques potentiels liés à l'utilisation de l'ATB **(Brain J Werth ,2022**).

II.3. Classification et mode action des antibiotiques

Les ATB se répartissent en plusieurs familles, parmi lesquelles les β-lactamines (pénicillines et céphalosporines), les macrolides, les aminosides, les cyclines et les quinolones sont les plus courantes. Ces familles d'ATB peuvent être regroupées de manière schématique selon quatre mécanismes d'action principaux :

- **Inhibiteurs de la synthèse des enveloppes bactériennes** : Ces ATB agissent en perturbant les processus impliqués dans la formation des enveloppes bactériennes, ce qui altère leur structure et leur fonction ;
- **Inhibiteurs de la synthèse des protéines** : Ces ATB interfèrent avec la synthèse des protéines bactériennes, perturbant ainsi la capacité des bactéries à se multiplier et à survivre ;
- **Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques** : Ces ATB ciblent la synthèse où la fonction des acides nucléiques, tels que l'ADN ou l'ARN, au sein des cellules bactériennes, ce qui entrave leur réplication et leur expression génétique ;
- **Inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique** : Ces ATB perturbent la voie métabolique responsable de la synthèse de l'acide folique, un cofacteur essentiel à la croissance et à la survie des bactéries.
- Il convient de noter que certains ATB peuvent agir selon des mécanismes d'action plus complexes ou encore peu compris. Ces mécanismes peuvent impliquer des interactions multiples avec les processus cellulaires bactériens, ce qui rend leur classification plus complexe **(Vidal, 2023).** Voir la figure (08**)**

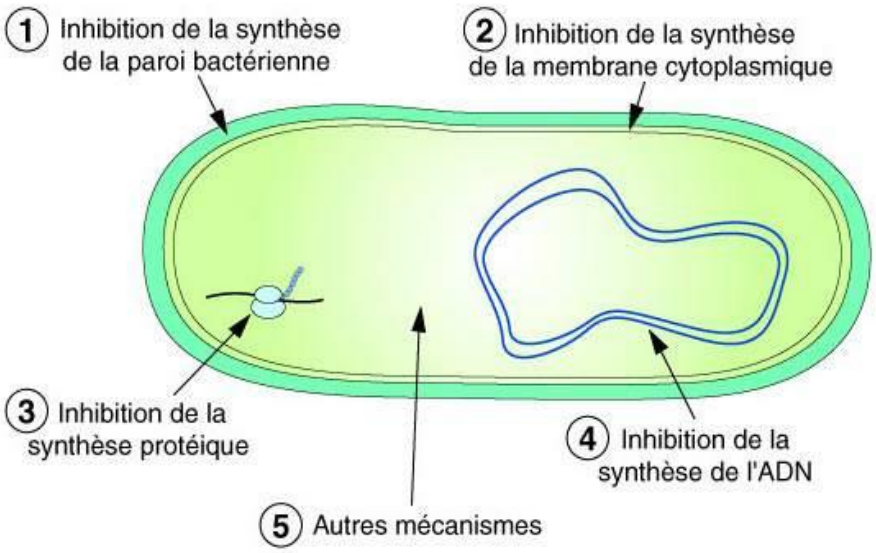


Figure 08 : Les mécanismes d'action (cibles) des antibiotiques **(Vidal, 2023).**

Les grandes familles d'ATB peuvent se faire selon les critères suivants :

- **Leur origine :** naturel ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) ;
- **Leur spectre d'activité**, c'est-à-dire l'ensemble des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) **(SEBBAH, 2010)** ;
- **Les instructions relatives** à l'utilisation des antibiotiques sont intrinsèquement liées à leur spectre d'activité et à leur répartition dans les divers organes ;
- **Leur voie d'utilisation** ;
- **Leur mode d'emploi et leur fréquence ;**
- **Leurs effets indésirables** : L'apparition d'un effet indésirable grave limite l'utilisation ultérieure des médicaments appartenant à la même famille **(Vidal, 2022)**

Le tableau (04) illustre la classification et la dénomination commerciale internationale (DCI) des trois antibiotiques intéressants dans notre étude : **AMOXYPEN ®, GECTAPEN®, CLAMOXYPEN ®** (Amoxicilline +acide clavulanique).

Tableau 04 : La classification des antibiotiques de la famille β-lactame **(ANTIBIO-RESPENSABLE, 2018.)**

		FAMILLE		**DCI**
INHIBITEURS DE LA SYNTHESE DES ENVELOPPES BACTERIENNES	*BETA-LACTAMES*	***PENICILLINES***	Pénicilline du groupe **A**	**Amoxicilline** **Amoxicilline +Acide clavulanique** Ampicilline Ampicilline + Sulbactem
			Pénicilline du groupe **G** et **V**	**Pénicilline G = benzylpénicill-ine sodique**
			Pénicilline du groupe **M**	
			Carboxypénicillines	
			Uréidopénicillines	
			Aminidopénicillines	
			Témocilline	
		CARBAPENICILLINE		
		MONOBACTAME		
		CEPHALOSPORINES		

II.4. Antibiotiques β-lactamines

Les β-lactamines est une famille d'ATB très homogène aux plans structural, pharmacologique et thérapeutique, le caractère structural commun est : le noyau β-lactame est instable en milieu acide, cette instabilité interdit pour certaine utilisation par la voie orale.

Par ailleurs, ce noyau est sensible aux enzymes bactériennes appelées β-lactamases qui sont produites par certaines bactéries résistantes, d'où l'intérêt en thérapeutique d'utiliser des inhibiteurs deβ-lactamases (Acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) pour améliorer l'activité de certainesβ-lactamines sensibles aux β-lactamases. Cette classe d'ATB est la survenue possible d'allergie **(Buxeraud & Faure, 2016)**.

II.4.1. Les principaux groupes deβ-lactames

II.4.1.1. Les pénicillines

A. Historique

- En 1928, à l'hôpital St.Mary's de Londres ,Alexandre Fleming observa au cours d'expériences nécessitant de la culture de staphylocoques au milieu solide en boites de pétri, l'une de ces boites avait accidentellement souillées par un penicillium notatum **(Lespagnol et al., 1977).**

- En 1929, Fleming publie sa découverte et signale les possibilités thérapeutiques et la dénomination d'un principe doué de propriété bactériostatique **(Morin & Gorman, 1977)**.

- En 1932, l'instabilité de produit parut être un obstacle à son usage.

- En 1940, Les premiers essaies in vivo de la pénicilline sue les souris infectés par streptocoques **(Lespagnol et al., 1977)**.

- En 1941, les premiers résultats cliniques furent publiés par Abraham, Chain, Florey etc., à partir de cette époque le développement des pénicillines sont utilisées pour le traitement des nombreuses affections microbiennes, ainsi que les recherches et les découvertes bénéfiques, voir la figure (09) qui présente la structure chimique de la pénicilline **(Lespagnol et al., 1977).**

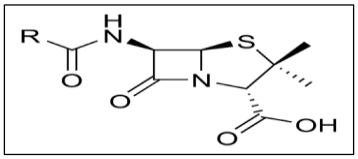


Figure 09 : La structure chimique de la pénicilline **(Moulin & Coquerel, 2002).**

Les pénicillines peuvent être classées en quatre groupes principaux sont :

- **Les pénicillines naturelles sensibles aux pénicillinases** (les plus anciennes), représentées par la **benzylpénicilline** (pénicilline G) et les phénoxyméthyl pénicillines orales (pénicilline V). La benzylpénicilline est administrée par la voie parentérale sous forme d'injection par voie (IM) ou (IV) utilisée dans le traitement des affections à germes Gram positif et quelques Gram négatif. Elle perd leur activée par hydrolyse au niveau du tube digestif ;
- **Les pénicillines du groupe M résistantes aux pénicillinases** ;
- **Les pénicillines du groupe A à spectre élargi** (Aminopénicillines) hémi-synthétiques, leur spectre antibactérien est élargi vers les bactéries à Gram négatif, administrables par la voie orale, elles comprennent l'ampicilline (éventuellement associée au sulbactam) et les analogues de l'ampicilline (amoxicilline éventuellement associée à l'acide clavulanique ;
- **Les pénicillines antipyocyaniques** : Les uréidopénicillines, telles que la combinaison de la pipéracilline avec éventuellement le tazobactam, ainsi que les carboxypénicillines, tellesque la combinaison de la ticarcilline avec éventuellement l'acide clavulanique et la témocilline, sont des types d'antibiotiques ;
- Il existe un adjuvant de la pénicillinothérapie : Le probénécide (Bénémide®), cet inhibiteur de l'excrétion **(Buxeraud & Faure, 2016).**

B. Allergie à la pénicilline

L'allergie à la pénicilline est fréquemment observée parmi les réactions allergiques induites par les médicaments, sous-tendue par un mécanisme immunologique. Bien souvent, il ne s'agit pas de réactions immunoallergiques à l'ATB, mais d'une infection intercurrente ou encore d'effets secondaires pharmacologiques de la molécule. Selon les données établies à partir d'enquêtes menées, principalement en milieu hospitalier, 8 à 10% de la population se déclare allergique à la pénicilline.

Certains facteurs semblent être liés à la présence d'une allergie à la pénicilline, comme l'eczéma, l'asthme et les éruptions cutanées sont les plus fréquemment décrites. La difficulté de l'imputabilité de ces manifestations à l'allergie, en particulier chez les enfants, rend compte de l'incertitude du pourcentage réel de la population atteint d'allergie à la pénicilline **(Branellec et al., 2008).**

II.4.1.2. Les autres β-lactames

Les autres groupes de β-lactames sont synthétisés dans le tableau suivant

Tableau 05 : Les **β-** lactames et leurs caractéristiques **(Buxeraud & Faure, 2016)**.

Autresβ-lactamines	Caractéristiques
Les carbapénèmes	- Inscrits en liste I et soumis à prescription hospitalière - Une stabilité élevée contre l'hydrolyse par les β-lactamases.
Les monobactames	- Monocycliques. - Prescription hospitalière et administré par voie IM ou IV.
Les oxapénames	- L'acide clavulanique est la seule molécule commercialisé (comme inhibiteur de β-lactamase). - Association avec un ATB.Exemple : (Augmentin® : amoxicilline + acide clavulanique) et (Claventin® : ticarcilline + acide clavulanique).
Les céphalosporines	- Stables en milieu acide - Mal résorbées dans le tube digestif - Destinée par voie parentérale. - Leur élimination est rapide - Opérer par voie rénale, voire par métabolisation hépatique dans certains cas.

II.5. Antibiotiques non β-lactamines

Les ATB non β-lactamines sont tous les ATB qui n'ont pas le noyau β-lactame dans sa forme structurale et se sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines ou des acides nucléiques tel que : Les sulfamides ;les aminosides ; les glucopeptides ; les oxazolidinones ; les cyclines ; les aminosides ;les macrolides ; les quinolones ; autres antibiotiques**(Fischbach & Walsh, 2009).**

Chapitre II :

Résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques sont considérés parmi les découvertes les plus importants dans la médecine moderne qu'ont sauvée des millions de vies chaque année, mais leur efficacité est menacée car les bactéries peuvent s'adapter et résister à ces derniers. Ce sont les bactéries, et non les êtres humains ou les animaux, qui deviennent résistantes. C'est donc on parle de **résistance** lorsque les bactéries deviennent insensibles aux antibiotiques **(Veyssiere, 2020).**

Avant la commercialisation de la pénicilline, une pénicillinase bactérienne fut découverte (enzyme clivant et désactivant inhibant l'activité de la pénicilline). Ceci est un exemple de la résistance naturelle que possèdent certaines bactéries à l'encontre des antibiotiques **(Ziai, 2014).**

I.1. Définition de l'antibiorésistance

La résistance est une description de l'insensibilité relative d'un micro-organisme à un traitement particulier. Elle est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses **(Kümmerer, 2009).**

La résistance bactérienne est définie comme la capacité des bactéries à résister aux effets des antibiotiques ou des biocides censés les contrôler ou les tuer **(Ziai, 2014).** D'un point de vue bactériologique, cette souche bactérienne se distingue par sa capacité à survivre et à se multiplier malgré la présence d'une concentration d'antibiotique qui inhibe normalement la croissance de la plupart des autres souches de la même espèce **(Acar et al 1989)**.

Ce phénomène de résistance est dû à plusieurs facteurs tels que l'utilisation sous-optimale des antibiotiques au cours des traitements **(Bouyahya et al., 2017),** les facteurs épidémiologiques d'antibiotiques, caractéristiques des patients, origine du les souches et la situation **(Odonkor & Kennedy K, 2012)** géographique font partie des facteurs contribuant à des taux de résistance très variables **(Odonkor& Kennedy K, 2012)**.

I.2. Les types de la résistance bactérienne

La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être classée en deux types essentiels, la résistance naturelle et la résistance acquise.

I.2.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle existe naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne **(Bouyahya et al., 2017)** . Elle est programmée sur le génome bactérien donc est constante à l'intérieur du taxon **(Ros, 1999),** comme la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la pénicilline G **(Bouyahya et al., 2017)** et *K. pneumoniae* résistant aux pénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une β-lactamase de classe A **(Veyssiere, 2020).**

II.2.2. La résistance acquise

La résistance acquise existe chez certaine souche de la même espèce bactérienne ou du même genre naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes qui nécessite des mutations ou des transferts de gènes résistant d'une bactérie résistante vers une bactérie sensible, via un élément mobile (plasmide ou transposons) **(Veyssiere, 2020)**.

En génétique, il existe deux voies distinctes pour acquérir une résistance, soit des mutations dans le génome, on parlera alors de transmission verticale à la descendance **(Courvalin, 2008)** faisant référence à l'hérédité (FAUCHER, 2018), soit l'acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries, par transfert horizontal**.** Ce phénomène de résistance aux agents chimio-thérapeutiques, apparaît à la suite de mutations et par un transfert génétique d'une bactérie a une autre **(Courvalin, 2008).**

A. La résistance par mutations

Les mutations c'est la conséquence d'altérations au niveau de l'ADN existant ou d'erreurs survenant au cours du processus de réplication, se produisent naturellement au sein de tout organisme vivant. Face à ces mutations, aux effets souvent délétères sur la survie d'une cellule individuelle, les bactéries ont été contraintes de développer des mécanismes de correction et de réparation de l'ADN. Cependant, ces systèmes ne sont pas non plus à l'abri des mutations, créant ainsi des bactéries dites « super mutantes », dotées de capacité d'adaptation plus élevées lorsqu'elles sont confrontées à un environnement hostile tel que le contact avec d'antibiotiques (**Muylaert & Mainil, 2012)**.

B. La résistance par transfert génétique

La résistance par transfert génétique s'explique par l'acquisition d'ADN étranger permettant à une cellule (receveuse) d'acquérir du matériel génétique provenant d'une autre cellule (donneuse), sans en être le descendant direct tel que le transfert de gêne horizontal (HGT). Les transferts horizontaux de gènes ont été identifiés au sein des 3 grands domaines du vivant, les procaryotes, les archées et les eucaryotes **(FAUCHER, 2018).**

I.3. Les mécanismes de résistance

Plusieurs mécanismes ont évolué chez les bactéries, ce qui leur confère une résistance aux antibiotiques. Ces mécanismes se subdivisent en deux catégories : les mécanismes enzymatiques et les mécanismes non enzymatiques.

Les mécanismes de résistance peuvent être isolés ou associés entre eux. Leur importance respective varie en fonction de la structure de la paroi bactérienne **(Cavallo et al., 2004).**

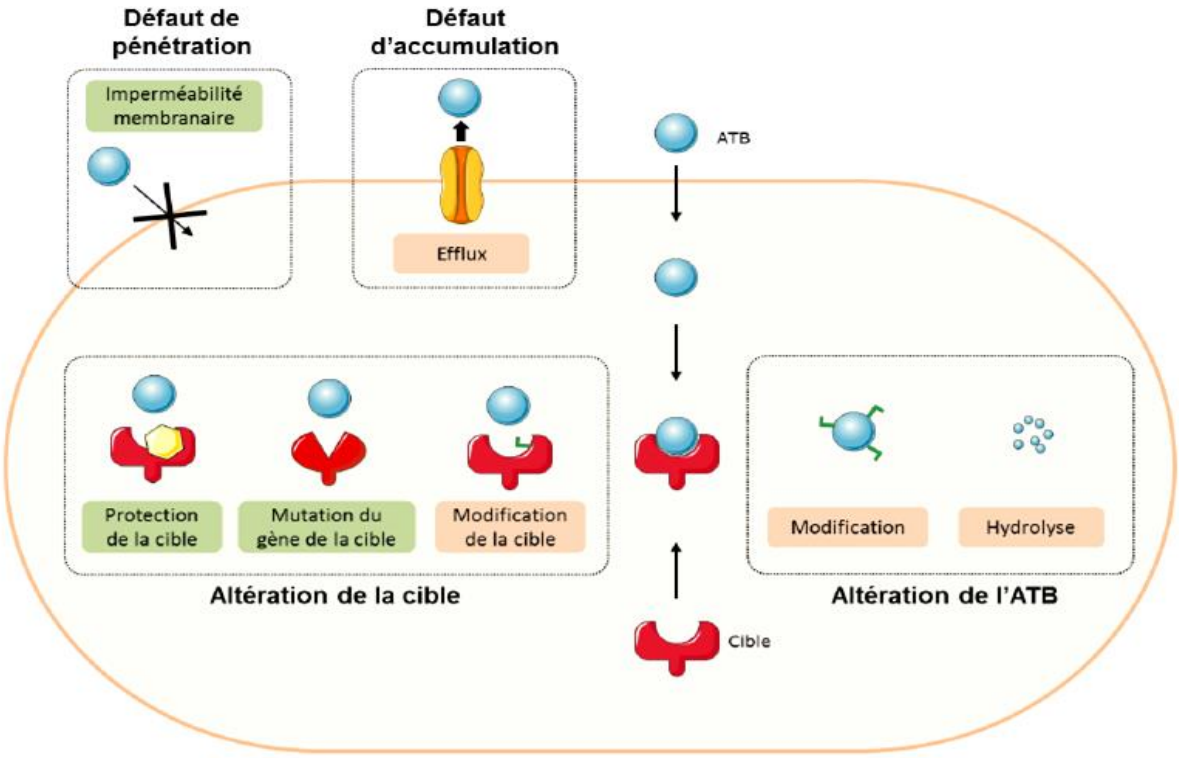


Figure 10 : Mécanismes de résistance enzymatiques et non enzymatiques aux antibiotiques **(FAUCHER, 2018).**

I.3.1. Mécanismes non enzymatiques

Les mécanismes non enzymatiques sont les mécanismes qui fonctionnent sans l'intervention d'enzyme, utilisant :

- **L'imperméabilité**, notamment par la diminution du diamètre des porines (pores au niveau de la membrane externe) chez les bacilles à Gram négatif**(Cavallo et al., 2004)** ;**(Aksu & Tunç, 2005).**
- **L'efflux des antibiotiques** est l'excrétion du médicament par activation de pompes à efflux (transporteurs), ces protéines participent à l'homéostasie cellulaire. Il s'agit d'un mécanisme de résistance particulièrement important chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp* **(Bador, 2013) ;(González-bello, 2017).**
- **L'altération de la cible de l'ATB** qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière **(Courvalin, 2008)** peut être due à des **mutations de gène de la cible** mutations dans le gène correspondant à la protéine ou à l'ARN cible, elle peut aussi provenir de l'ajout de groupements chimiques, comme des méthylations pour les macrolides**(Leclercq & Courvalin, 1991)**, à des **modifications de la cible,** ces modifications entrainent un changement de structure 3D de la cible qui empêche l'action des ATB et peut être aussi due à une **protection de la cible,** une protéine bactérienne peut aussi se fixer sur la cible de l'ATB pour la protéger, c'est le cas de la protéine Têt(M) qui se fixe au ribosome pour empêcher la fixation des tétracyclines **(FAUCHER, 2018).**

I.3.2. Mécanismes enzymatiques

Le mécanisme enzymatique est un processus présent chez le micro-organisme par la production d'une enzyme qui dégrade ou inactive l'antibiotique. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe ou constant **(Carle, 2009)**.

Les ß-lactamases sont des enzymes produites par les bactéries et transmises par des chromosomes ou des plasmides, qui hydrolysent les β-lactamines. D'autres enzymes peuvent ajouter des groupements chimiques à l'ATB (modification de l'ATB), comme des acétyltransférases et des phospho-transférases pour les amino-glycosides **(FAUCHER, 2018).**

Les bêta-lactamases constituent le mécanisme de résistance le plus courant et particulièrement importantes chez les Gram négatif, tels que les entérocoques qui sont les pathogènes les plus susceptibles de produire des ß-lactamases transmises par des plasmides et d'hydrolyser les pénicillines ou les céphalosporines**(Carle, 2009)(Wilke et al., 200**5) **; (Chemelle et al., 2013).** Les bacilles à gram négatif (BGN), en particulier les entérobactéries, produisent une grande variété de ß-lactamases, ainsi que les bactéries à gram positif, comme le Staphylococcus aureus **(Carle, 2009)**.

I.4. La surveillance d'antibiorésistance

D'après une étude publiée dans la revue scientifique américaine "PNAS" sous le titre "Augmentation mondiale et convergence géographique de la consommation d'antibiotiques de 2000 à 2015", il a été constaté que l'Algérie se classe au cinquième rang mondial en termes de consommation d'ATB, suivant la Turquie, la Tunisie, l'Espagne et la Grèce.

Le rapport mentionne que la consommation d'ATB en Algérie s'élève à environ 38 doses déterminées par jour pour 1 000 habitants **(Reporters Algérie 2018).**

Un premier rapport publié en 2014 par l'OMS sur l'implication essentiellement de sept bactéries différentes, responsables de maladies graves courantes telles que les infections hématologiques (septicémie), les diarrhées, les pneumonies, les infections des voies urinaires et la gonorrhée.

Pour cela, un plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, a été approuvé par l'OMS en mai 2015 et dont les objectifs sont notamment d'améliorer la sensibilisation et la compréhension du phénomène de résistance aux antimicrobiens ; le renforcement de la surveillance et la recherche, de réduire l'incidence des infections **(SEBBAH, 2010).**

II.1. L'antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode in vitro permettant d'évaluer la sensibilité d'un microorganisme à un ou plusieurs ATB. Ce test est réalisé en utilisant la technique de diffusion sur des milieux gélosés, où des disques contenant des ATB sont placés. De plus en plus fréquemment, cette technique est également réalisée en milieu liquide à l'aide d'automates (par exemple le Système Vitek 2, Bio Mérieux) **(Veyssiere, 2020)** .

L'objectif de l'antibiogramme est d'assister le clinicien dans la sélection d'un ATB approprié pour le traitement d'une infection bactérienne. Il permet également d'exploiter les données pour surveiller les résistances bactériennes aux ATB et de prédire la sensibilité d'un microorganisme à un ou plusieurs antibiotiques connus, dans une perspective principalement thérapeutique **(Ziai, 2014)**.

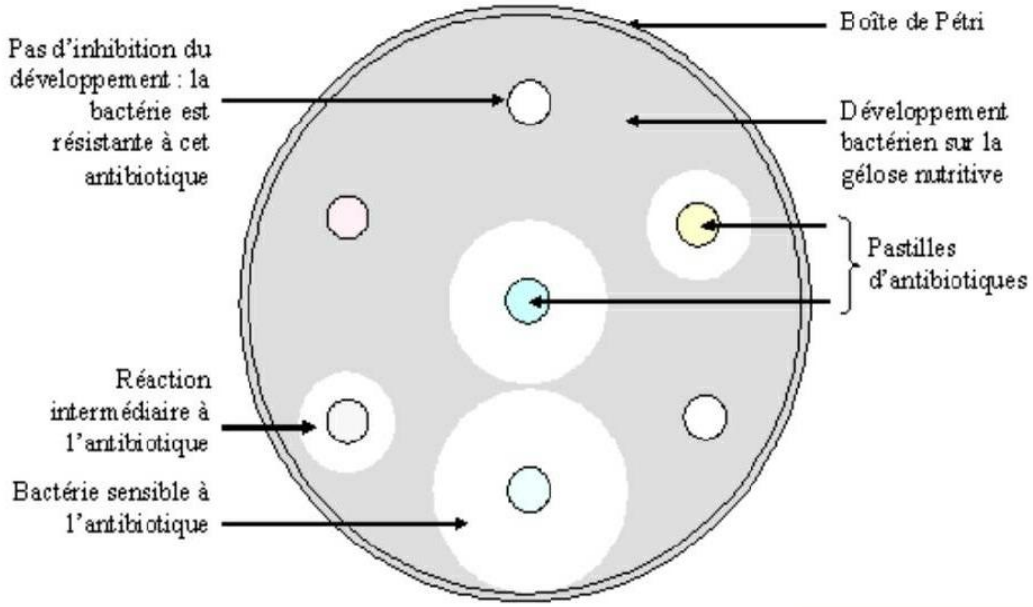


Figure 11 : Schéma représentant un antibiogramme (**Haute garonne.gouv, Visite sanitaire, 2019**)

II.1.1. Activité des antibiotiques

La détermination de la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques est réalisée par l'antibiogramme qui évalue l'inhibition de la croissance bactérienne par détermination du niveau de résistance, le niveau de résistance d'une espèce bactérienne pour un ATB donné s'évalue par la mesure de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) **(FAUCHER, 2018).**

II.1.1.1. Mesures de base de l'activité antibiotique

A- La CMI

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration d'ATB qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne après 20 ± 4 heures de culture à 35°C ± 2°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un ATB et permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'ATB testé **(Veyssiere, 2020).**

- Une souche dite **sensible** se compose de bactéries pour lesquelles la probabilité d'un succès thérapeutique est élevée lors d'un traitement systémique à une posologie habituelle recommandée.
- Une souche dite **résistante** se compose de bactéries pour lesquelles la probabilité d'un succès thérapeutique est nul quel que soit le mode d'administration et le schéma posologique utilisé.
- Une souche dite **intermédiaire**, situé entre les deux catégories précédemment décrites, se compose des bactéries pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible **(Muylaert & Mainil, 2012).**

B- La CMB

La CMB ou concentration minimale bactéricide est la plus petite concentration d'ATBlaissant 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 20 ± 4 heures de culture à 35°C ± 2°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un ATB **(Veyssiere, 2020).**

On considère que si la CMB est ≤ à 4 CMI l'antibiotique est bactéricide et donc très efficace et au contraire si la CMB > à 10 CMI, on le considère comme peu efficace, donc bactériostatique **(Veyssiere, 2020)**.

On considère si la CMB est > à 20 CMI l'antibiotique est non efficace, donc on considère que la souche est résistante **(Avril et al., 2000).**

II.2. Les antibiotiques pénicilliques et la résistance

Notre étude repose sur l'utilisation de trois types d'ATB injectables de la famille des pénicillines et leurs efficacités contre le germe résistant. Les dénominations commerciales internationales DCI des ATB antibiotiques et leurs spectres d'action sont résumés sur le tableau ci-dessous (06).

Tableau 06 : Les antibiotiques pénicilliques - DCI, spectre d'action **(SEBBAH, 2010)**

Les antibiotiques	DCI	Spectre d'activité
AMOXYPEN®	**Amoxicilline**	-Entérobactéries : Neisseria méningitidis, humophilus influenza B sensible (penicillinase) -Inactifs sur pseudomonas et actinetobacter Sterptocoques A,C, G
GECTAPEN®	**Pénicilline G**	-Cocci gram + : Streptocoques – pneumocoque -Cocci gram - : Neisseria (méningocoque -Bacilles gram +:corynebacterium diphteriae, bacillus anthracis, Listeria monocytogenes, Anaérobies …
CLAMOXYPEN®	**Amoxicilline +acide clavulanique**	-Action d'amoxicilline + inhibiteur de pénicillinase

Les β-lactamines agissent en se liant aux protéines de liaison à la pénicilline qui inhibent un processus appelé transpeptidation (le processus de réticulation dans la synthèse de la paroi cellulaire), conduisant à l'activation des enzymes autolytiques dans la paroi cellulaire bactérienne. Ce processus conduit à la lyse de la paroi cellulaire, détruisant ainsi la cellule bactérienne. Ce type d'activité est appelé destruction bactéricide **(Akhavan et al., 2021).**

II.2.1. Amoxicilline sodique stérile (AMOXYPEN®)

L'amoxicilline est une pénicilline semi-synthétique qui est active in vitro contre les cocci à Gram positif et la plupart des isolats de Proteus mirabilis et Escherichia coli. Son activité in vitro est assez similaire à l'ampicilline (**Bodey& Nance, 1972**)**.** Il s'est avéré efficace contre un large éventail d'infections causées par un large éventail de bactéries Gram positives et Gram négatives chez les humains et les animaux **(Kaur et al., 2011).**

L'Amoxicilline **injectable** utilisée par voie veineuse a été parfaitement tolérée, tant sur le plan local que sur le plan général par tous les malades **(Michel et al., 1984)**. Les germes qui a traité par l'amoxicilline injectables : Pneumocoque, Streptocoque non hémolytique, Escherichia *coli*, Proteus *morgane Hemophilus*, Enterobacterlique fasciens **(Michel et al., 1984).**



Figure 12 : Présentation de l'antibiotique injectable AMOXYPEN® **(Photo originale)**

II.2.2. Pénicilline G sodique stérile (GECTAPEN®)

C'est un ATB de synthèse naturelle produite par Penicillium chrysogenum par fermentation **(Ball et al., 1975).** La première pénicilline isolée, il est encore largement utilisé. Il doit être administré par voie parentérale cependant, puis qu'il est labile aux acides et qu'il sera détruit par l'acidité de l'estomac **(Sköld, 2011).**

Lorsque de très fortes doses sont employées, la voie intraveineuse doit être utilisée et les sels de potassium et de sodium de la pénicilline doivent être alternés ou mélangés pour tenter de prévenir la neurotoxicité **(Ball et al., 1975).**

La pénicilline G est généralement efficace contre *Bacillus anthracis, Clostridia, Corynebacterium diphtheriae, Listeria monocytogenes* et le champignon *Actinomyces israelii, Treponema pallidum*, l'agent causal de la syphilis, reste sensible à la pénicilline **(Ball et al., 1975).**



Figure 13 : Présentation de l'antibiotique injectable GECTAPEN® **(Photo originale)**

II.2.3. Amoxicilline + Acide clavulanique (CLAMOXYPEN®)

Après l'apparition de résistance d'amoxicilline les chercheurs ont commencé à retrouver des solutions pour inhiber cette résistance, l'un de ces inhibiteurs c'est l'**acide clavulanique**.

L'acide clavulanique est un métabolite trouvé dans les cultures de *Streptomyces clavuligerus,* il a été isolé au début des années 1970 grâce à un programme de criblage de produits naturels conçu pour découvrir des inhibiteurs potentiels des β-lactamases. L'acide clavulanique était le premier inhibiteur de β-lactamase cliniquement utile est un inhibiteur « suicide » irréversible des β-lactamases extracellulaires, démontrant une concentration dépendante et l'inhibition compétitive. Il a une grande affinité pour la classe A β-lactamases **(Finlay et al., 2003).**

Cette large gamme de β-lactamases, qui comprend les enzymes TEM et SHV à médiation plasmodique, se trouve fréquemment dans les membres des *Enterobacteriaceae, Haemophilus influenzae* et *Neisseriagonorrhoeae***.** L'acide clavulanique est un moyen d'améliorer l'activité des antimicrobiens β-lactamines contre les bactéries pathogènes, que la β-lactamase soit ou non produite la liaison complémentaire aux PBP pourrait bien être une explication l'augmentation de l'activité antimicrobienne observée avec le clavulanate. L'association de clavulanate à l'amoxicilline augmente à la fois l'effet d'activité bactéricide et améliore la défense de l'hôte en augmentant le taux de l'absorption par les PMN et le taux de destruction intracellulaire **(Finlay et al., 2003).**



Figure 14 : Présentation de l'antibiotique injectable CLAMOXPEN® **(Photo originale)**

III. Les agents biocides

Les progrès considérables de la santé des populations humaines au cours du 20 ème siècle ont été largement dus au développement et à la mise sur le marché de composés « biocides » (médicaments et pesticides).

III.1. Définition des agents biocides

Le terme «biocide » (bios=vie et cido=tuer)**(McDonnell & Russell, 1999).**

Ce sont des substances ou des préparations destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes jugés nuisibles : champignons, bactéries, virus, rongeurs, insectes…etc. L'action du produit peut être chimique ou biologique comme par exemple l'utilisation de microorganismes bénéfiques. Ces produits ont des utilisations variées, tant dans le domaine domestique que professionnel ou industriel. Il convient également de mentionner d'autres classifications, telles que la catégorie "statique" qui fait référence aux agents qui inhibent la croissance des microorganismes (bactériostatiques, fongistatiques et sporistatiques), ainsi que la catégorie "cide" qui désigne les agents qui ciblent spécifiquement les microorganismes en les éliminant (par exemple, sporicides, virucides et bactéricides) **(McDonnell & Russell, 1999).** Il existe 22 types de produits (TP) biocides répartis en 04 groupes.

Tableau 07 : Les divers groupes et types des agents biocides

Types	Groupes
Les désinfectants	**Humaine ou animale, désinfection des surfaces, de l'eau potable…**
Les produits conservateurs	**Conservateurs, produits de protection du bois, des matériaux de construction…**
Les produites de lutte contre les nuisibles	**Rodenticides, insecticides, répulsifs…**
Les autres produits biocides	**Fluides utilisés pour l'embaumement, produits antisalissures**

III.2. Notion d'antibiotique, antiseptique et désinfectant

Sous le terme d'agent antibactérien sont regroupées différentes molécules dont biologique, semi synthétique ou de synthèse **(Block, 2001)**.

Généralement les antiseptiques et les désinfectants ont un plus large spectre d'activité que les antibiotiques **(McDonnell & Russell, 1999)**.

Il est clair que les antibiotiques soient généralement très sélectifs pour le micro-organisme contre laquelle ils sont employés. Cela n'est pas valable pour les biocides qui généralement attaquent la plupart des micro-organismes **(Russell, 2003)**.

Les ATB sont employés principalement pour le traitement des infections bactériennes chez l'homme et les animaux, tandis que des antiseptiques et des désinfectants sont utilisés pour leurs propriétés antiseptiques, désinfectantes et/ou préservatives **(Russell, 2002).**

Les ATB peuvent être sélectivement toxiques, tandis que les ATB et les désinfectants peuvent avoir des effets nocifs sur les bactéries et les cellules humaines et l'application des antiseptiques à la peau humaine devraient être à des concentrations qui sont non toxiques **(Russell et al., 1999).** Les biocides ont des activités contre les microorganismes dépend l'efficacité, la toxicité et l'application, ces points sont résumés sur le tableau (08).

Tableau 08 : Les biocides – cibles, efficacité et toxicité et leur application

Biocides	Activité	Efficacité et toxicité	Application
Antibiotiques	- Empêchent ou détruisent les bactéries sélectives, contribuant ainsi à guérir l'infection **(McDonnell & Russell, 1999)**	- Généralement en basses concentrations **(McDonnell & Russell, 1999)**	- À usage humain - À usage vétérinaire - Eaux usées **(Pan & Chu, 2017)**.
Antiseptiques	- Détruisent ou empêchent la croissance des micro-organismes sur le **tissu vivant (Kahrs, 1995).** - Ils présentent une activité antibactérienne, antifongique, antivirale.	- Sont des antimicrobiens de surface les moins puissants, les moins concentrés et les moins toxiques **(Kahrs, 1995).**	Dans : - Domaine médical : pour le traitement des plaies et des muqueuses et la préparation de la peau avant une intervention chirurgicale, bruleurs et d'autres problèmes de peau) - L'industrie alimentaire (les surfaces de travail, les équipements …) - L'industrie cosmétique - L'hygiène personnelle - Les soins dentaires **(Kahrs, 1995)**
Désinfectants	- Détruisent les microorganismes tel que la bactérie, les virus, les champignons et les parasites ou empêchent leurs transmissions sur les **surfaces** (sol, poignes.)	-Sont généralement plus concentrés et peuvent être plus toxiques car ils sont destinés à être utilisés sur des surfaces plutôt que sur la peau ou les muqueuses**(Maillard, 2005)**.	Dans : -les hôpitaux et les établissements de santé - les industries alimentaires - les espaces publics - les maisons et les établissements résidentiels - l'industrie pharmaceutique**(Martin & Gouin, 2000)**.

Remarque : La concentration d'un biocide dans un produit est d'une importance primordiale pour son activité antimicrobienne, bien qu'il faut un équilibre entre l'efficacité et la toxicité **(Maillard, 2005)**.

III.3. Les facteurs influençant

Un arrangement des facteurs affectant l'activité antimicrobienne est essentiel pour s'assurer qu'un biocide est employé correctement, une partie liée au biocide, certains aux micro-organismes **(Maillard, 2005)**.

A. Les facteurs liés au biocide

• **La concentration d'un biocide :** Le facteur qui a probablement le plus grand impact sur l'activité antimicrobienne est le pourcentage de concentration. Un faible pourcentage de concentration peut entraîner la survie des micro-organismes sur les surfaces ainsi que dans les produits, ce qui peut conduire à des infections ou à une détérioration. La survie bactérienne est souvent liée à une utilisation inappropriée, comme une diminution de la concentration active des ammoniums quaternaires ou l'incorporation de faibles concentrations dans des dispositifs médicaux tels que des cathéters **(Maillard, 2005).**

• **Temps de contact** : Est également essentiel, les essais standards d'efficacité recommandent souvent un temps minimal de contact, tel que 1 minute pour l'essai d'hygiénique des mains ou 15minute pour l'essai des désinfectants et des antiseptiques, La diminution de la durée d'exposition est souvent associée à une diminution l'activité **(Maillard, 2005)**.

• **Charge organique** : Les substances interférentes (salissures, pus, sang, sérosité, selles ...) peuvent entrainer une diminution de l'activité des antiseptiques ; cela particulièrement important vis-à-vis des oxydants, et plus particulièrement des halogénés **(Maillard, 2005)**.

• **L'utilisation concourante** : Ce sont essentiellement les phénomènes d'antagonisme et de potentialisation rencontrés lors de l'utilisation de divers antiseptiques **(Martin et Gouin, 2000)**.

• **Température** : Il est important comprendre l'effet de la température sur l'activité de biocide dans des situations spécifiques, par exemple, où efficacité biocide se fonde sur une combinaison d'inactivation chimique et de la température élevée, ou quand une formulation contenant préservateur est stocké à une basse température **(Maillard, 2005)**.

• **pH** Il doit de noter qu'un changement de pH peut modifier l'ionisation de biocide et par conséquent, son activité, la croissance des micro-organismes, et sa charge globale de surface, par exemple, l'augmentation du pH améliore l'activité des biocides cationiques **(Maillard, 2005).**

B. Les facteurs liés à la cellule

• **Présence de biofilm :** sont des cellules difficiles à éradiquer, susceptible d'être présent sur certaines surfaces **(Maillard, 2005)**.

• **Type de micro-organismes** : aura une incidence sur le choix de l'agent à utiliser, parmi les micro-organismes les plus résistants à l'exposition de biocide sont les spores bactériennes, suivies des micro-organismes de mycobactéries, gram négatifs (*pseudomonas aeruginosa*) **(Maillard, 2005)**.

• **La taille de la population**, du fait qu'une fraction égale d'une population microbienne tuée pendant chaque intervalle. Il faut plus longtemps pour détruire une population importante, que pour une population plus petite **(Prescott et al., 2003)**.

III.4. Notion d'Ethanol, Isopropanol, Eau oxygénée et eau de javel

Il s'agit de comprendre les caractéristiques et les utilisations de différents produits biocides tels que l'isopropanol, l'éthanol, l'eau oxygénée et l'eau de Javel.

Tableau 09 : Les structures chimiques et l'action des produits biocides **(McDonnell & Russell, 1999);(Prescott et al., 2003).**

Produits biocides	Structure chimique	Action
Isopropanol	**CH3-CHOH-CH3**	**Antisepsie Désinfection Préservation**
Éthanol	**CH3-CH2-OH**	**Antisepsie**
Eau oxygénée	**H-O-O-H**	**Désinfection Stérilisation**
Hypochlorite de sodium	**Na+ - OCl-**	**Désinfection**

A. Isopropanol (C_3H_8O)

L'Isopropanol ou alcool isopropylique est un **désinfectant** très souvent employé dans le milieu médical, l'alcool est principalement utilisé pour désinfecter la peau et les plaies. Il permet également de nettoyer les instruments médicaux et chirurgicaux propre permet d'éliminer les organismes pathogènes présents. Il démontre une efficacité remarquable contre une multitude de micro-organismes, englobant les virus enveloppés, les bactéries et les champignons, cet alcool agit par dissolution de la membrane lipidique des micro-organismes en dénaturant leurs protéines. Selon son dosage, l'alcool médical aura différentes fonctions, depuis le nettoyage de la peau saine pour les plus dilués, à la désinfection du matériel médical pour les plus concentrés. Son utilisation courante en tant que désinfectant implique généralement une concentration variant de 70 % à 99% **(Luther et al., 2015).**

B. L'éthanol (C_2H_5OH)

L'éthanol ou alcool éthylique est un **antiseptique** couramment utilisé dans les hôpitaux, les laboratoires et les pharmacies. Il présente une efficacité avérée contre divers micro-organismes, englobant les virus enveloppés, les bactéries et les champignons. Il est souvent utilisé pour nettoyer les surfaces et les instruments médicaux avant leur utilisation. Il est couramment utilisé à une concentration de 70% à 80% pour un usage comme désinfectant **(Eickmann, 2014).**

C. L'eau oxygénée (H_2O_2)

Eau oxygénée ou peroxyde d'hydrogène est un désinfectant et un antiseptique qui est souvent utilisé pour nettoyer les plaies et les blessures. Elle est efficace contre les bactéries, les virus et les champignons. Elle peut aussi être utilisée pour désinfecter les surfaces et les instruments médicaux. La concentration courante pour un usage domestique est de 3%, tandis que pour les utilisations industrielles ou médicales, elle varie de 10% à 35% **(Eickmann, 2014).**

D. L'eau de javel (NaClO)

L'hypochlorite de sodium, communément appelé eau de javel, est un produit chimique largement utilisé qui demeure parmi les désinfectants les plus efficaces contre les infections bactériennes et virales **(Durliat, 1997)**, son origine remonte à 1788 **(Dorveaux, 2015)**, son utilisation courante consiste à désinfecter diverses surfaces. Cependant, il convient de noter que son application sur la peau et les yeux peut engendre une irritation, ce qui requiert une manipulation précautionneuse. La concentration de l'eau de javel couramment utilisée est de 5,25% pour un usage domestique. Les concentrations industrielles ou médicales peuvent varier de 10% à 25% **(Durliat, 1997)**.

Partie Expérimentale

Matériels et méthodes

L'intégralité de notre travail a été réalisée au laboratoire de Microbiologie et bâtiment ''A'' de la production pénicillique au site de production SAIDAL de MEDEA (**Annexe 01**), durant la période (31 Janvier-23Février) de l'année universitaire 2022/2023.

Le but est d'étudier le profil de la résistance de quelques souches bactériennes isolées de la zone à atmosphère contrôlé (ZAC) aux ATB injectables (Amoxypen®, Clamoxy®, Gectapen®), et d'étudier l'effet des agents biocides qui sont utilisé pour éradiquer les bactéries contaminantes.

I. Matériel

I.1. Équipement, matériels et systèmes

- ✓ Autoclave (Clsa®)
- ✓ Anse de platine
- ✓ Balance (GIBERTINI®)
- ✓ Balance analytique (Sartorius®)
- ✓ Bec Bunsen
- ✓ Boites de pétries stériles
- ✓ Bicher
- ✓ Bio-collecteur (MAS-100NT®)
- ✓ Cassette pour le transport des échantillons
- ✓ Disques vierges
- ✓ Entonnoir
- ✓ Ecouvillon stérile
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ Fiole jaugée
- ✓ Flacon en verre
- ✓ Hôte biologique
- ✓ Incubateur
- ✓ Lames, lamelles
- ✓ Lecteur des zones d'inhibitions
- ✓ Micropipette 100-1000 µl (ISOLAB®)
- ✓ Microscope optique (OLYMPUS®)
- ✓ Milieu Soja agar (TSA)
- ✓ Portoir
- ✓ Pinces
- ✓ Pipettes graduées stériles
- ✓ Réfrigérateur
- ✓ Spatule
- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ Vortex (Heidolph REAX 2000®), voir **l'annexe (02)** qui présente l'équipement, matériels et systèmes utilisés.

I.2. Réactifs pour l'identification bactérienne

- ✓ Eau physiologique stérile (NaCl 9‰)
- ✓ Eau distillée stérile
- ✓ Galeries biochimiques API 20E
- ✓ Galeries biochimiques API STAPH
- ✓ Réactifs de Vogues Proskauer 1 et 2 (VP1 et VP2)
- ✓ Réactifs de nitrate réductase I et II (NR I et NRII)
- ✓ Réactif de TDA
- ✓ Poudre de zinc
- ✓ Réactifs ZYM A et ZYM B
- ✓ Réactif de Kovac's
- ✓ Violet de Gentiane
- ✓ Lugol
- ✓ Alcool 90˚
- ✓ Fushine
- ✓ Huile de paraffine

Voir **l'annexe (02)** qui présente les réactifs et solutions utilisés.

I.3. Echantillons

Afin d'obtenir des souches bactériennes capables de résister aux antibiotiques de la famille des β-lactamines, des échantillons ont été prélevés à partir de la zone à atmosphère contrôlée (ZAC) du bâtiment "A" dédié à la production des produits injectables pénicilliques.

Les prélèvements doivent obligatoirement être accompagnés d'un bulletin de contrôle microbiologique de l'air qui comporte les informations suivantes, voir l**'annexe (03).**

- Date de prélèvement

- Nom de produit

- Numéro de lot

- Contrôle effectué avant/pendant la production

- Heure de contrôle

- Nombre de personne présente dans la salle

- Points de prélèvement : doseuse ; embouchonneuse ; table tournante ; centre de ligne ; centre de la salle ; pré stérile ; salle autoclave ; étagères ; Salle VRAC.

II. Méthodes

II.1. Collection des germes dans la ZAC

La collection des germes est une étape essentielle et délicate, définie par la pharmacopée européenne comme une série d'opérations visant à sélectionner une fraction spécifique d'une substance pharmaceutique. Nos échantillons sont prélevés par un échantillonneur qualifié, conformément aux procédures internes de SAIDAL, et plusieurs prélèvements de l'air sont effectués dans la zone à atmosphère contrôlée (ZAC), puis sont transférés au laboratoire d'analyse, dans des conditions favorables (conditions stériles et à température ambiante) pour être incubés dans l'étuve à 37°C pendant 24h. La collection des germes dans le bâtiment "A" est réalisée selon la méthode de biotest par le bio-collecteur. Cette méthode est utilisée pendant la production de l'Amoxypen®, du Clamoxypen® et du Gectapen®.

BIO-TEST : est un test qui vise à évaluer la stérilité et l'absence totale de contaminants dans l'air. Le contrôle se fait par deux méthodes selon la pharmacopée, méthode des boites de Pétri est l'ancienne méthode, ce test consistait à mettre un milieu de culture en contact avec l'air de la ZAC sur des points critiques, puis à le laisser incuber pendant au moins 4 heures.

Méthode de l'appareil Bio-collecteur, en laissant celui-ci en place pendant 10 minutes à chaque point critique de la zone à atmosphère contrôlée (ZAC). Le Bio-collecteur crée un flux d'air contrôlé à travers un filtre stérile, permettant ainsi de capturer les particules aéroportées. Une fois les échantillons collectés, les boîtes de Petri contenant les milieux de culture (TSA) sont soigneusement transférées au laboratoire dans des conditions favorables.

Puis, ce milieu est mis à incuber dans l'incubateur à 37 °C, ce contrôle permet la recherche des germes aérobies, anaérobies et des champignons filamenteux. Il est réalisé dans chaque production d'un nouveau lot **(Maia et al., 2008).**

II.2. Purifications des germes collectés

La purification des souches bactériennes a été effectuée par repiquage successif à la surface de milieu TSA (voir la composition dans l'**annexe 04**) par la méthode des stries serrées. Les boites ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24h. L'opération a été renouvelée en prenant chaque fois au hasard une colonie isolée, jusqu'à l'obtention des souches pures ayant des caractéristiques homogènes (aspect, couleur…).

II.3. Etude macroscopique

Après obtention des cultures bactériennes pures, l'identification préliminaire de ces dernières était basée sur l'aspect macroscopique des colonies vues à l'œil nu, selon les critères suivants : la forme des colonies (bombée, semi bombée, plate), l'opacité, le contour, la consistance, la taille, la pigmentation, la transparence (opaque, translucide), l'allure des contours (réguliers, irréguliers) et l'aspect de la surface (lisse ou rugueuse).

II.4. Conservation

Après isolement et purification des isolats bactériens collectés de la ZAC nous les avons conservés dans des boites de pétri contenant le milieu TSA. Après incubation à 37°C, les boites ont été placées dans un réfrigérateur à 4°C.

II.5. Identification bactérienne

II.5.1. État frais

L'état frais est une méthode de préparation où une goutte du liquide biologique est déposée entre une lame et une lamelle. Cette approche est extrêmement précieuse pour l'observation des microorganismes dans leur état naturel, fournissant des informations importantes sur leur morphologie et leur dynamique. Au microscope, en utilisant un objectif x100, on recherche la présence éventuelle de différents types de bactéries tels que des coques, des diplocoques, des coccobacilles, des bacilles, ainsi que des levures **(Hayette et al., 2010)**.

II.5.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration différentielle, qui permet de distinguer et de classifier les bactéries en Gram + (colorées en violet) ou en Gram - (colorées en rose). Après la préparation du frottis, il a été recouvert de violet de gentiane et laissé pendant une minute. L'eau a été ajoutée pour éliminer l'excès du colorant en veillant à ne pas détacher le frottis. Après, ce dernier a été recouvert de quelques gouttes de Lugol pendant 30s, puis rincé à l'eau. L'alcool a été ensuite ajouté au frottis goutte à goutte jusqu'à ce que le violet de gentiane disparaisse. Enfin, la Fuschine a été ajoutée puis laissée pendant 1 min. La lame a été ensuite rincée à l'eau et séchée à l'air. Après avoir recouvert le frottis par l'huile à immersion, l'objectif X100 a été choisi pour effectuer les observations (gram, spore, forme…)**(Béraud, 2014).**

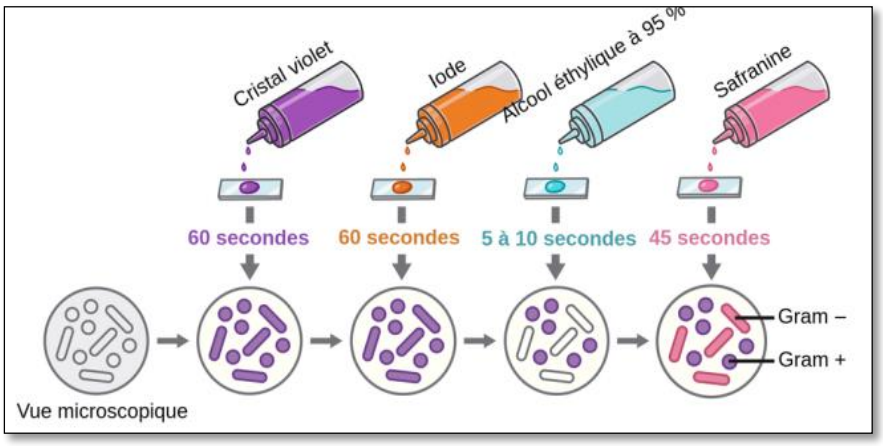


Figure 15 : Les étapes de la coloration de Gram **(LABSTER THEORY 2021)**

II.5.3. Tests biochimiques

II.5.3.1. Tests d'orientation

Il est possible d'identifier les bactéries selon des caractères biochimiques liés à la production d'enzymes spécifiques de l'espèce.

- ***Recherche de la catalase*** : La catalase est une enzyme possédant la faculté de décomposer le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène **(Hayette et al., 2010)**. Ce test consiste à déposer sur une lame propre une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie. La décomposition de l'eau oxygénée se traduit par un dégagement de bulles de gaz O2 (catalase positive +) selon la réaction suivante :

$$H_2O_2\ (aq) - (catalase) \longrightarrow H2O\ (l) + ½\ O2\ (g).$$

- ***Recherche de l'oxydase*** : L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaines respiratoires cytochromiques bactériennes. Ce test consiste à déposer sur une lame un disque à oxydase et à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée étaler une colonie sur le disque. Les espèces contenant l'oxydase donnent en 30 secondes au maximum une réaction positive (oxydase positive +) de coloration violette foncée apparait immédiatement sur le disque **(Hayette et al., 2010)**.

- ***Galerie chimique API 20E et API Staph***

a) Principe

La galerie API est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries **(Camille, 2007)**. La lecture de ces réactions est réalisée à l'aide du tableau de lecture (**Annexe 05**) et l'identification obtenue à l'aide du logiciel d'identification (https://lab.upbm.org).

Les autres tests biochimiques sont : la recherche de la β-galactosidase (ONPG), de l'ornithine décarboxylase (ODC), de la lysine décarboxylase (LDC) et de l'arginine dihydrolase (ADH), production d'H2S, production d'indole, liquéfaction de la gélatine et la dégradation des sucres ont été réalisés en utilisant la plaque API 20E Biomérieux, qui est un système standardisé, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, comportant 20 microtubes qui contiennent 20 substrats déshydratés.

b) Technique

- Repartir l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inoculer les microtubes avec une suspension bactérienne de chaque isolat, en respectant scrupuleusement le mode d'emploi.
- Recouvrir les cupules ADH, LDC, ODC, H2S (sulfure d'hydrogène) et URE (uréase) par l'huile de vaseline afin de créer une anaérobiose.

c) Lecture

Les réactions produites durant la période d'incubation (37°C pendant 24 h selon le type de galerie) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs c'est le cas dans les microtubes VP, TDA et IND (indole) dont la lecture n'a été faite qu'après l'ajout des réactifs.

- **Galerie Entérobactéries « API 20E » :**

Après incubation à 35-37°C, révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- **TDA** (Tryptophane DésAminase) : ajouter une goutte de réactif TDA, une couleur marron rougeâtre indique une réaction positive+.

- **IND** (INDole production) : ajouter une goutte de réactif Kovac's, une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive+.

- **VP** (VogesProskauer : production d'Acétoïne) : ajouter une goutte des réactifs VP1 et VP2, attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive+ **(Hayette, 2010).**



Figure 16 : La galerie chimique APIE **(Photo originale)**

- **Galerie Staphylocoques « 20 STAPH »** :

Après incubation à 35-37°C, révéler les tests nécessitant l'addition des réactifs :

- NIT : ajouter une goutte de réactif NIT 1 et NIT 2

- VP : ajouter une goutte de réactif VP 1 et VP 2

Attendre de 5 à 10 minutes puis lire toutes les réactions,



Figure 17 : La galerie chimique API 20 Staph **(Photo originale)**

II.6. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

II.6.1. L'antibiogramme

- **Principe**

L'étude de la sensibilité aux ATB a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu TSA selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie **(CASFM, 2008)**. Cette méthode permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis d'un panel d'ATB. Des disques imprégnés de différents ATB testés sont déposés à la surface d'un milieu de culture standardisé (milieu de TSA) préalablement ensemencé avec une dilution calibrée de la bactérie à tester. L'arrêt de la croissance à distance du disque se produit en présence de la concentration minimale inhibitrice de l'ATB **(Camille, 2004).**

- **Technique**

Une ou plusieurs boites selon les cas, contenant le milieu de TSA spécifiquement destiné à cette méthode, sont inoculées à l'écouvillon en stries superficielles très serrées en trois « couches » successives et perpendiculaires à l'aide de la suspension bactérienne préalablement calibrée. Les disques imprégnés d'ATB sont alors disposés à la surface de la gélose et l'ATB diffus très rapidement de manière concentrique autour de chaque disque. Les boites peuvent alors être mises en incubation à 37° C (**Thierry E, 1994**).)

II.6.1.1. Milieu utilisé

On a utilisé le milieu TSA coulé en boites de Pétri d'un volume de 15 mm pour une boite de 90 mm de diamètre (figure 18). Les boites sont séchées avant leur emploi**(CASFM, 2020)**

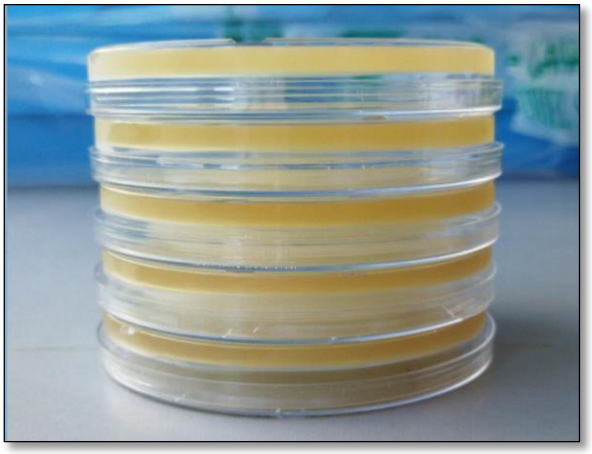


Figure 18 : Boites de Pétri contenant la gélose Trypticase-Soja (TSA), **(Photo originale)**

II.6.1.2. Inoculum

A partir d'une culture pure et jeune sur milieu d'isolement approprié, on prélève une colonie bien isolée et parfaitement identique à l'aide d'un écouvillon. Dans un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu (Standardisation DO= 0.5 McFarland qui correspond à 108 UFC/ml).

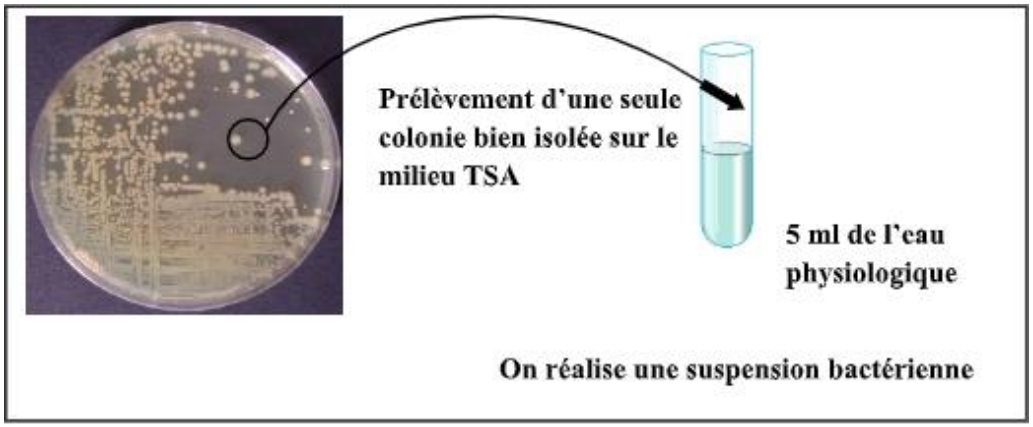


Figure 19 : Préparation de l'inoculum **(Photo originale)**

II.6.1.3. Ensemencement

L'écouvillon est trempé dans l'inoculum, essoré en le pressant fermement contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées, l'opération est répétée deux fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. On finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

II.6.1.4. Préparation des dilutions d'ATB

Dans le cadre de cette expérience, on a préparé deux concentrations différentes à partir d'une solution mère contenue dans une fiole jaugée. La solution mère contenait 20 mg de chaque ATB, et on a complété le volume de la fiole jaugée à 50 ml en utilisant de l'eau distillée.

Pour obtenir la première concentration, nous avons dilué la solution mère en prélevant 5 ml et en les plaçant dans une nouvelle fiole jaugée, ensuite on a ajouté 50 ml d'eau distillée à cette nouvelle fiole, ce qui a donné une concentration de 40 µg.

On a suivi la même procédure pour la deuxième dilution, mais cette fois-ci, le volume initial de la solution mère était de 12,5 ml. Nous avons ensuite complété le volume à 50 ml en ajoutant de l'eau distillée.

Tableau 10 : Les antibiotiques utilisés dans la méthode de l'antibiogramme

Les antibiotiques	1ère concentration	2ème concentration
AMX	40 µg	100µg
PENG	40µg	100µg
AMC	40µg	100µg

AMX : Amoxicilline **PENG** : Pénicillique G

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique

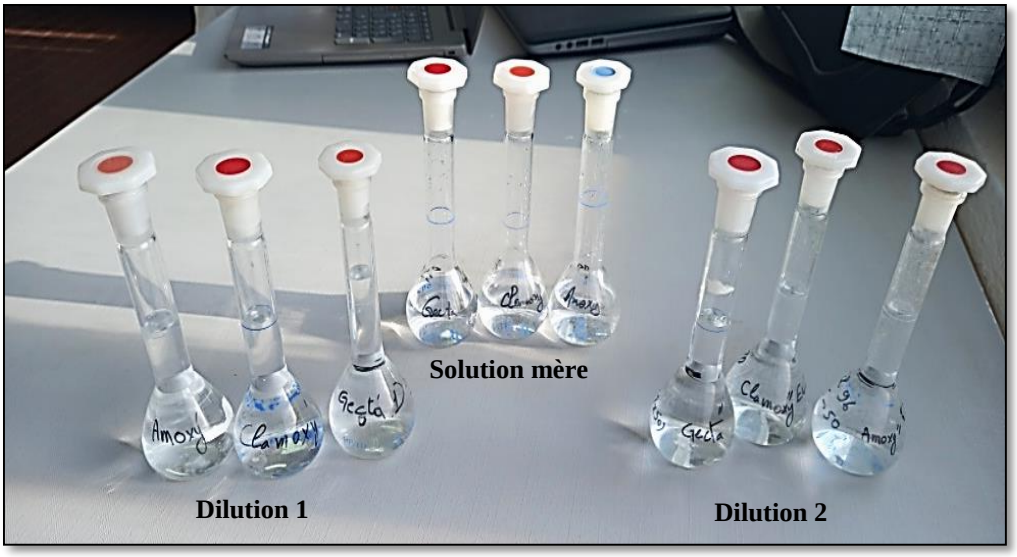


Figure 20 : Solution mère, dilution 1 et 2 des antibiotiques AMX, PENG et AMC **(Photo originale)**

II.6.1.5. Application des disques d'antibiotiques

On a utilisé des disques vierges et les a immergés aux dilution1 et dilution 2 sur les dilutions 1 et 2 des trois antibiotiques AMX, PENG et AMC (voir la figure 21 qui présente la technique d'immersion). En divisant les boîtes en deux, on a ensuite appliqué les disques immergés sur les boîtes de Pétri gélosées contenant du TSA, comme illustré dans la figure (22). Tous les tests ont été réalisés sur les ATB avec une répétition de 4 fois.



Figure 21 : Technique d'immersion de disques vierges **(Photo originale)**

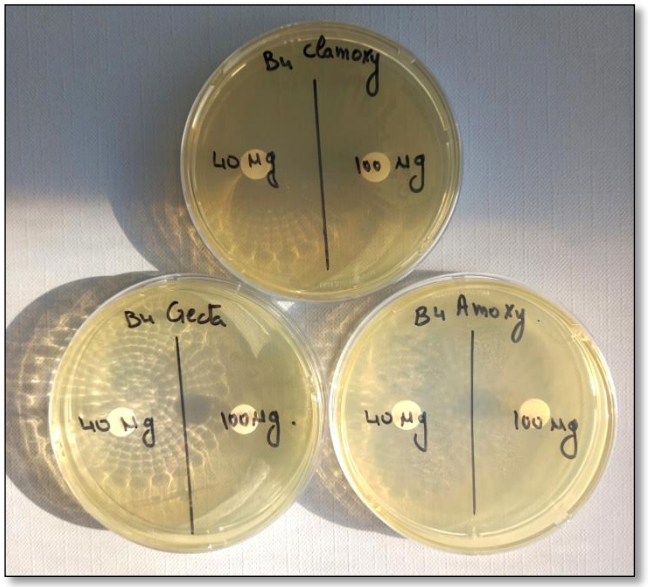


Figure 22 : Les boites de pétri divisant en deux concentrations **(Photo originale)**

II.6.1.6. Incubation

Après l'application des disques d'antibiotiques, les cultures sont incubées dans des étuves à une température de 37 °C pendant 24 h.

II.7. Utilisation des agents biocides puissantes

Dans le cadre de notre étude, on a choisi ces agents biocides en fonction de leur efficacité et de leur compatibilité avec notre méthodologie de recherche. Dans la suite de notre étude, on va expliquer comment on a utilisé ces désinfectants et antiseptiques et leur importance pour la validité de nos résultats.

On suit les mêmes étapes de l'antibiogramme, c'est-à-dire l'étude de l'effet des agents biocides sur les bactéries isolées par la sensibilité bactérienne. Elle se réalise par la méthode de diffusion en TSA, qui consiste à déposer à la surface de la gélose d'une boîte de Pétri un ou deux disques vierges imprégnés de chaque agent biocide, en fonction de l'évaporation de l'agent biocide. Le tableau (11) ci-dessous présente les désinfectants et antiseptiques utilisés : Eau de Javel, Alcool éthylique, Alcool isopropanol, Eau oxygénée.

Tableau 11 : Les agents biocides utilisés, leurs concentrations et nombre de disque posés

Agents biocides	Concentration	Nombre de disque posé
L'eau de javel	**12 %**	**1 disque**
Alcool éthylique	**96 %**	**2disques**
Alcool isopropanol	**70 %**	**2disques**
L'eau oxygénée	**10 V**	**1disque**

Ensuite, les cultures sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. Cette période d'incubation permet aux bactéries de se développer et de réagir aux agents biocides appliqués, ce qui nous permettra d'analyser les effets de ces agents sur leur croissance et leur survie.

Résultats et Discussions

Notre étude est basée sur les prélèvements d'air réalisés à partir de la zone à atmosphère contrôlée (ZAC) du bâtiment "A" de la production de produits injectables pénicilliques sur une période d'un mois (janvier à février 2023). Parmi les 46 prélèvements effectués, nous avons identifié 4 prélèvements contaminés. Ces prélèvements contaminés joueront un rôle important dans notre analyse des niveaux de contamination et dans l'évaluation de l'efficacité des mesures de contrôle mises en place dans la ZAC.

I.1. Répartition des prélèvements

Sur les 46 prélèvements collectés ,04 prélèvements sont révélés positifs (contaminés) avec un pourcentage de 9% et 42 prélèvements sont négatifs (non contaminés) avec un pourcentage de 91%. La répartition des différents isolats est résumée dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 12 : Répartition des prélèvements

Les prélèvements non contaminés	Les prélèvements contaminés
42	**4**

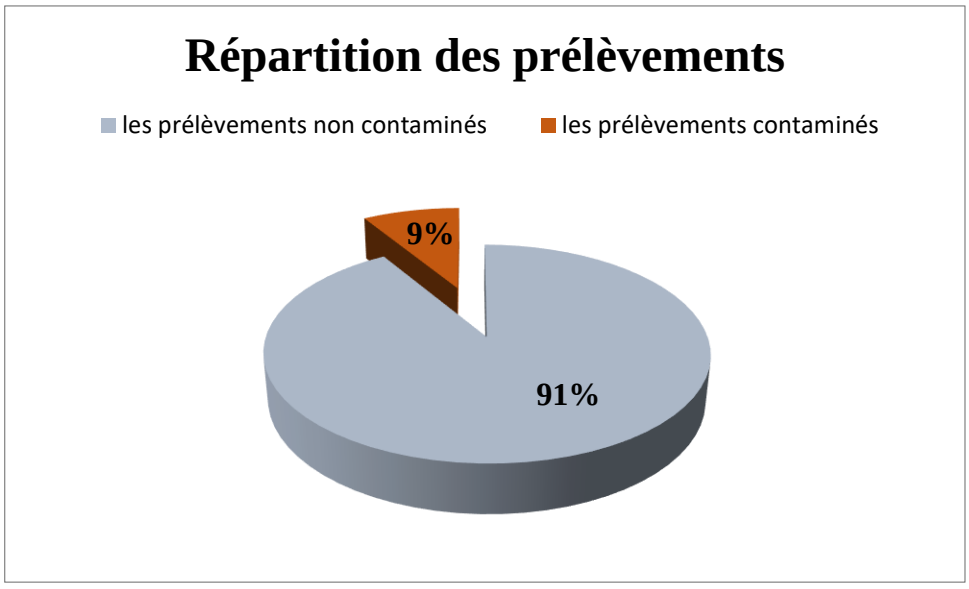


Figure 23 : Répartition des souches isolées

Selon les résultats de cette répartition plus de **90 %** des prélèvements sont **conformes**, et seulement en **9%** des prélèvements sont **contaminés**. Selon la pharmacopée européenne, la production des produits injectables doit respecter des normes strictes en termes de contamination. Idéalement, le niveau de contamination dans la production des produits injectables devrait être de **0 %**.

I.1.1 Résultats de prélèvement de l'air

Les résultats des prélèvements d'air ont révélé que les 4 échantillons ne sont pas conformes aux normes préconisées par la pharmacopée. Ces **non-conformités** ont été observées à différents points testés et à différentes dates pendant le mois de Janvier au sein de l'unité de production. Chaque prélèvement est accompagné d'un bulletin qui présente les résultats détaillés. Les tableaux ci-dessous fournissent un aperçu de ces résultats non conformes.

Tableau 13 : Bulletins des quatre prélèvements d'air non conformes

	Points de prélèvements	**Résultats**
Bulletin ''01'' 10-01-2023	Doseuse	-
	Embouchonneuse	-
	Table tournante	+
	Centre de la ligne	-
	Centre de la salle	-
	Pré-stérile	-
	Salle autoclave	-
	Salle (VRAC)	-

	Points de prélèvements	**Résultats**
Bulletin ''02'' 16-01-2023	Doseuse	+
	Embouchonneuse	-
	Table tournante	-
	Centre de la ligne	-
	Centre de la salle	-
	Pré-stérile	-
	Salle autoclave	-
	Salle (VRAC)	-

	Points de prélèvements	**Résultats**
Bulletin ''03'' 27-01-2023	Doseuse	-
	Embouchonneuse	-
	Table tournante	-
	Centre de la ligne	+
	Centre de la salle	-
	Pré-stérile	-
	Salle autoclave	-
	Salle (VRAC)	-

	Points de prélèvements	**Résultats**
Bulletin ''04'' 30-01-2023	Doseuse	-
	Embouchonneuse	-
	Table tournante	-
	Centre de la ligne	+
	Centre de la salle	-
	Pré-stérile	-
	Salle autoclave	-
	Salle (VRAC)	-

CL : Centre de ligne **; CL3 :** Centre de ligne bulletin (3) **; CL4 :** Centre de ligne bulletin(4) **;TT :** Table tournante **; DOS :**Doseuse **;(+) :**Positif (Contaminé) ; **(-) :**Négatif (Non Contaminé)

II.1. Résultats de l'isolement, purification et d'identification des souches isolés à partir de contrôle de l'air (bio-test)

II.1.1. Isolement et purification des souches

Un total de 04 souches a été isolées et purifiées sur le milieu Soja agar TSA. Les souches CL4 et TT partagent des caractéristiques communes, telles que la présence de colonies lisses d'une couleur blanche crémeuse. La souche DOS présente des colonies rondes et convexes, avec une couleur variant du jaune au blanc crème. Enfin, la souche CL3 affiche une couleur allant du blanc crème au rose pâle.

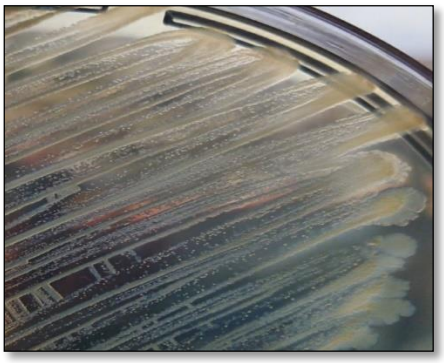


Figure 24 : Aspect de colonie de la souche **CL4**

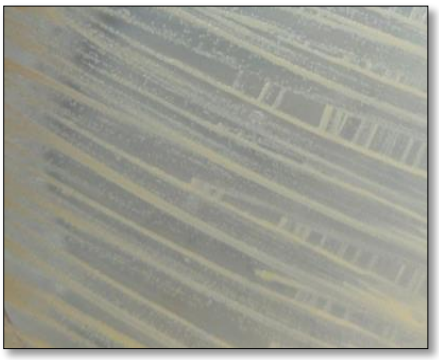


Figure 25 : Aspect de colonie de la souche **CL3**

II.1.2. Identification des souches isolées

II.1.2.1. État frais

L'observation microscopique montre que les résultats de l'état frais des souches TT, DOS et CL4 sont **immobiles**, en revanche la souche CL3 est **mobile**.

Tableau 14 : Résultats de l'état frais

Points de contrôle	La date	Code	Mobilité
Table tournante	10/01/2023	**TT**	Immobile
Doseuse	16/01/2023	**DOS**	Immobile
Centre de la ligne 3	27/01/2023	**CL3**	Mobile
Centre de la ligne 4	30/01/2023	**CL4**	Immobile

II.1.2.2. Coloration de gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur le milieu TSA, on a permis de donner l'aspect des colonies des souches TT, DOS et CL4 (qui sont présentés dans la **figure 26, 27,29**) sous la forme de cocci Gram positif et l'aspect des colonies de la souche CL3 sous la forme de coccobacille Gram négatif qui est présentée dans la **figure (28)**.

Tableau 15 : Résultats de coloration de Gram des souches isolées

Résultats / Souches	TT	DOS	CL3	CL4
Résultats de coloration de gram	+	+	-	+
Forme cellulaire	**Cocci**	**Cocci**	**Coccobacille**	**Cocci**
Morphologie	**Grappe de raisin**	**Grappe irrégulière En tétrades**	**En chainette**	**En amas**

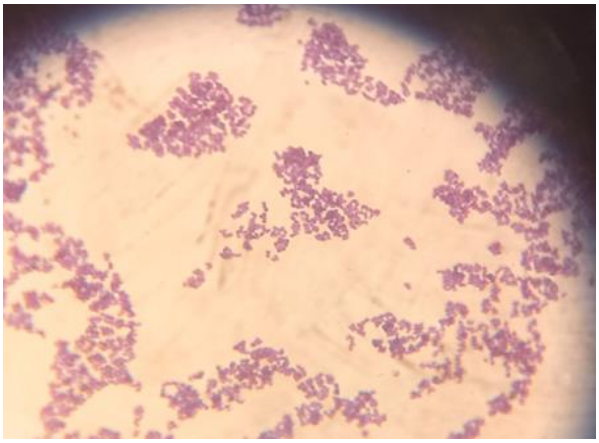


Figure 26 : Coloration de gram de la souche TT

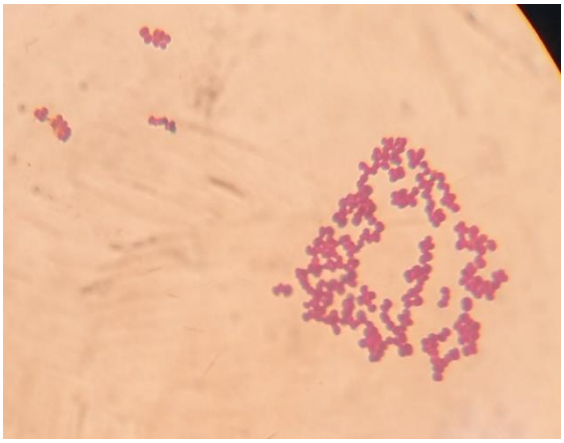


Figure 27 : Coloration de gram de la souche DOS

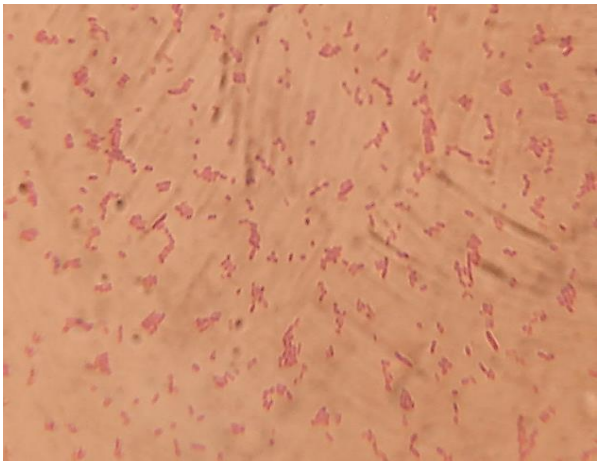


Figure 28 : Coloration de gram de la souche CL3

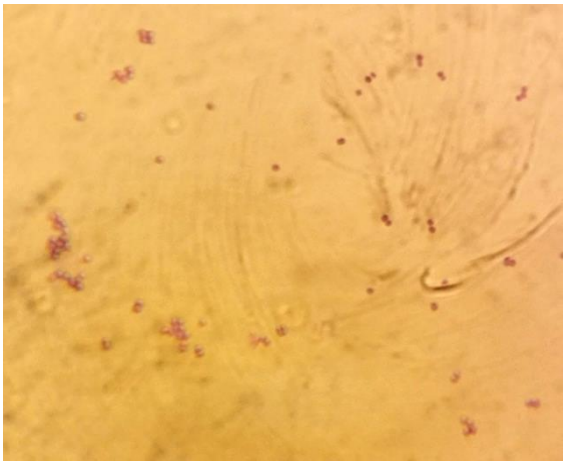


Figure 29 : Coloration de gram de la souche CL4

II.1.2.3. Identification biochimique des isolats bactériens

Les résultats du test de la **catalase** pour l'étude du type respiratoire ont montré que les souches purifiées TT, DOS, CL3 et CL4 sont positives pour la catalase. Les réactions de catalase ont été observées de manière puissante (+++) pour certaines souches et de manière modérée (++) pour d'autres, se traduisant par un dégagement immédiat de bulles d'oxygène. Les résultats indiquent que les souches produisent l'enzyme de catalase qui facilite la désintoxication cellulaire. La catalase neutralise les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène. Selon l'étude menée par **(Reiner, 2013),** la présence de l'enzyme catalase est souvent utilisée pour différencier les bactéries aérobies des bactéries anaérobies. Les bactéries aérobies, y compris les staphylocoques et les entérobactéries, sont généralement caractérisées par la présence de l'enzyme catalase.

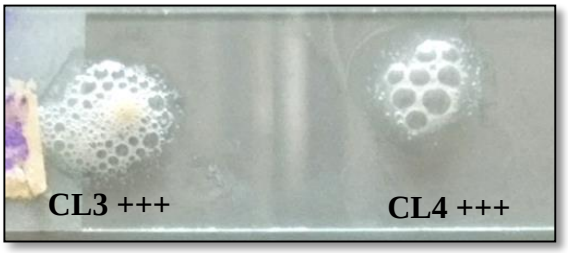


Figure 30 : Test catalase de la souche CL3 et CL4



Figure 31 : Test catalase de la souche TT et DOS

Les résultats du test d'oxydase effectués sur l'ensemble des isolats ont révélé que TT, CL3 et CL4 sont oxydase négatives, tandis que la souche DOS est oxydase positive. Une réponse négative au test d'oxydase se traduit par l'absence de changement de couleur du disque d'oxydase, qui ne prend pas une teinte bleu foncé à violet.



Figure 32 : Test oxydase de la souche TT et DOS



Figure 33 : Test oxydase de la souche CL3 et CL4

II.1.2.4. Identification par API

Après l'isolement des souches et l'étude des caractères biochimiques d'orientation (Catalase, oxydase), poursuivi avec l'étude du profil biochimique des isolats par les galeries miniaturisées API Staph pour les staphylocoques et la galerie API 20E pour les coccobacilles Gram négatif isolées à partir du milieu TSA.

II.1.2.4.1. Identification par API Staph

- **La souche TT**

La galerie API Staph nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches isolées et qui ont permet d'identifie la souche TT, les résultats sont représentés dans la **figure (34).**

Souche	O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
TT	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-



Figure 34 : Résultats d'identification de la souche TT par la galerie API Staph

- **La souche DOS**

La galerie API Staph nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches isolées et qui ont permet d'identifie la souche DOS, les résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

Souche	O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
DOS	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-



Figure 35 : Résultats d'identification de la souche DOS par la galerie API Staph

- **La souche CL4**

La galerie API Staph nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches isolées et qui ont permet d'identifie la souche TT, les résultats sont représentés dans la **figure (36).**

Souche	O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
CL4	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+



Figure 36 : Résultats d'identification de la souche CL4 par la galerie API 20 Staph

II.1.2.4.2. Identification par API 20E

- **La souche CL3**

La galerie API 20E nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques les souches isolées et qui ont permet d'identifie la souche CL3. Les résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

Souche	OPNG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	N2	MOB
CL3	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+



Figure 37 : Résultats d'identification de la souche CL3 par la galerie API 20E

- **Lecture**

➢ La souche *Stapylococcus xylosus* isolée dans notre travail a été prélevée à partir de la table tournante TT au niveau la zone ZAC.

➢ La souche *Micrococcus spp* a été prélevée à partir de la doseuse DOS au niveau de la zone ZAC

➢ La souche *Enterobacter sakazakii* a été prélevée à partir du centre de la ligne CL3 au niveau de la zone ZAC.

➢ La souche *Staphylococcus epidermidis* a été prélevée à partir de centre de ligne CL4 au niveau de la zone ZAC.

Voir le tableau (16) qui résume tous les résultats d'identification des souches isolées, par l'état frais, coloration de gram et tests biochimiques catalase et oxydase.

Tableau 16 : Résultats de l'identification des souches isolées

Prélèvement	Points de contrôles	Code	Etat frais	Coloration de gram	Test Catalase	Test Oxydase	La souche probable
AIR	Table tournante	**TT**	Immobile	Positif	Positif	Négatif	*Stapylococcus xylosus*
	Doseuse	**DOS**	Immobile	Positif	Positif	Positif	*Micrococcus spp*
	Centre de ligne 3	**CL3**	Immobile	Négatif	Positif	Négatif	*Enterobacter sakazakii*
	Centre de ligne 4	**CL4**	Mobile	Positif	Positif	Négatif	*Staphylococcus epidermidis*

III.1. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Après la réalisation de la méthode de diffusion sur le milieu gélosé Soja agar (TSA), selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie **(CASFM, 2008)**. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (17) et (18). Ces résultats ont montré que parmi les 46 isolats testés à partir de la zone ZAC, quatre isolats, y compris *S. xylosus*, *Micrococcus spp*, *E. sakazakii* et *S.epidermis*, ont été identifiés.

Tableau 17 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition

ATB / Souches	AMX		PENG		AMC	
	40µ	100µg	40µg	100µg	40µg	100µg
S.xyslosus	23,8	27,7	24	33,8	29,5	36,9
Micrococcus spp	25,9	32,1	27,4	35,1	25,3	32,2
E.Sakazakii	0	0	0	0	0	0
S.epidermidis	17,1	19,2	20,1	28	14,9	19,4

Tableau 18 : Résultats de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques

ATB / Souches	AMX		PENG		AMC	
	40µ	100µg	40µg	100µg	40µg	100µg
S.xyslosus	S	S	I	S	S	S
Micrococcus spp	S	S	S	S	S	S
E.Sakazakii	R	R	R	R	R	R
S. epidermidis	S	S	S	S	S	S

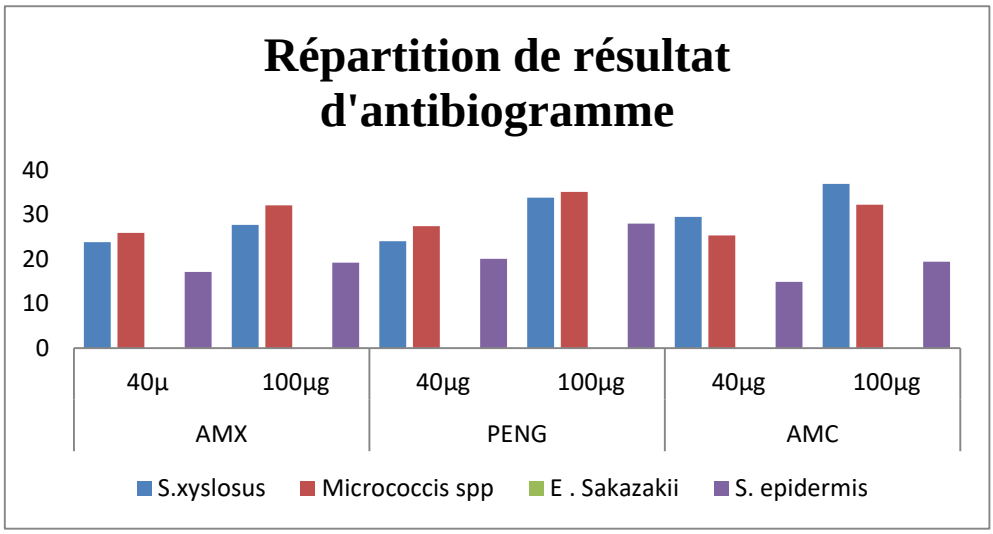


Figure 38 : Diagramme présente les résultats d'antibiogramme

- La souche *S. xylosus* appartient au vaste groupe des staphylocoques à coagulase négative. Il s'agit d'une bactérie commensale de la peau des petits mammifères et des animaux de ferme, ainsi que de l'homme. Cette espèce a la capacité de former des biofilms et possède peu d'exigences nutritionnelles, ce qui lui permet de s'adapter à différents environnements **(Dordet-frisoni, 2012)**. Donc il est établi que cette souche n'a aucune origine que d'un des opérateurs, par le biais de grattage, d'éternuement ou même de toux. Il est probable que les tenues portées présentent au moins une perforation, ce qui a permis à la bactérie de s'échapper de son habitat préféré.

  La souche de *S.xylosus* isolées à partir de TT présente une sensibilité aux l'amoxicilline avec un diamètre de 23.8 mm par une concentration 40 µg et un diamètre de 27.7mm par 100 µg, suivi par, l'association de l'amoxicilline avec l'acide clavulanique a un diamètre de 29.5mm par une concentration de 40µg et avec un diamètre de 36.9 mm par 100 µg. Voir la figure (39) qui présente les résultats des diamètres des zones d'inhibitions de la souche *S.xylosus*.

  Par ailleurs, l'intermédiaire (I) de la pénicilline G avec un diamètre de 24mm par une concentration 40 µg et une sensibilité a un diamètre de 33.8mm par 100µg. La fréquence de la sensibilité de cette souche selon **(BOUSSAHA & YESSAAD, 2022)** a mentionné l'intermédiaire (I) par rapport à l'Amoxicilline, et une résistance par rapport à la Pénicilline. Voir la figure (39)

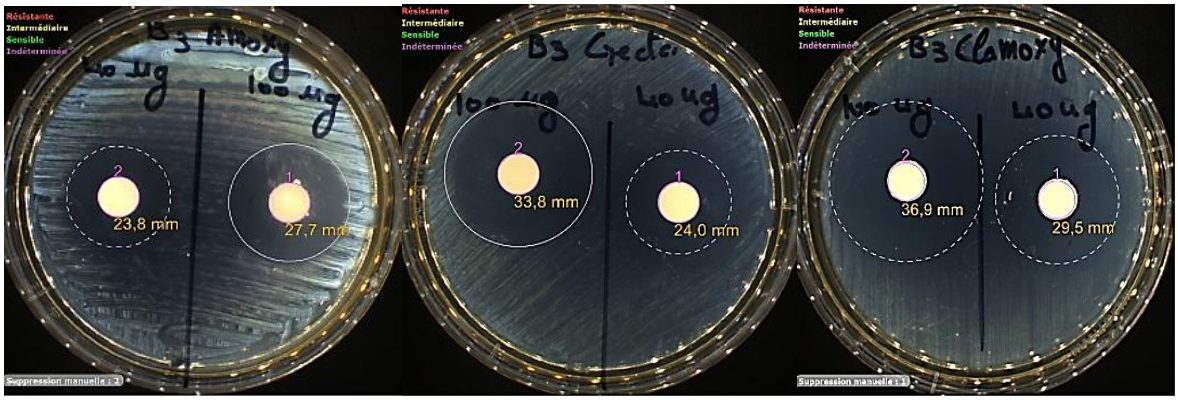


Figure 39 : Résultats d'antibiogramme de la souche ***S.xylosus*** **(Photo originale)**

D'après **(Dordet-frisoni, 2012)**, les protéines de surface des bactéries à Gram positif jouent un rôle important dans les interactions avec les cellules hôtes, les surfaces abiotiques et entre les bactéries. Quelques protéines de surface ont été identifiées chez *S. xylosus* mais peu ont été caractérisées. La plupart des études portant sur ces protéines, chez *S. xylosus*, est le résultat de découvertes fortuites. Des protéines impliquées dans la défense contre l'hôte ou dans la formation de biofilm ont été plus précisément caractérisées chez *S.aureus*. Selon **(Berger-Bächi et al., 1989),** la résistance à la méthicilline chez *S.xylosus* est associée à la production des protéines Fem (factor essential for methicillin resistance) sont essentielles aux mécanismes de résistance à la méthicilline, mais sont également impliquées dans la résistance aux antibiotiques de la famille des β-lactames.

(Campoccia et al., 2006) ont montré qu'il y a une augmentation croissante de la description de souches de staphylocoques à coagulase négative (SCN) multirésistantes aux antibiotiques dans la littérature. Ceci constitue un réel problème en milieu hospitalier

- Les espèces du genre *Micrococcus* on les trouve sur la peau des humains et des animaux, et dans le sol, l'eau de mer et l'eau douce, les plantes, les vecteurs passifs, la poussière et l'air. Chez les humains, on les trouve surtout sur la peau exposée du visage, des bras, des mains et des jambes. Elles sont associées à diverses infections, y compris des bactériémies, des péritonites avec dialyse péritonéale ambulatoire continue, et des infections associées à des shunts ventriculaires et à des cathéters veineux centraux. Elles ont aussi été isolées d'échantillons sanguins et chirurgicaux chez certains patients atteints de maladies coronariennes et infectieuses **(canada.ca, 2011)**

Alors, l'origine de cette souche soit à partir de peau d'opérateur, soit un filtre d'air été endommagé et a permet de quelque poussière.

La souche *Micrococcus spp* présente une sensibilité de l'amoxicilline avec un diamètre de 25,9 mm par une concentration 40 µg et un diamètre de 32,1 mm par 100 µg, suivi par, l'association de l'amoxicilline avec l'acide clavulanique à un diamètre de25, 3 mm par une concentration de 40µg et avec un diamètre de32, 2 mm par 100 µg.

Cependant de la pénicilline G avec un diamètre de 27,4mm par une concentration 40 µg et une sensibilité a un diamètre de 35, 1 mm par 100µg. Voir le figure 40)

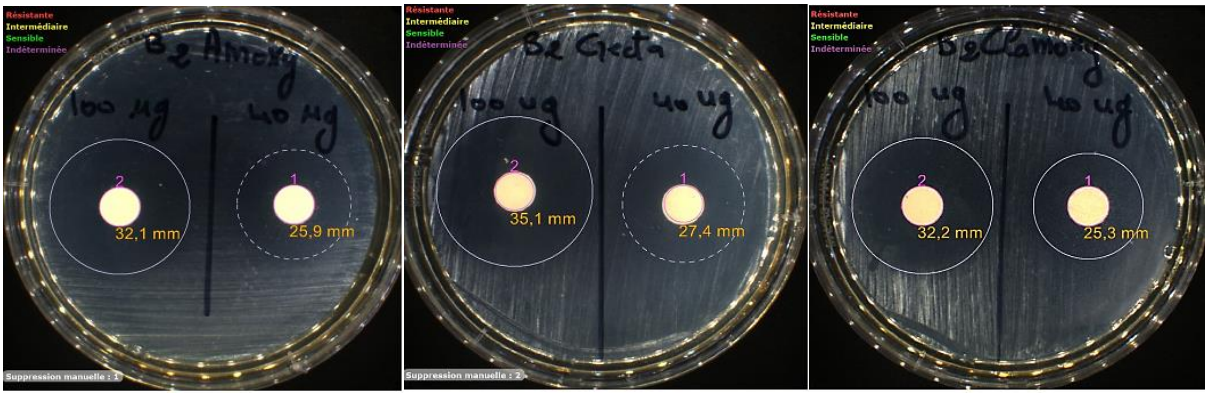


Figure 40 : Résultats d'antibiogramme de la souche *Micrococcus spp* **(Photo originale)**

Une étude réalisée par **(HERICHE & BOUHEMBEL, 2020)** de la méningite bactérienne chez l'enfant au niveau de L'EPH de Médéa a isolée une souche *Micrococus spp* apparait résistante a la pénicilline même aux d'autre famille β-lactamine .

- *Enterobacter sakazakii* c'est une bactérie de l'environnement pathogène opportunistes Leur principale source réside dans les plantes. Les rongeurs et les insectes, comme les mouches, peuvent être des vecteurs de contamination, origine des cas cliniques de tous les âges mais danger chez les primatures et les jeunes enfants à cause de responsabilité d'infection humaine : méningites infantiles, entérocolites nécrosantes, infections systémiques notamment. Leur capacité à former des biofilms, et leur relative résistance (notamment grâce à la production d'une capsule) au stress osmotique et à la dessiccation, favorisent leur persistance notamment dans les environnements secs, tels que les poudres de lait et leur environnement de production **(Bowen & Braden, 2006).**

  Nous suggérons que cette souche a été collecte dans la salle à cause d'un opérateur porteur sains de ce germe qui a permet de cette bactérie intestinale de sortir de son milieu, en ajoutons que probablement son cagoule (de l'operateur) n'était pas bien portée, ce qui a permet la détection de cette souche dans la salle.

- La souche *Enterobacter sakazakii* isolée à partir de CL3 présente une forte résistance aux trois antibiotiques avec les deux concentrations dont AMOXICILLINE, PENICILLINE G et AMOXICILLINE et ACIDE CLAVULANIQUE a un diamètre de 00mm. Voir la figure (41)

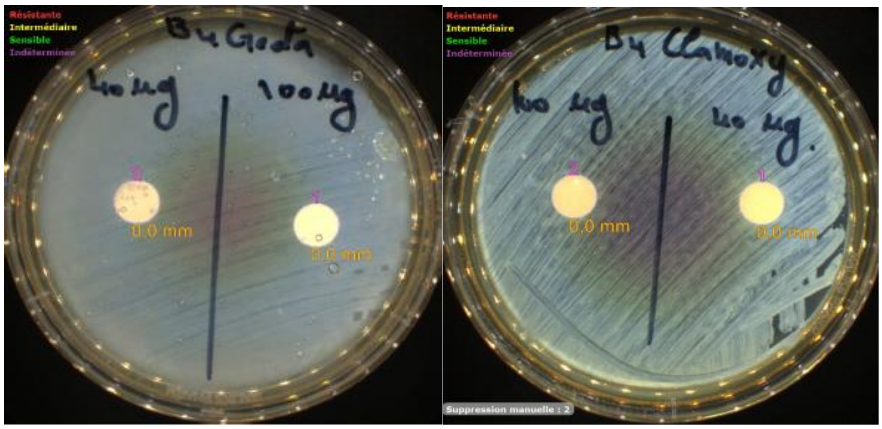


Figure 41 : Résultats d'antibiogramme de la souche *E.sakazakii* **(Photo originale)**

L'étude de **(LAMOURI & CHEFCHOUFI, 2018)** qui a identifié 2 souches de différentes sites le site 1 de table de la salle et site 18 à partir de robinet de toilette sache que l'étude (Ecologie bactérienne des infections nosocomiales : Surveillance de la flore de surface au niveau de service d'infectiologie de l'hopital Ibn Zohr, Guelma) montre que la souche *Enterobacter sakazakii* (site 1) est sensible aux Amoxicilline + acide clavulanique, et pour *Enterobacter sakazakii* (site 18) est résistante aux Amoxicilline + acide clavulanique.

- *Staphylococcus epidermidis* fait partie des Staphylocoques à "coagulase négative" qui constituent l'essentiel de la flore résidente de la peau de l'homme et des animaux, Cette bactérie est transitoire dans les autres flores humaines. Bactérie ubiquitaire responsable : d'infections ostéoarticulaires, notamment sur prothèses, de bactériémies d'endocardites de péritonites chez des patients en dialyse péritonéale et de méningite sur matériel de dérivation du LCR **(CLAVE, 2019)**.

Dans un environnement bien stérile avec des conditions extrêmement strictes, il est impossible pour cette souche de pousser aléatoirement, donc la seule contamination possible dans ce cas vienne des opérateurs. Nous suggérons quelque possibilités interprétons l'apparition de cette souche : Soit le mauvais lavage et nettoyage des mains et de tenus avant d'entrer à la salle, soit les tenus des opérateurs ont des perforations et lésions que permet aux bactéries de s'échapper, soit les mouvements répétés et non nécessaires à l'intérieur de la salle, et même les conversations et le bavardage qui augmentent la possibilité d'émission des gouttelettes contenants des microorganismes **(CLAVE, 2019).**

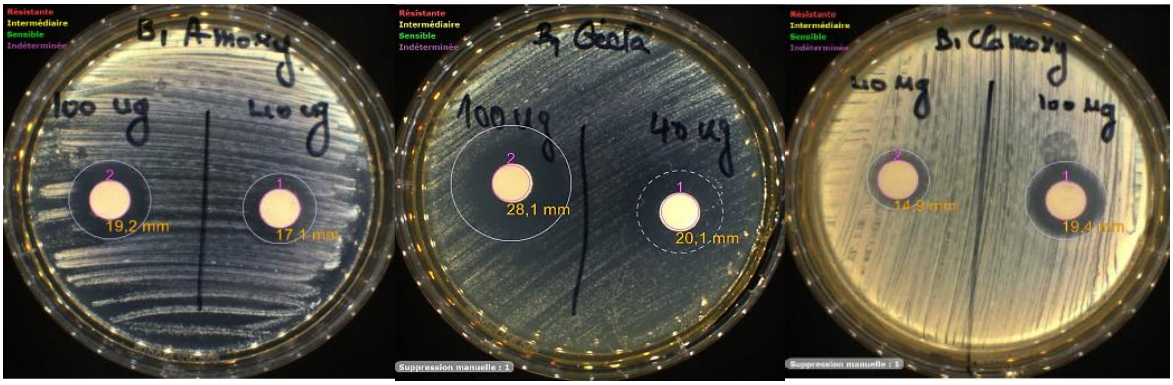


Figure 42 : Résultats d'antibiogramme de la souche *S.epidermidis* **(Photo originale)**

Le test de la sensibilité aux antibiotiques à révéler que : *Staphylococcus epidermidis* est isolée à partir de CL4 sensible aux l'amoxicilline avec un diamètre de 17.1 mm par une concentration 40 µg et un diamètre de 19.2 mm par 100 µg, la pénicilline G avec un diamètre de 20.1 mm par une concentration 40 µg et un diamètre de 28mm par 100 µg, et l'amoxicilline / acide clavulanique avec un diamètre de 14.9 mm par une concentration de 40 µg et avec un diamètre de 19.4 mm par 100 µg.

La souche S.epidermis est naturellement sensible aux β-lactamines, mais les résistances acquises sont très fréquentes et les souches souvent multi-résistantes **(CLAVE, 2019)**.

II.4. Test de la sensibilité aux agents antiseptiques

Dans notre étude, nous avons cherché à évaluer l'efficacité de différents biocides sur des souches bactériennes isolées. Les souches bactériennes sélectionnées pour cette étude étaient *S.xyslosus, Micrococcus spp, E. Sakazakii*et *S. epidermidis*. Les biocides étudiés comprenaient l'eau de javel à 12 %, l'isopropanol à 70 %, l'alcool éthylique à 96 % et l'eau oxygénée à 10 V.

Les résultats du test de l'activité antibactérienne sont présentés dans **l'annexe (05).**

Tableau 19 : Résultats de la sensibilité des souches isolées aux agents antiseptiques

Biocides / Souches	Eau de javel 12 %	Isopropanol70 %	Alcool ethylique96%	Eau oxygéné 10V
S.xyslosus	60,5	13,2	12,3	48,4
Micrococcus spp	50,5	12,2	15,8	54,9
E .Sakazakii	33,5	12	14,8	36,1
S. epidermidis	38,8	11,7	18,1	47,1

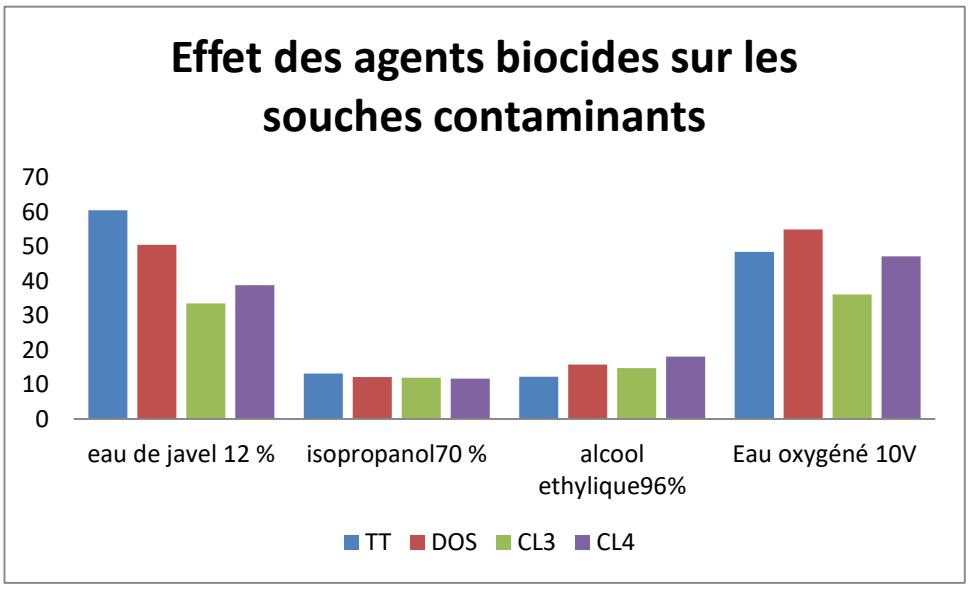


Figure 43 : Diagramme présent l'effet des agents biocides sur les souches contaminants

Le diagramme présente les résultats pour les quatre souches bactériennes (*S.xylosus, Micrococcus spp, E.sakazakii*et et *S.epidermidis*) en utilisant différents biocides (eau de Javel 12%, isopropanol 70%, alcool éthylique 96% et eau oxygénée).

- Eau de javel 12% : elle semble relativement efficace contre toutes les souches bactériennes, avec des taux d'efficacité allant de 33.5% à 60.5%. Cependant, il convient de noter que l'efficacité la plus élevée pour la souche *S.xylosus.*

Le mécanisme d'action des dérivés chlorés est dû au pouvoir oxydant de l'acide hypochloreux, qui résulte de la transformation de l'hypochlorite en présence d'eau. Le produit de référence est« l'eau de Javel » ou solution d'hypochlorite de sodium. Le spectre d'activité de l'eau de Javel est large, à des niveaux d'activité évalués par rapport aux normes à des concentrations très faibles. Leur faible coût et sa bonne stabilité qui permet sa conservation pendant au moins un mois sans perte notable d'activité **(Ballereau et al,).**

Ce soluté d'hypochlorite de sodium titre en France à 12 degrés chlorométriques. Corrosif pour les métaux, son usage se limite en milieu médical, aux sols, aux installations sanitaires, aux laboratoires **(Chambon et al., 1999).**

- **Isopropanol 70% :** Il montre une efficacité modérée, avec des taux d'efficacité allant de 11,7% à 13,2%, les résultats suggèrent qu'il pourrait être moins efficace dans l'élimination de ces souches bactériennes.

  Nos résultats sont similaires à l'étude de **(Luther et al., 2015)** démontrant que L'éthanol et l'isopropanol n'ont pas éradiqué les staphylocoques viables du biofilm après 24h de développement du biofilm de *S.epidermidi*s, les résultats montrent que l'exposition à l'éthanol et à l'alcool isopropanol augmente une formation de biofilm de *S.epidermidis*,

- **Alcool éthylique 96% :** Il présente une efficacité variable, avec des taux d'efficacité allant de 12,3% à 18,1%. L'alcool éthylique démontre une efficacité contre certaines différentes souches bactériennes, avec une efficacité particulièrement élevée observée pour la souche *S.epidermidis.*

Nos résultats sont comparables à celle de l'étude de **(Chabbi & Kriket, 2016)** toutes les souches bactériennes sont résistantes à l'alcool chirurgical 70° et l'éthanol sauf la souche *Staphylococcus aureus* qui est sensible à la solution mère de l'alcool chirurgical.

D'après **(Essayagh et al., 2010)** « La majorité des souches bactériennes étudiées étaient sensibles à l'alcool à 70° », cette variation peut être attribuée à la difficulté de standardiser les méthodes d'évaluation des antiseptiques et à la complexité d'appliquer exactement la

même méthode dans toutes les situations. Cette approche peut prolonger la durée des manipulations et accroître le risque d'erreurs.

- **Eau oxygénée 10V :** Elle montre une efficacité variable, avec des taux d'efficacité allant de 36,1% à 54,9%. Cependant, il est important de noter que l'efficacité la plus élevée de l'alcool éthylique est observée pour la souche *Micrococcus spp*. L'eau oxygénée peut avoir une certaine activité contre ces souches bactériennes, mais elle semble également moins efficace que l'eau de javel dans la plupart des cas.

D'après **(Chabbi & Kriket, 2016),** l'eau oxygénée a une activité antimicrobienne extensive sur les souches testées Staphylococcaceae et *Enterobacteriaceae* sont sensibles à la dilution 1/12.

Le peroxyde d'hydrogène est un agent désinfectant utile pour les objets inanimés comme les verres de contact. De large spectre d'action, il est inactif par les catalases tissulaires. L'utilisation prolongée inhibe la formation du tissu de granulation**(Tousignant & Giard, 1993).**

En conclusion, l'analyse des données met en évidence des différences d'efficacité des biocides sur les différentes souches bactériennes étudiées. L'eau de javel 12% semble être le biocide le plus efficace, avec une efficacité relativement élevée contre toutes les souches, et une efficacité particulièrement notable contre la souche *S.xyslosus*. Ainsi que l'eau oxygénée de 10V est efficace mais reste l'eau de javel le plus efficace.

Cependant, il est important de noter que l'efficacité des autres biocides, tels que l'isopropanol 70% et l'alcool éthylique 96%, est plus limitée et variable d'une souche à l'autre. Ces résultats soulignent l'importance de sélectionner le biocide approprié en fonction de la souche bactérienne ciblée, et de prendre en compte d'autres facteurs tels que la concentration, le temps de contact et les conditions d'application pour assurer une désinfection efficace. Des études supplémentaires pourraient être nécessaires pour évaluer plus en détail l'efficacité des biocides sur un plus large éventail de souches bactériennes.

Conclusion

Au cours de notre stage au Laboratoire de microbiologie et de stérilité à l'unité SAIDAL Médéa, nous avons observé que l'*Enterobacter sakazakii* est le germe le plus fortement résistant. Il s'agit d'une bactérie opportuniste pathogène présente dans l'environnement, capable de former des biofilms et présentant une certaine résistance, Les trois antibiotiques testés se sont révélés inefficaces contre cette souche en raison de la présence d'un opérateur porteur sain de la souche *E.sakazakii*. Les échantillons ont été prélevés dans l'air de la zone ZAC pendant de la production, où l'hygiène était insuffisante. Par ailleurs, les autres souches isolées provenant de la peau humaine se sont révélées sensibles aux antibiotiques de la classe des ß-lactamines.

L'éradication de ces germes dans la zone ZAC a été réalisée à l'aide de quatre antiseptiques et désinfectants. Les choix de ces produits ont été basés sur leur disponibilité sur le marché, leur coût réduit et leur facilité d'utilisation dans la vie quotidienne.

Selon nos résultats, l'eau de Javel s'est avérée être le désinfectant le plus efficace, même à faibles concentrations, contre toutes les souches bactériennes testées. L'eau oxygénée et l'alcool éthylique ont également montré une activité antimicrobienne significative, bien que leurs concentrations varient, Ces deux derniers sont efficaces en raison de leurs propriétés oxydantes. En revanche, l'isopropanol a un effet faible sur les bactéries testées à cause de leur rapidité de l'évaporation. L'activité antimicrobienne des biocides peut également varier en fonction de divers facteurs tels que la concentration du produit, la durée d'exposition et les caractéristiques spécifiques de chaque souche bactérienne.

Selon les bonnes pratiques de fabrication (BPF), il est crucial de suivre les directives et protocoles appropriés établis par les autorités compétentes, tout en se tenant informé des avancées scientifiques en matière de lutte contre les infections. Afin d'optimiser l'efficacité antimicrobienne des agents biocides et de prévenir l'émergence de résistances chez les souches microbiennes, il est recommandé aux employeurs de la zone ZAC de procéder à une rotation entre chaque production des médicaments injectables, par des désinfectants et antiseptiques utilisés. En effectuant cette rotation régulière, il est possible d'éviter que les micro-organismes ne développent aucune résistance due à une exposition prolongée à un seul produit biocide. Par exemple, en alternant l'utilisation de l'agent biocides à base d'alcool, de base oxydante, Il est également recommandé d'effectuer un dépistage régulier des employés porteurs sains, avec un changement tous les six mois.

Références bibliographiques

Acar J.F, Bouanchaud D.H, BuuHoï A (1989). Résistance bactérienne aux antibiotiques. In : Bactériologie médicale, 2ème éd. Paris : Flammarion. p 213-223.

Aiache, J.-M., Aiache, S., & Renoux, R. (2001). Initiation à la connaissance du médicament (Vol. 5). Masson.

Akhavan, B. J., Khanna, N. R., & Vijhani, P. (2021). Amoxicillin. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Aksu, Z., & Tunç, Ö. (2005). Application of biosorption for penicillin G removal: comparison with activated carbon. Process Biochemistry, *40*(2), 831–847.

Avril, J.-L., Dabernat, H., Denis, F., & Monteil, H. (2000). Bactériologie clinique (Vol. 3). Ellipses.

Bador, J. (2013). Résistance aux antibiotiques par mécanisme d'efflux chez Achromobacter xylosoxidans. Dijon.

Ball, A. P., Gray, J. A., & Murdoch, J. M. (1975). Antibacterial drugs today: I. Drugs, *10*, 1–55.

Ballereau , Merville , Lafleuriel et Schrivel.(2012) . Stabilité et antimicrobienne de l'eau de javel en milieu hospitalier tropical. Santé publique.

Berard, V. (2021). Voies parentérales. *UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE - DIJON*, pp 15.

Béraud, J. (2014). le technicien d'analyses biomedicales 2 eme edition.

Berger-Bächi, B., Barberis-Maino, L., Strässle, A., & Kayser, F. H. (1989). FemA, a host-mediated factor essential for methicillin resistance in Staphylococcus aureus: molecular cloning and characterization. Molecular and General Genetics MGG, *219*, 263–269.

Block, S. (2001). Disinfection, sterilization, and preservation. Lippincott Williams & Wilkins.

Bodey, G. P., & Nance, J. (1972). Amoxicillin: in vitro and pharmacological studies. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, *1*(4), 358–362.

Bonnefoy, C., Guillet, F., Leyral, G., Verne, E., & Bourdais. (2002). Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires.

Boulanger T. (2014). Les Formes Pharmaceutiques et les voies d ' administration. 1–97.

BOUSSAHA, S., & YESSAAD, M. (2022). Les risques infectieux dans les laboratoires de microbiologie .

Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. Phytothérapie.

Bowen, A. B., & Braden, C. R. (2006). Invasive Enterobacter sakazakii disease in infants. Emerging Infectious Diseases, *12*(8), 1185–1189.

Branellec, A., Thomas, M., Fain, O., Kettaneh, A., Stirnemann, J., & Letellier, E. (2008). Fréquence de l'allergie à la pénicilline autodéclarée dans le département de Seine-Saint-Denis. Revue de Medecine Interne, *29*(4), 271–276.

Brossard, D., Charrueau, C., Chaumeil, J.-C., Crauste-Manciet, S., & Le Hir, A. (2016). Pharmacie galénique: Bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Elsevier Health Sciences.

Bruneaux, F. (2002). PREPARATION DE MELANGES POUR NUTRITION PARENTERALE DANS UNE PHARMACIE A USAGE INTERIEUR ENJEUX DE L ' INSPECTION François BRUNEAUX.

Burnand, C., & Clarke, K. (2006). PHARMACOLOGIE GENERALE. In Greece and Rome (Vol. 53, Issue 2).

Buxeraud, J., & Faure, S. (2016). Les bêtalactamines. *Actualites Pharmaceutiques*, *55*(558), 1–5.

Camille (2004). Pratique en microbiologie dans laboratoire. Lavoisier, Paris, ISBN : 978-7430-1565-7.p 66.

Camille, D. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier. *P*, *128*, 129–269.

Campoccia, D., Montanaro, L., & Arciola, C. R. (2006). The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance. Biomaterials, *27*(11), 2331–2339.

Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Figure Sélection de souches. Pharmactuel, *42*, 6–21.

CASFM. (2008). Recommandations 2008 (Edition de Janvier 2008) Coordonnateur : Pr C . J . SOUSSY Centre Hospitalier Universitaire Henri Mondor 94010 Créteil Cedex. 2008(33), 0–49.

CASFM. (2020). Comité de l ' antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations 2020. Comité De L'Antibiogramme De La Société Française De Microbiologie, *86*, 6–82.

Cavallo, J.-D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., & Garrabé, E. (2004). Bêtalactamines. EMC-Maladies Infectieuses, 1(3), 129–202.

Chabbi, S., & Kriket, M. (2016). Etude de la résistance aux biocides (antibiotiques, antiseptiques et détergents) des bactéries isolées de l'environnement hospitalier.

Chambon, M., Bailly, J.-L., & Peigue-Lafeuille, H. (1999). Antiseptiques , désinfectants chimiques et virus en secteur médical. Virologie, 3, 367.

Chemelle, J., Claude, L. U., Lyon, B., D, E., & S, I. S. (2013). Étude par modélisation moléculaire de l ' effet allergène des antibiotiques de la famille des β - lactamines.

CLAVE, D. (2019). FICHE TECHNIQUE : Staphylococcus epidermidis.

Courvalin, P. (2008). Bacterial antibiotic resistance: Combinations of biochemical and genetic mechanisms. Bulletin de l'Academie Veterinaire de France, 161(1), 7–12.

DENIS, WOUESSI DJEWE (2011-2012). Chapitre 6 : Formes galéniques administrées par voie Parentérale, UE6 - Pharmacie Galénique : Voies d'administration et Formes Pharmaceutiques, Université Joseph Fourier de Grenoble.

Dordet-frisoni, E. (2012). Staphylococcus xylosus : cartographie du génome et diversité génétique .Thèse Staphylococcus xylosus : Cartographie du génome et diversité génétique.

Dorveaux, P. (2015). L'invention de l'eau de Jave. Bulletin de La Société d'histoire de La Pharmacie, 286–287.

Durliat, G. (1997). L' eau de Javel : sa chimie et son action biochimique . 91, 451–471.

Eickmann, U. M. B. M. F. G. H. B. M. (2014). Emploi des désinfectants dans les activités de soins : risques et mesures de prévention Fiche technique 3 : Risques liés aux désinfectants chimiques.

ER2i, I. (2017). CONCEPTION DES INSTALLATIONS ET ÉQUIPEMENTS POUR SALLES PROPRES .

Essayagh, T., Elameri, A., Zohoun, A., Miloudi, M., & Elhamzaoui, S. (2010). Activité antibactérienne des antiseptiques utilisés à l'Hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat. Annales de Biologie Clinique, *68*(4), 421–427.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA COMMISSION (2012). Particulate contamination : subvisible particles. European Pharmacopeia, , p. 3559-62

FAUCHER, M. (2018). Le transfert horizontal de gènes chez les mycoplasmes: de l'acquisition de l'antibiorésistance à la dynamique des génomes.

Finlay, J., Miller, L., & Poupard, J. A. (2003). A review of the antimicrobial activity of clavulanate. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, *52*(1), 18–23.

Fischbach, M. A., & Walsh, C. T. (2009). Antibiotics for emerging pathogens. *Science*, *325*(5944), 1089–1093.

González-bello, C. (2017). Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Antibiotic adjuvants – A strategy to unlock bacterial resistance to antibiotics. *27*, 4221–4228.

Hayette, M. P., Huynen, P., & Meex, C. (2010). Travaux pratiques de microbiologie generale. 1–62.

HERICHE, M., & BOUHEMBEL, N. (2020). L ' étude de la méningite bactérienne chez l ' enfant au niveau de L ' EPH de Médéa.

Humbert-delaloye, V. (2013). Administration des médicaments par voie intraveineuse aux soins intensifs adultes : évaluation et validation des pratiques par la littérature et des essais en laboratoire.

Jambhekar, S., & Breen, P. (2009). Basic pharmacokinetics.

Kahrs, R. F. (1995). Principes généraux de la désinfection. *14*(1), 123–142.

Kassa ,DJ ,Benouniche ,N , Denine, R, et Ouali, A (2010). Cours de pharmacie galinique (vol. tome). Alger, département de pharmacie : office des publications universitaires

Kaur, S. P., Rao, R., & Nanda, S. (2011). Amoxicillin: A broad spectrum antibiotic. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, *3*(3), 30–37.

Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part II. Chemosphere, *75*(4), 435–441.

Labrude, P. (2015). Société internationale d ’ histoire de la pharmacie : à propos de la News Letter , n ° 4 , 2003.

LAMOURI, G., & CHEFCHOUFI, H. (2018). Ecologie bactérienne des infections nosocomiales : Surveillance de la flore de surface au niveau de service d’infectiologie de l’hopital Ibn Zohr , Guelma.

Le Hir, A. (2009). Vie d’un Médicament, de la Conception aux Bonnes Pratiques de Fabrication: Abrégés de Pharmacie Galénique Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments. Edition Masson: Paris, France.

Leclercq, R., & Courvalin, P. (1991). MINIREVIEWS Bacterial Resistance to Macrolide , Lincosamide , and Streptogramin Antibiotics by Target Modification. *35*(7), 1267–1272.

Lespagnol, A., Lespagnol, C., & Lesieur, D. (1977). Précis de pharmacie chimique usuelle à l’usage des pharmaciens et étudiants en pharmacie: fascicules 1, 2, 3 réunis.

LIMAYEM BOULSA(2014). Les préparations pour usage parentéral.

Luther, M. K., Bilida, S., Mermel, L. A., & Laplante, K. L. (2015). Ethanol and Isopropyl Alcohol Exposure Increases Biofilm Formation in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. Infectious Diseases and Therapy.

Maia, S., Nicol, B., Rouleau, A., Guilloteau, D., & Van Der Mee-Marquet, N. (2008). Microbiological contamination in radiopharmacy: Problems and implementation of controls in a step quality. *Pharmacien Hospitalier*, *43*(172), 11–17.

Maillard, J.-Y. (2005). Antimicrobial biocides in the healthcare environment: efficacy, usage, policies, and perceived problems. Therapeutics and Clinical Risk Management, *1*(4), 307–320.

Marie, M. F. (2020). FONDAMENTAUX DE PHARMACOLOGIE Pharmacodynamie.

Martin et Gouin (2000). Infection et antibiothérapie en réanimation et en chirurgie 2 ème édition.

McDonnell, G., & Russell, A. D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clinical Microbiology Reviews, *12*(1), 147–179.

Michel, J. P., Denis, F., Weinbreck, P., Bordessoule, D., Mounier, M., & Liozon, F. (1984). Essai clinique de l'Amoxicilline injectable par voie veineuse dans les infections sévères de l'adulte. *Médecine et Maladies Infectieuses*, *14*(1), 41–45.

Michel, SCHORDERDERET et collaborateurs (1998). DES CONCEPTS FONDAMENTAUX AUX APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES, École de pharmacie (Lausanne), Privat-docent, Maitre d'enseignement et de recherche, Département de Pharmacologie, Centre médical universitaire (Genève) ISBN 2-05-100999-6 pp11

Morin, R. B., & Gorman. (1977). Chemistry and Biology of β-Lactam Antibiotics.

Moulin, M., & Coquerel, A. (2002). Pharmacologie. Elsevier Masson.

Muylaert, A., & Mainil, J. G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : Les mécanismes et leur « contagiosité ». Annales de Medecine Veterinaire, *156*(2), 109–123.

Nouvel, M., & Lepape, A. (2015). Administration des médicaments par voie parentérale : incompatibilités médicamenteuses physicochimiques.

Odonkor, S. T., & Kennedy K, A. (2012). Bacteria resistance to antibiotics: recent trends and challenges. *2*(4), 1204–1210. papers3://publication/uuid/D08CCDB8-8E18-469F-87E3-2704311AC78B

Palliez, C. (2000). Evolution des contenants des solutes pour perfusion.

Pan, M., & Chu, L. M. (2017). Fate of antibiotics in soil and their uptake by edible crops. *Science of the Total Environment*, *599*, 500–512.

Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., Bacq-Calberg, C., & Dusart, J. (2003). Microbiologie. 2e éd. De Boeck Université, Bruxelles, *1164*.

Ramstorp, M. (2008). *Introduction to contamination control and cleanroom technology*. John Wiley & Sons.

Reiner, K. (2013). Catalase Test Protocol. November *2010*, 1–9. http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3226-catalase-test-protocol

Roger, P. (2021). *UE4 : Sciences thérapeutiques*.

Ros, A. (1999). La résistance bactérienne ou le naufrage des antibiotiques. Laboratoire de Bactériologie-Virologie. CHU de Saint-Etienne, 3.

Russell, A. D. (2002). Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. Journal of Applied Microbiology, *92*(s1), 121S-135S.

Russell, A. D. (2003). Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, *52*(5), 750–763.

Russell, A. D., Suller, M. T. E., & Maillard, J.-Y. (1999). Do antiseptics and disinfectants select for antibiotic resistance .In Journal of Medical Microbiology (Vol. 48, Issue 7, pp. 613–615). Microbiology Society.

Rwabihama, J.-P., Aubourg, R., Oliary, J., Mouly, S., Champion, K., Leverge, R., & Bergmann, J.-F. (2006). Usage et mésusage de la voie intraveineuse pour l'administration de médicaments en médecine interne. La Presse Médicale, 35(10), 1453–1460.

SEBBAH (2010). Direction du Marketing et de l'information Médicale Groupe SAIDAL Numéro 9 4 ème Trimestre.

Safon, M. (2021). La politique du médicament en France.

Serrayet, M. L. (2014). Utilisation du biocollecteur MAS 100 NT.

Sköld, O. (2011). Antibiotics and antibiotic resistance. John Wiley & Sons.

Tait, K. D. (2002). Chapitre 79. L'industrie pharmaceutique. Securité Santé Au Trav. Genève: Bureau Internationale Du Travail, 4838.

Tousignant, J., & Giard, F. (1993). Les antiseptiques topiques. Canadian Family Physician, *39*, 381.

Veyssiere, A. (2020). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019 Anaïs Veyssiere diplôme d'etat de docteur en pharmacie présentée. 106.

Wilke, M. S., Lovering, A. L., & Strynadka, N. C. J. (2005). β-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. Current Opinion in Microbiology, 8(5), 525–533.

Ziai, S. (2014). La Resistance Bacterienne Aux Antibiotiques : Apparition Et Strategies De Lutte. 147.

Les sites web

- **ANTIBIO-RESPENSABLE(2018).**https://www.antibioresponsable.fr/antibiotiques/-/media/2018-01-11%20-Tableau%20des%20antibiotiques.pdf
- **Brain J Werth (2022**).Aminosides https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/infections/antibiotiques/aminosides (révisé on juin 2022).
- **Canada.ca(2011).** Fiche technique santé -sécurité : Agent pathogène – Micrococcus spp. Disponible sur : https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/micrococcus.html . modifier le 19 avril 2011.
- **Eupati(2023).https://toolbox.eupati.eu/resources/principes-clesdepharmacologie/?lang=fr**
- **Gozalo (2009).** Voies d'administration des médicaments et formes pharmaceutiques associées https://slideplayer.fr/slide/16086395/ . (consulté le 23 septembre 2009)
- **Journal officiel (2021).** Journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire N °55 https://www.miph.gov.dz/fr/wp-content/uploads/2021/07/la-composition-du-dossier-denregistrement-et-du-dossier-de-renouvellement-de-la-decision-denregistrement-des-medicaments-a-usage-de-la-medecine-humai.pdf .
- **LABSTER THEORY (2021).** les réactifs utilisés dans la coloration de Gram**.** Disponible sur : https://theory.labster.com/reagents-fr/ (modifier le 29 octobre 2021*).*
- **Reporters Algérie (2018).** La consommation des antibiotiques explose en Algérie https://www.reporters.dz/selon-une-etude-americaine-la-consommation-des-antibiotiques-explose-en-algerie/.
- **Vidal (2022).**les familles des antibiotiques https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/antibiotiques/familles.html.
- **Vidal (2023).** les familles des antibiotiques https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/antibiotiques/familles.html

Les annexes

Annexe 01 : Le Groupe SAIDAL

Le Groupe industriel SAIDAL est né de la restructuration de l'Entreprise Publique Economique SAIDAL en 1998 et contrôle trois filiales de production et deux unités de service a pour mission de développer, de produire et de commercialiser des produits pharmaceutiques à usage humains.

Le groupe SAIDAL a pour objectif stratégique de consolider sa position de leader dans la production de médicaments génériques et de contribuer, ce faisant, à la concrétisation de la politique nationale du médicament mise en œuvre par les pouvoirs publics. (Mémoire).

Figure 01 : Logo du groupe SAIDAL

Site de production de Médéa

Le site de production de Médéa est spécialisé dans la production d'antibiotiques pénicilliniques et non pénicilliniques. Le Complexe Antibiotiques, dont la production a démarré en 1988, produit les formes galéniques suivantes : injectables, gélules, pommades, sirops et comprimés. Le site est caractérisé par une capacité de production importante dans la fabrication de matières premières en vrac et des spécialités pharmaceutiques et des laboratoires d'analyse permettant le contrôle complet de la qualité.

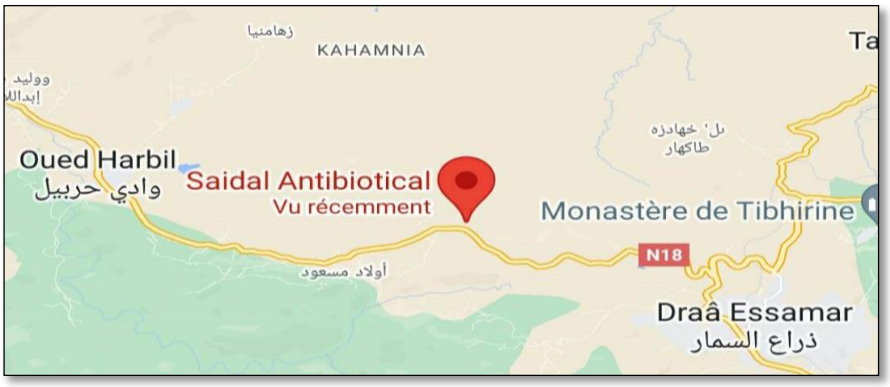


Figure 02 : Localisation de Groupe SAIDAL MEDEA

Annexe 02 : Equipement, matériels, systèmes et réactifs

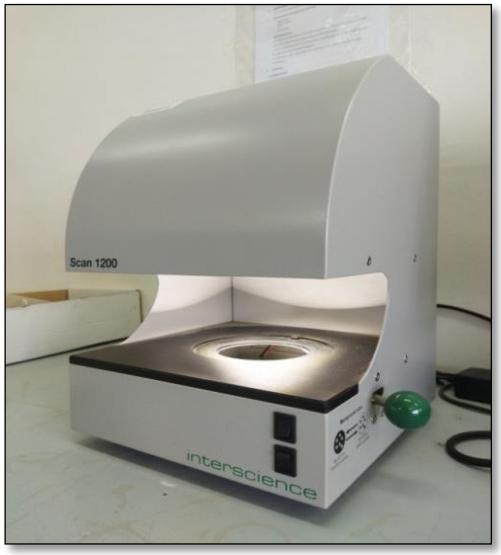


Figure 01 : Lecteur des zones d'incubations



Figure 02 : Microscope optique





Figure 03 : Bio-collecteur d'air



Figure 04 : Balance



Figure 05 : Balance analytique



Figure 06 : Vortex



Figure 07 : Densitomètre Mf-Units



Figure 08 : Autoclave



Figure 09 : Réfrigérateur



Figure 10 : Incubateur



Figure 11 : Fiole de jaugée



Figure 12 : Pipette gradué



Figure 13 : Flacons en verre



Figure 14 : Lame et Lamelle



Figure 15 : Disques vierges

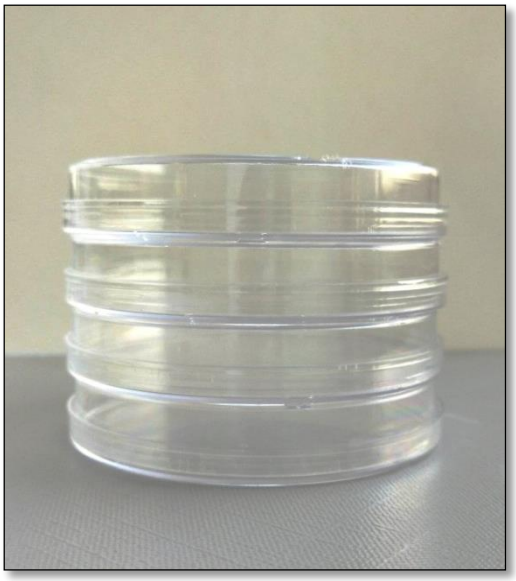


Figure 16 : Boites de Pétri stériles



Figure 17 : Écouvillons stériles



Figure 18 : Bouchons



Figure 19 : Réactifs ZYM ‘’A’’ et ‘’B’’



Figure 20 : Réactifs VP1 et VP2

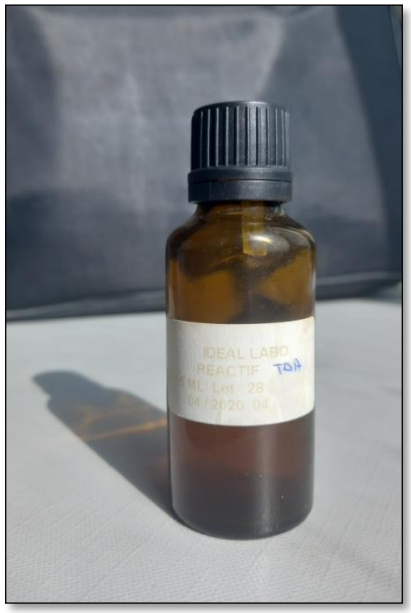


Figure 21 : Réactif TDA



Figure 22 : Poudre de zinc



Figure 23 : Disques d'oxydase



Figure 24 : Réactifs Nitrate1 et Nitrate2

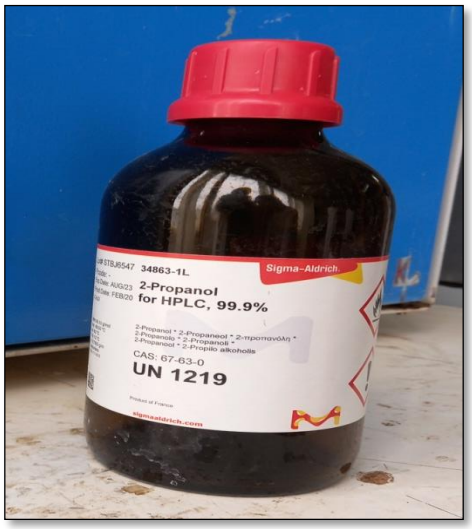


Figure 25 : Isopropanol

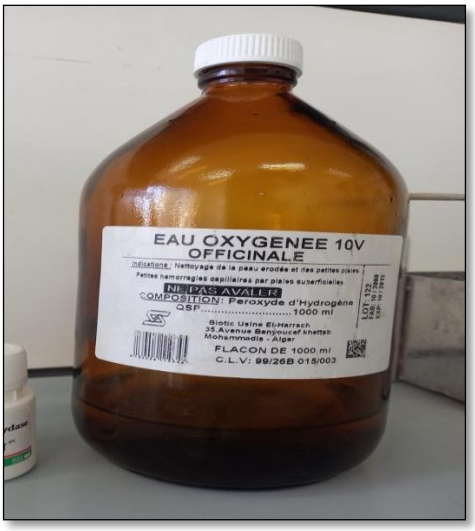


Figure 26 : Eau oxygénée

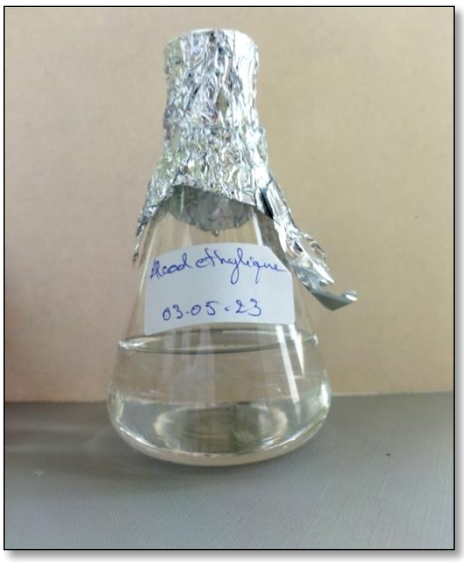


Figure 27 : Alcool Éthylique

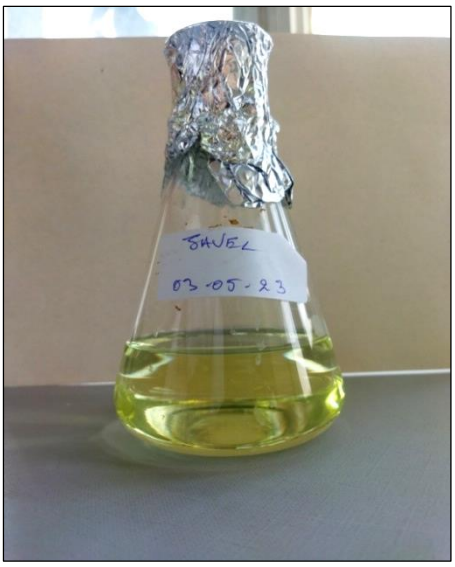


Figure 28 : Eau de Javel

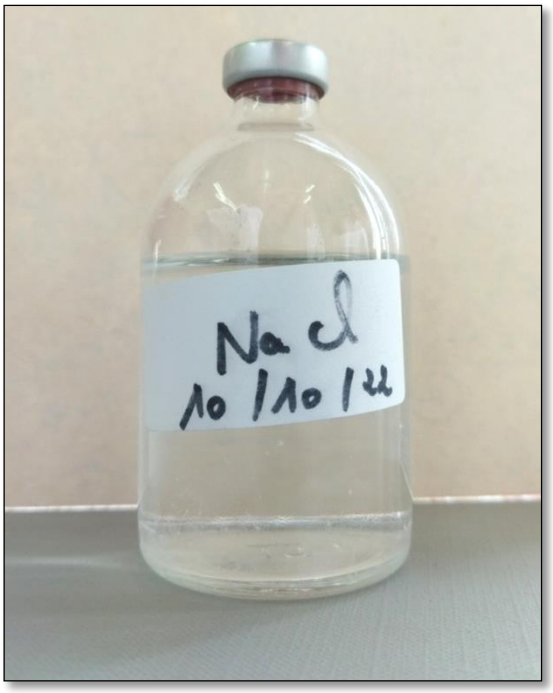
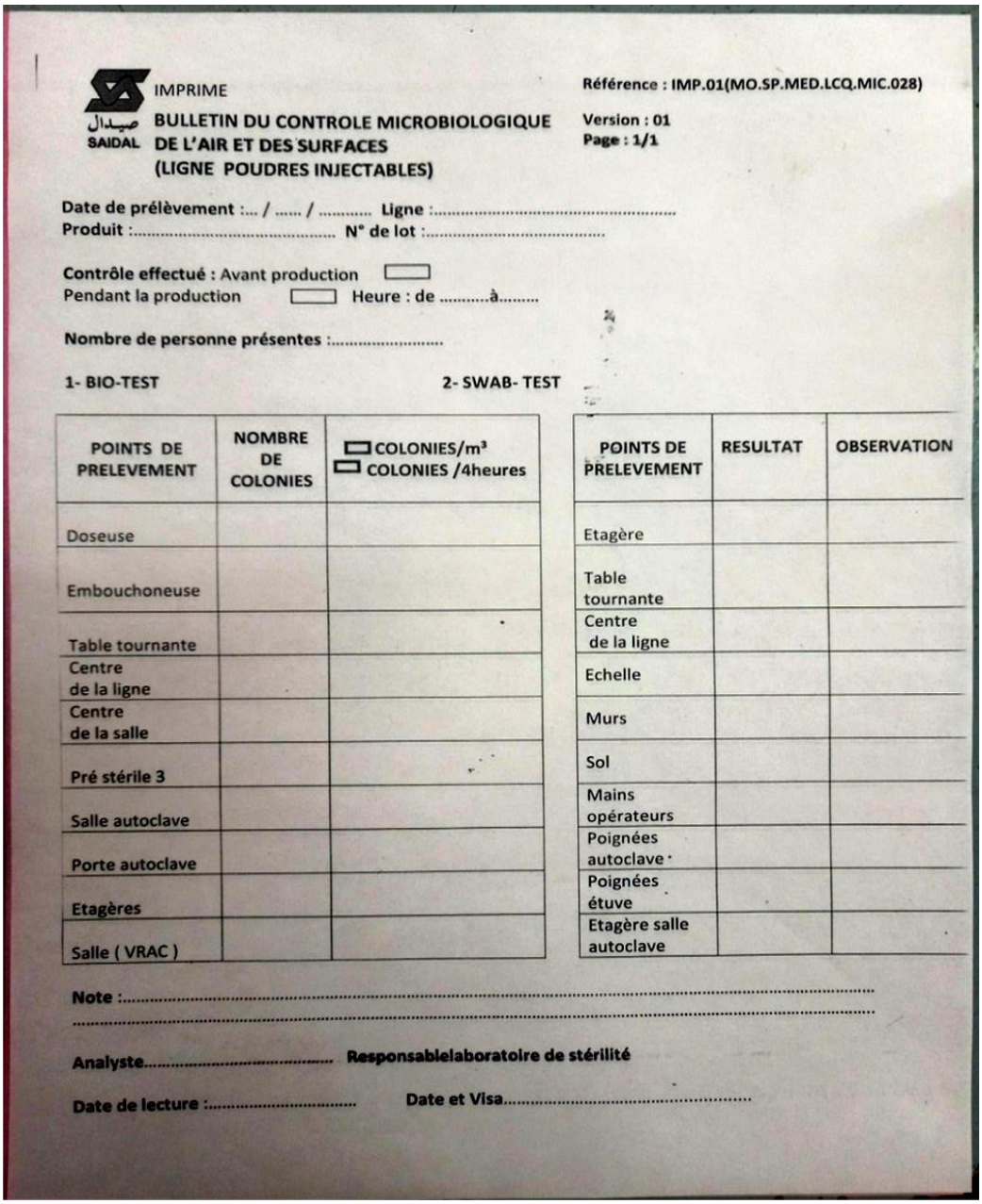


Figure 29 : Eau physiologique



Figure 30 : Eau distillé

Annexe 03 : Echantillon



IMPRIME

صيدال SAIDAL

BULLETIN DU CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DE L'AIR ET DES SURFACES (LIGNE POUDRES INJECTABLES)

Référence : IMP.01(MO.SP.MED.LCQ.MIC.028)
Version : 01
Page : 1/1

Date de prélèvement :... / ..... / ..... Ligne :.....
Produit :..... N° de lot :.....

Contrôle effectué : Avant production ☐
Pendant la production ☐ Heure : de .....à.....

Nombre de personne présentes :.....

1- BIO-TEST 2- SWAB- TEST

POINTS DE PRELEVEMENT	NOMBRE DE COLONIES	☐ COLONIES/m³ ☐ COLONIES /4heures
Doseuse		
Embouchoneuse		
Table tournante		
Centre de la ligne		
Centre de la salle		
Pré stérile 3		
Salle autoclave		
Porte autoclave		
Etagères		
Salle (VRAC)		

POINTS DE PRELEVEMENT	RESULTAT	OBSERVATION
Etagère		
Table tournante		
Centre de la ligne		
Echelle		
Murs		
Sol		
Mains opérateurs		
Poignées autoclave		
Poignées étuve		
Etagère salle autoclave		

Note :.....
.....

Analyste..... Responsablelaboratoire de stérilité

Date de lecture :..... Date et Visa.....

Figure 01 : Bulletin du control microbiologique de l'air

Annexe 04 : Milieux de culture

Soja Agar

Composition : (formule en grammes par litre d'eau distillée)

- 15,0 g Peptone de caséine.
- 5,0 g Peptone de farine de soja.
- 5,0 g Chlorure de sodium.
- 15,0 g Agar.

Préparation

Dissoudre 40 g dans 1 litre d'eau déminéralisée par chauffage dans un bain-marie

Bouillant ou sous vapeur fluente ; autoclaver (15 min à 121°C)

Final pH à 25°C : 7,3 ±



Figure 01 : Préparation de milieu Soja Agar TSA

Annexe 05 : Les tableaux

Tableau 01 : Lecture de la galerie API

Test	Composant actifs	Réactifs /Enzymes	Résultats	
			Négatif	**Positif**
OPNG	Orthp-nitro phenylgalactosidase	ß-galactosidase (OrthoNitrophényl-ßD-galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine-Dihydrolase	Jaune	Rouge-orangé
LDC	Lysine	Lysine-Décarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
ODC	Ornithine	Orthine-Décarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de CITrate	Vert pâle-jaune	Bleu-Vert-Bleu
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore-grisâtre	Dépôt noir-fin liseré
URE	Urée	UREase	Jaune	Rouge-orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane Désaminase	TDA-immédiat	
			Jaune	Marron rougeâtre
IND	Tryptophane	Production d'inodole	Kovac's-immédiate	
			Incolore Vert pâle-jaune	Rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP1+VP2 / 10min	
			Incolore Rose pâle	Rose-Rouge
GEL	Gélatine de Kohen	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation oxydation (GLUcose)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation oxydation (MANnitol)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation oxydation (INOsitol)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation oxydation (SORbitol)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation oxydation (RHAmnose)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation oxydation (SACcharose)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation oxydation (MELibiose)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation oxydation (AMYgdaline)	Bleu-Bleu-Vert	Jaune
ARA	**Arabinose**	**Fermentation oxydation (ARAbinose)**	**Bleu-Bleu-Vert**	**Jaune**

Tableau 02 : Profil de la sensibilité/résistance aux désinfectants et antiseptiques des souches bactériennes

Biocides / Souches	Eau de javel 12 %	Isopropanol70 %	Alcool ethylique96%	Eau oxygéné 10V
S.xyslosus	S	I	I	S
Micrococcus spp	S	I	S	S
E .Sakazakii	S	I	I	S
S. epidermidis	S	I	S	S