

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

**Domaine:** Science de la Nature et de la Vie.

**Spécialité/Option:** Santé, Eau et Environnement / Microbiologie de l'environnement

**Département:** Ecologie et génie de l'environnement.

### Thème

# Caractérisation microbiologique des effluents des hôpitaux de la région de Guelma : Cas de l'hôpital El Hakim Okbi ,l'hospital Ibn Zohr et E.P.S.P Chlaghmia Amara

Présenté par :

- AYADI Fatima Zahra
- BENOUGHIDNI Fatima Zahra
- BRAHMIA Roqiya

Devant la commission composée de :

Mme BENHALIMA Lamia	Présidente	Université de Guelma
Mr GUEROUI Yacine	Encadreur	Université de Guelma
Mme AMRI Sandra	Examinatrice	Université de Guelma
Mr HOUHAMDI Moussa	Membre	Université de Guelma
Mme BADIOUI Soria	Membre	Université de Guelma
Mme TORCHE Asma	Membre	Université de Guelma

Juin 2017



## Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre gratitude, avant tout à Dieu le tout puissant qui nous à donné le courage et la force pour mener à bout ce modeste travail.

Aux termes de ce travail, nous remercions profondément :

Nous avons remercié vivement notre encadreur monsieur **GUEROUI YACINE**, qui a bien voulu nous diriger et nous orienter tous le long de la réalisation de notre travail, pour ses précieux conseils, nous tenons à le remercier de son encadrement, ses encouragements, nous lui exprime ici, notre vive reconnaissance.

Nous remercions aussi les membres de jury qui vont accepter d'évaluer ce modeste travail :

**Mr HOUHAMDI M, M<sup>me</sup> TORCHE A et M<sup>me</sup> BADIOUI S**, et un grand remerciement a **M<sup>me</sup> BENHALIMA L** d'avoir accepté de présider le jury et a **M<sup>me</sup> AMRI S** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Un spéciale remerciement au :

**M<sup>me</sup> Hasiba, M<sup>me</sup> Wafa et M<sup>me</sup> Houria**. Technicienne des laboratoires de microbiologie à l'université de Guelma pour son aide et ses encouragements.

**Mr Chaalel Abed Elhak**, Surveillant médical, pour son intérêt pour l'étude et pour avoir facilité notre travail.

**M<sup>me</sup> Bazzazi F**. Directrice de ressource humaine de l'hôpital El hakim Okbi pour son aide et ses orientations.

L'ensemble du personnel technique et administratif, soignant du l'hôpital EL Hakim Okbi et l'E .P.S.P du Boumahra Ahmed pour leur collaboration.

Nous remercions très sincèrement **Mlle Amina BOUSSAHA et Mlle Ismahan BRAHMIA** pour son aide, son soutien, et ses encouragements.

Nos remerciements vont également à tous les professeurs et les enseignants de l'Université 8 mai 45.

Et enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail :*

*Aux deux êtres les plus chers, ma chère mère Farida et mon très cher père Madjid pour tout ce qu'ils m'ont offert d'amour et d'affection, ses encouragements et ses conseils.*

*A mes grands parents.*

*A ma sœur Meriem et mes frères : Chérif, Raouf.*

*A ma famille qui ma soutenue.*

*A tous mes oncles et tantes en particulier Linda, cousins et cousines ...*

*A tous mes chères amies*

*A tous mes professeurs.*

*A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.*

*A toute ma promotion.*

**Fatima Zahra**

*Dédicaces*

*Aux deux être plus chers, mes parents ma belle mère Samira, et mon beau père Mohammed  
pour tout ce qu'ils m'ont offert d'amour et d'affection.*

*A mon marie Abed El Malek qui m'aider et encourager le long de cette expérience.*

*A mes très chers frères Mohammed lamine, Bilel et Saif.*

*A mes grands parents.*

*A ma famille qui m'a soutenue.*

*A mes oncles, tantes, cousins et cousines.*

*A tous mes amies.*

*A tout mes professeurs.*

*A tout les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.*

*A tout ma promotion.*

*Fatima zahra*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à ma famille qui m'a soutenue le long de cette belle expérience et durant toutes les expériences que j'ai vécues, les meilleures et les pires.*

*Surtout à ma très chère mère Samia qui a toujours été présente à mes côtés, et mon cher père Mohammed pour ses encouragements et ses conseils. A ma sœur Aridj.*

*A tous mes oncles et tantes, cousins en particulier Iheb, et cousines.*

*Un grand merci du fond du cœur à ma cousine BRAHMIA ISMAHEN pour leur encouragement et leur aide durant la période d'étude.*

*A tous mes amis : Rahma, Marwa, Sara et surtout l'amie la plus gentille et la plus serviable*

*AMINA BOUSSAHA.*

*A tous mes professeurs*

*A toute ma promotion*

**ROKIYA**

# *Résumé*

## RÉSUMÉ

Tout effluent hospitalier contient des substances polluantes, y compris des éléments toxiques avec une large quantité des bactéries pathogènes qui peuvent représenter un danger pour l'homme et peuvent même nuire à l'écosystème.

Notre travail est une étude analytique réalisée avec l'objectif de suivre pendant deux mois (Février, Avril) les variations des paramètres microbiologiques, à savoir un dénombrement bactérien et une identification des germes, des effluents de trois hôpitaux dans la région de Guelma: l'hôpital El Hakim Okbi et Ibn Zohr situés au centre ville et E.P.S.P Chlaghmia Amara à Boumhra Ahmed.

En effet, les résultats obtenus montrent que le taux de certaines espèces microbiennes est très élevé, il s'agit des germes totaux avec un nombre maximal de (300 UFC/ml), une valeur de (1400 CT/100 ml ) pour les coliformes totaux, les coliformes fécaux présentent un nombre de (30 CF/100 ml), les streptocoques fécaux présentent aussi un nombre très élevé de (1100 SF/100 ml), les anaérobies sulfite-réducteurs présentent une valeur de (93 ASR/20 ml). L'identification biochimique des espèces a permis de trouver 36 espèces potentiellement pathogènes pour l'homme. Ces campagnes d'analyses bactériologiques réalisées ont permis de déduire que la charge microbienne des effluents hospitaliers de la région de Guelma constitue un risque sanitaire potentiellement dangereux notamment dans la mesure où ces effluents sont utilisés pour l'irrigation des cultures susceptibles d'être consommées crues. Cette charge microbienne dépasse largement les normes édictées par l'OMS.

**Mots clés :** Effluents hospitaliers, Microbiologie, Coliformes, Guelma, Hôpital.



## ABSTRACT

Any hospital effluent contains pollutants, including toxic elements with a large amount of pathogenic bacteria that can pose a hazard to humans and can even harm the ecosystem.

Our work is an analytical study carried out with the aim of monitoring the variations of the microbiological parameters, namely a bacterial count and an identification of the germs, effluents from three hospitals in the Guelma region, for two months (February, April): El Hakim Okbi Hospital and Ibn Zohr located in the city center and EPSP Chlagmia Amara in Boumhra Ahmed.

Indeed, the results obtained show that the level of certain microbial species is very high, that is to say total germs with a maximum number of (300 CFU / ml), a value of (1400 CT / 100 ml) for coliforms, The faecal coliforms have a number of (30 CF / 100 ml), the faecal streptococci also show a very high number of (1100 SF / 100 ml), the sulfite-reducing anaerobes have a value of (93 ASR / 20 ml ). The biochemical identification of the species found 36 potentially pathogenic species for humans. These bacteriological analyzes carried out made it possible to deduce that the microbial load of hospital effluents in the Guelma region constitutes a potentially dangerous health risk, in particular insofar as these effluents are used for the irrigation of crops which can be consumed raw . This microbial load exceeds the standards set by the WHO.

**Key words:** Hospital effluents, Microbiology, Coliforms, Guelma, Hospital

## ملخص

تحتوي النفايات السائلة عبر الصرف الصحي الخاصة بالمستشفيات على مواد ملوثة، و عناصر سامة، مع كميات كبيرة من البكتيريا الممرضة، إذ تعتبر خطر على صحة الإنسان و ضرر للمحيط.

يتمثل عملنا في دراسة تحليلية تهدف إلى متابعة التغيرات الميكروبيولوجية، و ذلك خلال مدة زمنية دامت شهرين (فيفري و أبريل)، و كذا تعداد و تصنيف البكتيريا و الجراثيم، الموجودة بالمصارف الصحية الخاصة بثلاث مستشفيات و هي : المؤسسة الاستشفائية الحكيم عقبي، و المؤسسة الاستشفائية ابن زهر الواقعتين وسط المدينة، و كذا المؤسسة العمومية للصحة الجوارية قالمة، الكائن مقرها بالعيادة متعددة الخدمات/ شلاغمية عمارة/ بومهرة أحمد.

أثبتت هذه الدراسة وجود عدة أصناف من البكتيريا بكمية كبيرة، حيث بلغت نسبة الجراثيم إلى ( 300UFC /ml )، لعدد أقصى، و تراوحت هذه النسبة بين (1400CT/100 ml) بالنسبة للبكتيريا صنف الكوليفورم، (30CF/100ml) بالنسبة للبكتيريا صنف الكوليفورم البرازية، و كذا عدد كبير جدا من البكتيريا العقدية البرازية (1100SF/100 ml)، أما البكتيريا اللاهوائية الكبريتية، فتراوحت نسبتها إلى(93ASR/20ml).

وقد أوضح التعريف البيوكيميائي أصناف الميكروبات المتدفقة عبر المصارف الصحية إلى وجود 36 صنفا ذو قدرة ممرضة مختلفة. و بعد إجراء تحاليل بكتريولوجية لهذه الأصناف نجد أن عدد الميكروبات التي تم قياسها في نفايات السائلة عبر المصارف الصحية الخاصة بمستشفيات قالمة، يشكل خطر صحي كبير، خصوصا في المياه المستعملة في الري و الزراعة الموجهة للاستهلاك المباشر. حيث تبين أن معدل الميكروبات المقاسة في هذه التدفقات يفوق النسبة المعترف بها من طرف المنظمة العالمية للصحة.

**الكلمات المفتاحية :** الصرف الصحي، ميكروبيولوجيا، كوليفورم، قالمة، مستشفى

## Liste des figures

Nº	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Exemple d'un rejet des eaux usées	02
<b>Figure 02</b>	Schéma des rejets des eaux usées domestiques	03
<b>Figure 03</b>	Exemple des eaux usées industrielles	04
<b>Figure 04</b>	Exemple des eaux usées agricoles	05
<b>Figure 05</b>	Schéma des rejets des eaux pluviales	05
<b>Figure 06</b>	Situation géographique du site d'étude (modifiée)	22
<b>Figure 07</b>	Multi paramètre de type WTW 350i	24
<b>Figure 08</b>	Ensemencement des différents milieux de culture.	24
<b>Figure 09</b>	Enrichissement et isolement du <i>Salmonella</i> (A) et du <i>Vibrio</i> (B)	25
<b>Figure 10</b>	Recherche et dénombrement des germes totaux	27
<b>Figure 11</b>	Recherche et dénombrement des coliformes	29
<b>Figure 12</b>	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	31
<b>Figure 13</b>	Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfito-réductrices	33
<b>Figure 14</b>	Varaiation spatio-temporelle de la Flore Aérobie Mésophile Totale	39
<b>Figure 15</b>	Evolution spatio-temporelle du nombre des Coliformes totaux au niveau des trois hôpitaux.	40
<b>Figure 16</b>	Evolution spatio-temporelle du nombre des Coliformes Fécaux au niveau des trois hôpitaux	41
<b>Figure 17</b>	Evolution spatio-temporelle du nombre des Streptocoques fécaux au niveau des trois hôpitaux	42
<b>Figure 18</b>	Evolution spatio-temporelle du nombre des anaérobies sulfito-réducteurs au niveau des trois hôpitaux	43
<b>Figure 19</b>	Identification biochimique par Api 20 E de l'espèce <i>Serratia plymuthyca</i>	46
<b>Figure 20</b>	Identification biochimique par Api 20NE de l'espèce <i>Delftia acidovorans</i>	48
<b>Figure 21</b>	Identification biochimique par Api Staph de l'espèce <i>Staphylococcus</i>	49

*lentus*

<b>Figure 22</b>	Identification biochimique par Api Strep de l'espèce <i>Aerococcus viridans</i>	50
<b>Figure 23</b>	Identification biochimique par Api 20 C Aux des espèces : <b>A</b> : <i>Cryptococcus albidus</i> , <b>B</b> : <i>Trichosporon mucoides</i> , <b>C</b> : <i>Cryptococcus terreus</i>	51

### Listes de schéma

<b>Nº</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Schéma</b>	circuit d'élimination des médicaments par les patients (Dremont et Hadjali, 1997).	<b>15</b>

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b>	Prélèvement des échantillons des effluents hospitalier de la région de Guelma	23
<b>Tableau 02</b>	les mesures des paramètres physiques	38
<b>Tableau 03</b>	Résultats de l'identification par la galerie API 20E	45
<b>Tableau 04</b>	Résultats de l'identification par la galerie API 20NE	47
<b>Tableau 05</b>	Résultats de l'identification par la galerie API 20 Staph.	48
<b>Tableau 06</b>	Résultats de l'identification par la galerie API 20 strep	49
<b>Tableau 07</b>	Résultats de l'identification par la galerie API 20 c aux	51

## Liste des abréviations

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire.

**OIS** : Organisation Internationale de Standardisation.

**°C** : Degré Celsius.

**%** : Pourcentage.

**h** : Heure.

**PH** : Potentiel d'hydrogène.

**NO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : Nitrate.

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Nitrite

**NH<sub>4</sub><sup>+</sup>** : Ammonium

**mg/l** : milligramme par litre.

**DBO** : Demande biologique en oxygène.

**DCO** : Demande chimique en oxygène.

**µm** : Micromètre.

**E.P.S.P** : Etablissement Public de santé de proximité.

**E.P.A** : Eau peptone alcalin.

**GNAB** : Gélose nutritive alcaline biliée.

**SS** : Salmonella-Shigella.

**TGEA** : Glucosée tryptonée à l'extrait de levure.

**UFC** : Unité formant colonies.

**BCPL** : Bouillon lactose au pourpre de bromocresol.

**D/C** : Double concentration.

**S/C** : Simple concentration.

**NPP** : Nombre le plus probable.

**ASR** : Aérobie sulfite-réducteurs.

**VF** : Viande Foie.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**μS/cm** : Micro siemens par centimètre

**CT** : Coliforme totaux

**CF** : Coliforme fécaux

**ST** : Streptocoque fécaux

**LPS** : Lipopolysaccharide

**ML** : Millilitre

**CL<sup>-</sup>** : Ion de chlorure

**Tab** : Tableau

**Fig** : Figure

**H<sub>2</sub>S** : Nauséabonde

## TABLE DES MATIÈRES

	<b>Page</b>
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Table des matières</b>	
<b>Introduction</b>	1
<b>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</b>	
1. eaux usées	2
1.1. Définition des eaux usées	2
1.2. Origine des eaux usées	2
1.2.1. Origine domestique	2
1.2.2. Origine industrielle	3
1.2.3. Origine agricole	4
1.2.4. eaux pluviales	5
2. effluents hospitaliers	6
2.1. Définition des effluents hospitaliers	6
2.2. Historique des effluents hospitaliers	6
2.3. Classification des hôpitaux et typologie des rejets liquides produits	6
2.3.1. Classification	6
2.3.2. Typologie des effluents liquides hospitaliers	7
3. Caractéristiques des effluents hospitaliers et des eaux usées	8
3.1. Caractéristiques microbiologiques	8
3.1.1. Nature	9
3.1.2. coliforme	9
3.1.3. Streptocoque fécaux	10
3.1.4. bactéries anaérobies sulfito-réductrices	10
3.1.5. germes pathogènes	11



3.2. Caractéristiques physico-chimiques	11
3.2.1. Température	11
3.2.2. Odeur	12
3.2.3. pH	12
3.2.4. Conductivité	12
3.2.5. Oxygène Dissous	13
3.2.6. Nutriments	13
3.2.7. Orthophosphates	13
3.2.8. Demande biologique en oxygène (DBO)	14
3.2.9. Demande chimique en oxygène (DCO)	14
3.3. Caractérisation des rejets de nature radioactive	14
3.4. Caractérisation des rejets médicamenteux	14
3.5. Caractéristiques écotoxicologiques	15
4. Risques sanitaires liés à l'utilisation de l'eau à l'Hôpital	16
4.1. Gravité des infections	16
4.2. Bactéries sont plus spécifiques au milieu hospitalier	17
4.2.1. <i>Serratia</i>	17
4.2.2. <i>Citrobacter freundii</i>	17
4.2.3. <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>	17
4.2.4. <i>Klebsiella</i>	18
4.2.5. <i>Enterobacter</i>	18
4.2.6. <i>Aeromonas hydrophila</i>	19
4.2.7. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19
4.2.8. <i>Pseudomonas</i>	20
4.2.9. <i>Burkholderia</i>	20
4.2.10. <i>Staphylocoques</i>	20
4.3. Risque toxique	20

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

1. Choix des sites	22
2. Prélèvement	23
2.1. Méthodes de prélèvement	23
2.2. Conservation et le transport	23
3. Méthodes d'analyses	24
3.1. Paramètres in situ	24
3.2. Premier jour	24
3.2.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	26
3.2.2. Recherche et dénombrement des Coliformes	27
3.2.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques Fécaux	30
3.2.4. Recherche d'Anaérobie Sulfito-Réducteur (ASR)	31
3.3. Deuxième jour	33
3.3.1. Dénombrement	33
3.4. Troisième jour	34
3.5. Quatrième jour	34

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

1. Paramètres in situ	38
2. Dénombrement bactérienne	38
2.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	38
2.2. Dénombrement des coliformes totaux	39
2.3. Dénombrement des coliformes fécaux	40
2.4. Dénombrement des Streptocoques fécaux	42
2.5. Dénombrement des Anaérobie sulfito-reducteurs	43
3. Résultats d'identification biochimique	44

<b>Conclusion</b>	52
-------------------	----

### **Références Bibliographiques**

### **Annexes**

# *Introduction*

## **Introduction**

L'eau est un élément essentiel au fonctionnement des établissements de santé, mais elle peut constituer une source d'infections graves, en cas de contamination, particulièrement pour les patients les plus fragiles (Chiguer, 2013).

Les effluents générés par l'activité hospitalière peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement compte tenu de la nature et de l'importance des substances spécifiques qu'ils contiennent (résidus médicamenteux, réactifs chimiques, antiseptiques, détergents, révélateurs et fixateurs de radiographies...etc.) et en raison de leur évacuation, au même titre que les rejets urbains classiques, vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable (Darsy *et al.*, .2002).

L'objectif de ce mémoire est de comprendre les caractérisations microbiologiques des effluents des hôpitaux sur la santé humaine.

Dans le présent travail nous présentons une étude sur les eaux usées et les effluents hospitaliers afin, d'une part, de synthétiser les informations nécessaires sur la caractérisation biologique et physique des rejets liquides provenant des établissements de santé de la région de Guelma et, d'autre part, évaluer les risques sanitaires liée à l'utilisation des effluents hospitaliers.

Afin d'atteindre notre objectif, nous avons développé trois chapitres :

- Le premier chapitre comprend deux parties, dont la première comporte des généralités sur les eaux usées et les effluents hospitaliers, leurs caractéristiques biologiques et physiques ; alors que la deuxième partie inclue les risques sanitaires liée à l'utilisation des effluents hospitaliers ; présente
- Le deuxième chapitre présent le protocole d'échantillonnage sur terrain et les méthodes d'analyse microbiologique au laboratoire ;
- Le troisième chapitre particularise la présentation de nos résultats et discussion ;
- Enfin, on termine par une conclusion générale.

# *Chapitre I*

## *Généralités*

## **1. Eaux usées**

### **1.1. Définition**

Les eaux usées résultent de la pollution tant physico-chimique que bactériologique des eaux de consommation de bonne qualité, du fait des activités humaines, qu'elles soient domestiques, industrielles ou agricoles (Belokda, 2009).



**Figure 01** : Exemple d'un rejet des eaux usées (Bengouga, 2010).

### **1.2. Origine**

D'après Rodier (2005), On peut classer comme eaux usées, les eaux d'origine urbaines constituées par des eaux ménagères (lavage corporel et du linge, lavage des locaux, eaux de cuisine) et les eaux vannes chargées de fèces et d'urines ; toute cette masse d'effluents est plus ou moins diluée par les eaux de lavage de la voirie et les eaux pluviales. Peuvent s'y ajouter suivant les cas des eaux d'origine industrielle et agricole (Bengouga, 2010).

En plus des eaux de pluies, les eaux résiduaires urbaines sont principalement d'origine domestique mais peuvent contenir des eaux résiduaires d'origine industrielle d'extrême diversité. Donc les eaux résiduaires urbaines sont constituées par :

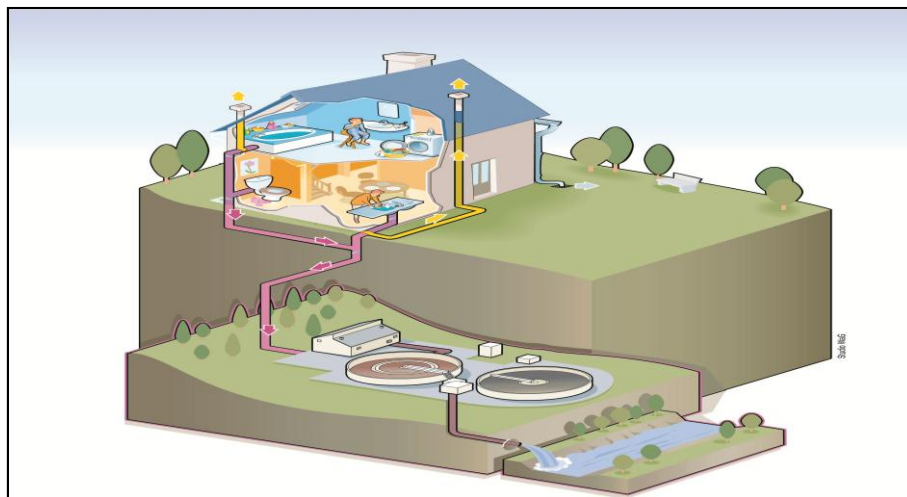
- Des eaux résiduaires ou eaux usées d'origine domestique, industrielle et/ou agricole ;
- Des eaux pluviales ou de ruissellement urbain (Bengouga, 2010).

#### **1.2.1. Origine domestique**

Les effluents domestiques sont un mélange d'eaux contenant des déjections humaines : urines, fèces (eaux de vannes) et eaux de toilette et de nettoyage des sols et des aliments (eaux ménagères). Ces eaux sont généralement constituées de matières organiques dégradables et de

matières minérales, ces substances sont sous forme dissoute ou en suspension. Elles proviennent essentiellement de :

- Des eaux de cuisine qui contiennent des matières minérales en suspension provenant du lavage des légumes, des substances alimentaires à base de matières organiques (glucides, lipides, protides) et des produits détergents utilisés pour le lavage de la vaisselle et ayant pour effet la solubilisation des graisses ;
- Des eaux de buanderie contenant principalement des détergents ;
- Des eaux de salle de bain chargées en produits utilisés pour l'hygiène corporelle, généralement des matières grasses hydrocarbonées ;
- Des eaux de vannes qui proviennent des sanitaires, très chargées en matières organiques hydrocarbonées, en composés azotés, phosphatés et microorganismes (Bengouga, 2010).



**Figure 02 :** Schéma des rejets des eaux usées domestiques (Bengouga, 2010).

### 1.2.2. Origine industrielle

Les déchets et les effluents industriels définissent largement la qualité et le taux de pollution de ces eaux usées. Les industries utilisent une quantité importante d'eau qui tout en restant nécessaire à leur bonne marche, n'est réellement consommée qu'en très faible partie le reste est rejeté (Bengouga, 2010).

On peut néanmoins, faire un classement des principaux rejets industriels suivant la nature des inconvénients qu'ils déversent :

- Pollution due aux matières en suspension minérales (Lavage de charbon, carrière, tamisage du sable et gravier, industries productrices d'engrais phosphatés...etc.) ;

- Pollution due aux matières en solution minérales (usine de décapage, galvanisation...etc.) ;
- Pollution due aux matières organiques et graisses (industries agroalimentaires, équarrissages, pâte à papier...etc.) ;
- Pollution due aux rejets hydrocarbonés et chimiques divers (raffineries de pétrole, porcherie, produits pharmaceutiques...etc.) ;
- Pollution due aux rejets toxiques (déchets radioactifs non traités, effluents radioactifs des industries nucléaires...etc.).

Les eaux résiduaires d'origine industrielle ont généralement une composition plus spécifique et directement liée au type d'industrie considérée. Indépendamment de la charge de la pollution organique ou minérale, de leur caractère putrescible ou non, elles peuvent présenter des caractéristiques de toxicité propres liées aux produits chimiques transportés (Bengouga, 2010).



**Figure 03:** Exemple des eaux usées industrielles (Bengouga, 2010).

### **1.2.3. Origine agricole**

Ce sont des eaux qui ont été polluées par des substances utilisées dans le domaine agricole. Dans le contexte d'une agriculture performante et intensive, l'agriculteur est conduit à utiliser divers produits d'origine industrielle ou agricole dont certains présentent ou peuvent présenter des risques pour l'environnement et plus particulièrement pour la qualité des eaux. Il s'agit principalement :

- Des fertilisants (engrais minéraux ou déjections animales) ;
- Des produits phytosanitaires (herbicides, fongicides, insecticides...etc.).



Donc ces eaux sont l'issus :

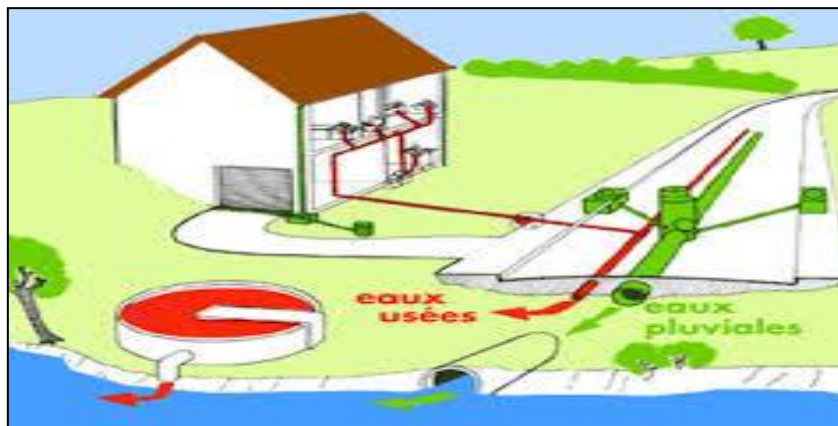
- Des apports directs dus aux traitements des milieux aquatiques et semi aquatiques tels que le désherbage des plans d'eau, des zones inondables et des fossés, ainsi que les étangs et les marais ;
- Des apports indirects dus en particulier à l'entraînement par ruissellement, aux eaux de rinçage des appareils de traitement, aux résidus présents dans des emballages non correctement rincés ou détruits, aux eaux résiduaires des usines de fabrication et de conditionnement (Bengouga, 2010).



**Figure 04** : Exemple des eaux usées agricoles (Bengouga, 2010).

#### **1.2.4. Eaux pluviales**

Normalement les eaux pluviales ne sont pas forcément polluées. Elles ne sont considérées comme des eaux usées que si elles sont mélangées avec des effluents urbains au niveau des égouts. Elles sont de même nature que les rejets domestiques et peuvent contenir en plus des éléments toxiques (Belokda, 2009).



**Figure 05** : Schéma des rejets des eaux pluviales (Bengouga, 2010).

## **2. Effluents hospitaliers**

### **2.1. Définition**

Les effluents hospitaliers sont des liquides spécifiques représentant un risque infectieux ou toxique y sont dilués. Ils ont une qualité proche des eaux usées domestiques avec un volume supérieur. Les effluents classiques sont éliminés dans le réseau urbain, les rejets spéciaux sont traités séparément (Darsy *et al.*, 2002).

### **2.2. Historique**

Depuis fort longtemps, la nécessité de maîtriser les eaux usées pour assurer une hygiène de l'habitat correcte était connue : on retrouve des vestiges de conduits anciens, grecs et romains.

Du XII<sup>ème</sup> au XIV<sup>ème</sup> siècle, les hôpitaux sont implantés hors des villes afin de faciliter l'élimination des eaux et des immondices. Il faut attendre le XIX<sup>ème</sup> siècle, après de nombreuses et graves épidémies de peste et de choléra, pour que toutes les grandes villes se dotent du tout à l'égout. A la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, aux pollutions domestiques et artisanales, s'ajoutent les nouveaux polluants de l'ère industrielle. Une structure hospitalière, quelle que soit sa fonction est "traversée par un grand courant d'eau". A la fin du XX<sup>ème</sup> siècle, les préoccupations du début du siècle sont toujours celles des établissements hospitaliers d'aujourd'hui dont les rejets sont souvent aussi importants que ceux d'une ville (Belokda, 2009).

De nos jours, les grands objectifs de santé publique sont restés les mêmes : prévenir et guérir l'homme contre les nuisances. Cependant, l'évolution des techniques, la nature et la diversité des produits introduits à l'hôpital, les thérapeutiques antimicrobiennes ont considérablement compliqué une réelle connaissance et maîtrise des risques liés aux eaux usées, pour la santé et l'environnement (Belokda, 2009).

### **2.3. Classification des hôpitaux et typologie des rejets liquides produits**

#### **2.3.1. Classification**

La principale fonction d'un hôpital est de fournir des soins de santé à la population d'une communauté. Plusieurs hôpitaux offrent des services autres que des soins de santé. Les Centres Hospitaliers Universitaires (CHU) par exemple, servent de laboratoires d'enseignement et de recherche. Ils accueillent des chercheurs et des étudiants en science de la santé. En absence des considérations spécifiques sur le type de service offert, les activités sont identiques dans presque tous les hôpitaux (Emmanuel, 2004).

Généralement, les hôpitaux fonctionnent 24 heures sur 24 durant les 365 jours de l'année. Leur spécialité est liée aux types de maladies qu'ils traitent. Les différentes pathologies sont réparties en service, c'est ainsi que l'on peut retrouver dans un même hôpital des entités tels que : un service des maladies tropicales et infectieuses (tuberculose, malaria, choléra, SIDA,...etc.), un service psychiatrique, un service de pédiatrie, un service d'obstétrique, un service de gynécologie, un service de gastroentérologie, ...etc. (Emmanuel, 2004).

Les hôpitaux sont obligés de disposer des équipements de base permettant aux patients aussi bien qu'aux personnels de santé et aux visiteurs de satisfaire leurs besoins physiologiques. De ces facilités, on peut citer notamment : les salles de consultations, les salles d'hospitalisation, les cafétérias, les toilettes, les laveries, les salles de repos, les laboratoires, les unités de chauffage et de climatisation, ...etc. (Emmanuel, 2004).

L'ensemble de ces équipements et les différentes activités de l'hôpital nécessitent un approvisionnement en eau potable adéquat et génèrent des eaux usées, des effluents gazeux et des déchets solides. Les déchets solides générés par les hôpitaux peuvent être considérés soit comme des déchets non dangereux, soit comme des déchets dangereux. Approximativement 85% des déchets hospitaliers sont des déchets non dangereux, les 15% restants peuvent être classifiés comme des déchets dangereux. Parmi ces déchets dangereux on peut noter : les déchets chimiques, les radioactifs, les infectieux, et physiquement dangereux, ou une combinaison de ces différents déchets (Emmanuel, 2004).

### **2.3.2. Typologie des effluents liquides hospitaliers**

Les premières sources d'eaux usées dans les hôpitaux sont : les rejets domestiques, les effluents des salles d'opération, les rejets des laboratoires, des services de radiologie, mais aussi les effluents des cafétérias et ceux provenant du nettoyage de la vaisselle. Les établissements hospitaliers produisent trois types de rejets liquides :

- Les rejets d'origine domestique (les eaux provenant des cuisines, les rejets résultant des activités de blanchisserie, de l'hygiène des patients et du personnel) ;
- Les rejets industriels (les eaux provenant des garages et des ateliers contenant le plus souvent un volume important d'huiles et de détergents) ;
- Les effluents générés par les activités de soins, d'analyse et de recherche qui sont très spécifiques aux hôpitaux. Ces rejets peuvent contenir des produits chimiques et radioactifs, des liquides biologiques, des déjections et excréctions contagieuses et

également des résidus de médicaments éliminés dans les excréta des patients (Emmanuel, 2004).

D'une manière plus ou moins exhaustive, les rejets liquides spécifiques aux activités médicales comprennent entre autres:

- Les effluents des services cliniques : élimination des microgouttelettes de mercure issues des thermomètres cassés, bains de dialyse, rejets de la balnéothérapie, ...etc. ;
- Les effluents des services médico-techniques : liquides provenant des salles d'opération ayant une forte concentration en matières organiques ou liquides biologiques tels que : sang, urines, selles, liquide gastrique,...etc. ;
- Les rejets résultant de l'entretien des matériels médicaux et des locaux (contenant de plus ou moins grandes quantités de détergents, de détergents-désinfectants ou de désinfectants avec des traces de matières organiques ou médicamenteuses ;
- Les rejets de laboratoire de biologie médicale : sang, crachats, urines, acides, bases, réactifs divers, solvants...etc. ;
- Les rejets de laboratoire d'anatomo-pathologie : des hydrocarbures benzéniques, des désinfectants, des acides, des bases, des colorants, les rejets de la médecine nucléaire, les effluents de la radiologie et les rejets de la pharmacie hospitalière (Emmanuel, 2004).

### **3. Caractéristiques des effluents hospitaliers et des eaux usées**

#### **3.1. Caractéristiques microbiologiques**

Pour bien appréhender la qualité microbienne d'un effluent hospitalier ou d'une eau usée, il faut connaître les germes présents dans l'environnement de l'établissement. La flore hospitalière est composée :

- Des flores des malades (ou porteurs en incubation, ou convalescents), du personnel soignant, des visiteurs, des écoles paramédicales...etc. ;
- Des germes de l'environnement existant sur les sols, les surfaces, le matériel, l'eau, l'air ...etc. (Jehannin, 1999).

### **3.1.1. Nature**

#### **a. Agents infectieux strictement pathogènes**

Ils sont responsables d'infections contagieuses. Leur réservoir est constitué par les patients atteints de tuberculose, de varicelle, d'infections à méningocoque, de salmonelloses ou du sida (VIH)...etc. (Jehannin, 1999).

#### **b. Agents commensaux de l'homme**

La flore commensale est celle existant "naturellement" chez tous les individus (et les patients secondairement infectés par des germes). Elle est essentiellement composée de bactéries responsables d'infections opportunistes, communautaires ou nosocomiales, non contagieuses mais transmissibles, notamment par les mains et le matériel (Jehannin, 1999).

#### **c. Agents saprophytes**

Ce sont les germes qui vivent sur un hôte sans y provoquer de maladie. Le réservoir de ces germes est le milieu extérieur. Il s'agit principalement de bactéries et de champignons responsables d'infections opportunistes presque uniquement nosocomiales. Ces agents sont non contagieux mais transmissibles par les mains et le matériel (Jehannin, 1999).

### **3.1.2. Coliformes**

Sous le terme de « coliformes » est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae*.

La définition suivante a été adoptée par l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO) : « Bacille à Gram négatif, non sporogène, oxydase négative, facultativement anaérobie, capable de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaire, et capable de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 h, à des températures de 35 à 37 °C » (Bengouga, 2010).

#### **❖ Coliformes totaux**

Les coliformes totaux sont des bacilles Gram négatif aérobies ou anaérobies facultatives. Ils sont capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 h à une température de 35 à 37 °C. Ils sont présents en grand nombre dans les fèces de l'homme et des animaux et il est considéré comme un indicateur du contrôle de la qualité générale de l'eau (Elmoumen, 2010).

Les principaux germes inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*. Presque la totalité des espèces sont non pathogènes et ne

représentent pas de risque direct pour la santé, à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* (Elmoumen, 2010).

#### ❖ Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux ou coliformes thermotolérants sont un sous-groupe des coliformes totaux capable également de fermenter le lactose et de produire l'indole à une température de 44 °C pendant 24h. L'intérêt de leur détection réside dans le fait que leur survie et leur densité sont proportionnelles à celles des bactéries pathogènes.

*Escherichia coli* est la plus dominante des coliformes thermotolérants. Elle est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux à sang (Elmoumen, 2010).

#### 3.1.3. Streptocoques fécaux

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique « D » de Lancefield. Ils sont définis comme étant des cocci sphériques légèrement ovales, Gram positifs. Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes, se développent le mieux à 37 °C et ils possèdent le caractère homoférmementaire avec production de l'acide lactique sans gaz. Il y a 5 espèces reconnues: *S. bovis*, *S. equinus*, *S. avium*, *S. faecalis* et *S. faecium* (Bara, 2016).

#### 3.1.4. Bactéries anaérobies sulfito-réductrices

Ce sont des formes résistantes d'organismes anaérobies (qui n'ont pas besoin d'oxygène pour survivre), dont les plus fréquentes et les plus faciles à mettre en évidence sont les Clostridies. Elles sont normalement présentes dans les sols, rivières et dans les systèmes digestifs des animaux ainsi que dans les matières fécales, mais en plus petites quantités que les *Escherichia coli*. Leur absence est un signe d'efficacité de la filtration naturelle [1].

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont des germes capables de se reproduire et de se maintenir très longtemps dans l'eau sous une forme végétative, leur présence dans l'eau, en l'absence de germes fécaux, peut être interprétée comme un défaut de protection contre la présence d'une flore bactérienne étrangère. Du fait de leur similitude de comportement avec les parasites, les spores constituent un bon indicateur pour ces micro-organismes. En outre, ces formes résistent à la chloration. Ceci explique que pour ce paramètre particulier, ce ne sont pas des bactéries elles-mêmes mais leurs spores qui sont recherchées [1].

### **3.1.5. Germes pathogènes**

Les bactéries pathogènes sont des bactéries qui provoquent un ensemble de troubles spécifiques chez un hôte infecté. Toutes les bactéries sont potentiellement pathogènes. Quand un hôte voit ses défenses immunitaires affectées, même leurs bactéries commensales peuvent provoquer des troubles. C'est le cas, bien sûr, chez les immunodéprimés ou les malades du SIDA, mais aussi à la suite d'une infection virale, au cours du développement de maladies métaboliques (diabète) ou plus simplement pendant des périodes de fatigue ou de stress. La pathologie infectieuse dépend à la fois du germe et du terrain sur lequel elle se fixe et se développe. Les bactéries pathogènes spécifiques désignent des germes qui déclenchent une primo-infection caractéristique chez un sujet sain. Un traitement approprié, appliqué à temps, entraîne une guérison définitive. C'est le cas pour la peste, le choléra, la tuberculose, la syphilis, le tétanos, la diphtérie, la typhoïde, ... etc. [2].

Les bactéries pathogènes opportunistes sont celles qui peuvent entraîner des troubles chez un hôte dont les défenses sont compromises. Une bactérie pathogène, comme le bacille diphtérique, le méningocoque ou *Salmonella typhi*, peut être hébergée par un hôte sans lui occasionner le moindre trouble. Ces hôtes sont dits porteurs sains. Quelquefois ces bactéries résident sur leur hôte après qu'elles l'aient infecté et après guérison (porteurs chroniques), mais souvent, ces bactéries se contentent de se comporter en saprophytes sur leur hôte et font partie de sa microflore "normale» [2].

## **3.2. Caractéristiques physiques**

### **3.2.1. Température**

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, dans la détermination du pH, ...etc. En fonction de leur température optimale de croissance, on classe les microorganismes en plusieurs groupes dont les noms reflètent les divers domaines de tolérance thermique :

#### **a. Psychrophiles et psychrotrophes**

Les psychrophiles (*Bacillus psychrophilus*, *Chlamydomonas nivalis*, ...) sont des microorganismes qui se développent à des températures allant de 0 à 20 °C avec un optimum à 15 °C. Ce sont des microorganismes vraiment adaptés au froid ; on les rencontre peu dans le domaine de l'alimentaire mais plutôt dans les régions froides (comme les régions polaires) [3].

Les microorganismes appartenant au groupe des psychrotrophes sont capables de se développer dans la plage de température allant de 0 à 35 °C avec un optimum de croissance de 20 à 35 °C. Le groupe des psychrotrophes est représenté par de nombreuses bactéries dont les principaux genres sont *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Erwinia*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus* et *Streptomyces*. Notons aussi que les levures et les moisissures sont pour la plupart psychrotrophes [3].

### **b. Mésophiles**

Les mésophiles se multiplient à des températures allant de 20 à 40 °C avec un optimum à 37 °C. Les principaux genres et espèces bactériennes appartiennent au groupe des mésophiles se sont les espèces communes et les espèces pathogènes pour l'homme et l'animal, ils sont pour la plupart des saprophytes naturels. Exemples de mésophiles : *Escherichia coli*, *Salmonelles*, *Staphylocoques*, *Campylobacter*, ...etc. [3].

### **c. Thermophiles**

Les thermophiles sont les microorganismes qui se développent dans des températures allant de 40 à 65 °C avec un optimum à 55 °C. On les retrouve dans le sol, l'eau et même dans les sources thermales. Ils sont représentés surtout dans les genres bactériens *Bacillus* et *Clostridium* et certaines moisissures (*Aspergillus*, *Cladosporium*) [3].

#### **3.2.2. Odeur**

Désagréable, nauséabonde (H<sub>2</sub>S), ces deux caractéristiques peuvent être changées par l'apport de rejets industriels (Rabeh, 2012).

#### **3.2.3. pH**

Le pH est la mesure du caractère acide ( $1 < \text{pH} < 7$ ) ou basique ( $7 < \text{pH} < 14$ ) des eaux usées. En général, l'activité biologique se situe entre 6.5 et 8. En dehors de cet intervalle, le pH affecte la vie aquatique et par conséquent influence l'autoépuration du milieu naturel (Belokda, 2009).

#### **3.2.4. Conductivité**

La conductivité est la propriété que possède l'eau pour favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Elle dépend de la nature de ces ions dissous et de leurs concentrations (Rejsek, 2002).



### **3.2.5. Oxygène Dissous**

L'oxygène dissous est un composé essentiel de l'eau car il permet la vie de la faune et il conditionne les réactions biologiques qui ont lieu dans les écosystèmes aquatiques. La solubilité de l'oxygène dans l'eau dépend de différents facteurs, dont la température, la pression et la force ionique du milieu (Bengouga, 2010).

### **3.2.6. Nutriments**

#### **a. Nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )**

Les nitrates constituent la forme oxydée finale de l'azote. Leur présence dans l'eau atteste d'une bonne récupération en cas de pollution organique. L'activité humaine est indubitable dès que l'on observe des concentrations dépassant 12 mg/l. Les  $\text{NO}_3^-$  peuvent aussi provenir des eaux usées domestiques et parfois même des eaux industrielles (Gueroui, 2015).

#### **b. Nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )**

Considéré comme un élément toxique, le  $\text{NO}_2^-$  est la forme la moins stable dans le cycle de l'azote. Il est issu de la réduction de l'ammonium  $\text{NH}_4^+$ . Son origine est liée à l'agriculture et aux rejets urbains. Le nitrite étant toxique pour l'organisme humain la présence en quantité importante dégrade la qualité de l'eau (Benoughidene et Bouteffas, 2016).

#### **c. L'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ )**

L'ammonium représente la forme ionisée de l'azote ammoniacal, on les trouve souvent à des teneurs variant entre 0.1 et 0.2 mg/l, il n'a pas d'effet appréciable sur la santé des consommateurs, mais sa présence dans l'eau est un indicateur de pollution. L'ammonium doit être éliminé dans les eaux de consommation car c'est un aliment qui peut permettre à certaines bactéries de se proliférer dans les réseaux de distribution (Benoughidene et Bouteffas, 2016).

### **3.2.7. Orthophosphates**

Le phosphore est un élément assez rare mais indispensable à tous les êtres vivants. Il est assimilable par les êtres vivants sous forme oxydée ou sous forme organique dans la nature.

Sa présence dans l'eau est liée aux rejets urbains ou à la dissolution des engrais, et elle favorise la croissance des algues dès que l'eau est exposée à la lumière: phénomène d'eutrophisation. Les teneurs en phosphate varie de 0,3 à 1,81 mg/l et ne dépasse pas les normes de potabilité des eaux (5mg/l) (Gueroui, 2015).

### **3.2.8. Demande biologique en oxygène (DBO)**

Quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder les matières organiques (biodégradables) par voie biologique (oxydation des matières organiques biodégradables par des bactéries). La demande biologique en oxygène (DBO) est un indice de pollution de l'eau qui permet d'évaluer la fraction biodégradable de la charge polluante carbonée des eaux usées (Bengouga, 2010).

### **3.2.9. Demande chimique en oxygène (DCO)**

La demande chimique en oxygène (DCO) est la quantité d'oxygène consommée par les matières existantes dans l'eau et oxydables dans des conditions opératoires définies. En fait la mesure correspond à une estimation des matières oxydables présentes dans l'eau quelque soit leur origines organique ou minérale (Bengouga, 2010).

La DCO étant fonction des caractéristiques des matières présentes, de leurs proportions respectives, des possibilités de l'oxydation. La DCO est la concentration exprimée en  $\text{mg.L}^{-1}$ , d'oxygène équivalente à la quantité de dichromates consommée par les matières dissoutes et en suspension lorsqu'on traite un échantillon d'eau avec cet oxydant dans des conditions définies par la norme (Bengouga, 2010).

### **3.3. Caractérisation des rejets de nature radioactive**

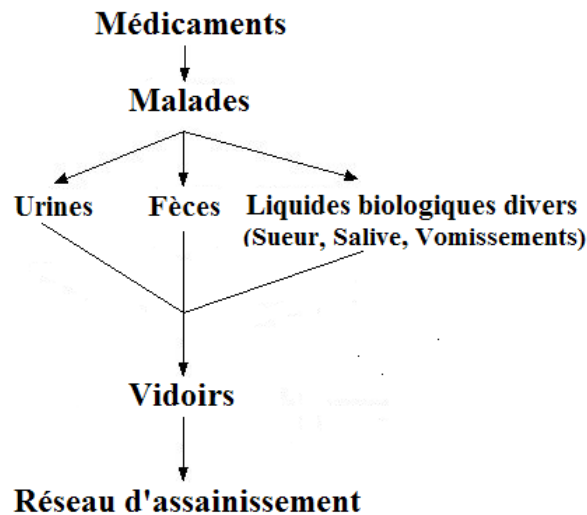
Généralement, les hôpitaux utilisent des sources scellées et des sources non scellées. Les sources scellées utilisées en radiothérapie ne produisent pas de déchets. Par contre, les sources non scellées utilisées dans la recherche biologique et médicale, pour le diagnostic et la thérapeutique produisent des déchets radioactifs dont la nature et l'activité sont très diverses et varient avec l'application qui est fait des radioéléments.

A l'exception, des excréctions des patients qui sont actuellement exemptes de la réglementation sur les déchets radioactifs, la plupart des établissements de santé ne rejettent plus leurs effluents radioactifs dans l'égout. Certaines institutions stockent l'urine des patients avant d'être rejeté à l'égout sanitaire. L'objectif de ces techniques est de réduire la radioactivité du médicament (Emmanuel, 2004).

### **3.4. Caractérisation des rejets médicamenteux**

Les médicaments utilisés dans les établissements de santé sont variés et représentent des quantités importantes. On peut citer à titre d'exemple, les analgésiques, les antipyrétiques, les antibiotiques, les antiviraux, les antifongiques, les immunodépresseurs et les anticancéreux. Les consommations peuvent bien sûr variées suivant l'établissement et les services de soins.

Pour avoir une approche quantitative, il faut se référer aux feuilles de commande adressées à la pharmacie par les différents services de l'hôpital. On distingue deux voies d'élimination des médicaments, la première et la plus conséquente concerne les excréta et les liquides biologiques, la seconde le circuit d'élimination des médicaments non utilisés et du matériel souillé. Le circuit d'élimination des médicaments par les patients peut-être représenté par le schéma suivant :



**Schéma :** circuit d'élimination des médicaments par les patients (Dremont et Hadjali, 1997).

Suivant la voie d'administration du médicament, le médicament est plus ou moins métabolisé par l'organisme et on retrouve donc en partie les médicaments et les métabolites dans le réseau des eaux usés. Pour certains médicaments cela peut poser de graves problèmes de santé publique et d'environnement si aucune précaution n'est prise quant à leur rejet pour les anticancéreux. L'élimination des médicaments non utilisés ou périmés est faite, dans certain cas, via les éviers et les vidoirs des services. Cela est évidemment un cas extrême de négligence mais malheureusement il peut se rencontrer dans certain établissement (Dremont et Hadjali, 1997).

### **3.5. Caractéristiques écotoxicologiques**

Selon Riviere, (1998), l'écotoxicologie est l'étude du devenir des polluants et de leurs effets sur l'environnement de l'homme, c'est-à-dire sur les milieux abiotiques et sur les éléments vivants qui les peuplent.

En effet, les filières de traitement sont évaluées en fonction du taux d'abattement de la charge organique polluante (DCO, DBO5,...etc.), de la teneur en espèces minérales métalliques (métaux lourds,...etc.) et non métalliques ( $SO_4^{--}$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,...etc.) ou bien encore

par la valeur de certains paramètres physico-chimiques (pH, conductivité, potentiel redox,...etc.) (Emmanuel, 2004).

#### **4. Risques sanitaires liés à l'utilisation de l'eau à l'hôpital**

Les principaux risques sanitaires liés à l'utilisation de l'eau dans les établissements de santé sont essentiellement de nature infectieuse et plus rarement toxique. Si la présence de bactéries, de virus et de champignons constituent un risque à court terme, celle de substances toxiques est associée le plus souvent à un risque à moyen et à long terme, hormis le cas des pollutions accidentelles (Chiguer, 2013).

Les micro-organismes responsables d'infections peuvent être saprophytes, opportunistes ou pathogènes selon les cas. Le degré de gravité des manifestations pathologiques liées à l'eau est très variable : il va de gastro-entérites plus ou moins graves et de parasitoses, à des atteintes cutanées ou pulmonaires parfois fatales (Chiguer, 2013).

##### **4.1. Gravité des infections**

La gravité des infections varie selon :

###### **❖ Nature des micro-organismes**

Certains ont une faible dose minimale infectieuse (virus et parasites entériques), il suffit de moins de 1 à 10 unités formant plaque ou colonie pour infecter un individu susceptible. D'autres doivent être présents en quantité beaucoup plus importante pour initier l'infection et la morbidité (bactéries, champignons) (Chiguer, 2013).

De plus, les bactéries contrairement aux virus et aux parasites, sont beaucoup plus sensibles à la désinfection par des produits chlorés, lorsqu'elle est possible et correctement pratiquée, ce qui diminue considérablement le risque d'épidémie due à des agents bactériens (Chiguer, 2013).

###### **❖ Voies d'exposition**

Les principales voies d'exposition sont constituées par : l'ingestion, le contact cutanéomuqueux, l'inhalation d'aérosols contaminés, l'accès parentéral (dialyse), l'utilisation de dispositifs médicaux invasifs et l'état immunitaire des patients exposés (Chiguer, 2013).

## **4.2. Bactéries spécifiques au milieu hospitalier**

### **4.2.1. *Serratia***

*Serratia* est une bactérie appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est rarement pathogène, mais elle est fréquemment présente dans l'environnement hospitalier et certaines souches sont responsables d'infections nosocomiales (infections urinaires, suppurations diverses, septicémies, endocardites...etc.).

La plus connue de ces bactéries est *Serratia marcescens* (anciennement *Bacillus prodigiosus*) est isolée du sol, de l'eau, des aliments, de l'environnement hospitalier et d'échantillons cliniques (Chiguer, 2013).

### **4.2.2. *Citrobacter freundii***

Des bactéries à Gram négatif relativement pathogènes peuvent être trouvées presque partout dans le sol, l'eau, les eaux usées, ...etc., mais aussi dans les intestins humains et animaux. *Citrobacter freundii* est un microbe opportuniste, et souvent provoque des infections opportunistes majeures, c'est-à-dire que la bactérie ne produit pas de symptômes pathologiques humains en bonne santé; cela n'affecte que ceux qui ont un système immunitaire faible et affaibli. Il s'agit de bactéries opportunistes qui peuvent provoquer des infections du système nerveux central chez les nourrissons, notamment des méningites susceptibles d'entraîner la formation d'abcès cérébraux. Le risque de décès est de 30 % et il y a souvent des séquelles neurologiques du système nerveux central à déplorer (grave retard mental, hémiplégie,...etc.). Ce germe peut être aussi responsable d'infections urinaires, d'infections de plaies ou encore de septicémies [4].

### **4.2.3. *Salmonella* et *Shigella***

- ***Salmonella***

*Salmonella* est une bactérie à Gram négatif en forme de bâtonnet, (0,7-1,5 x 2,0-5,0 µm). Appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* (Arsia, 2012), la quasi-totalité des Salmonelles pathogènes pour l'homme appartiennent à l'espèce *Salmonella enterica subspecies enterica* qui comporte plus de 2000 sérotypes. Ils sont généralement mobile grâce à leur ciliatures péritriches et pourvue de flagelles. Cette bactérie est facultativement anaérobie, et sensible à la chaleur (Frobisher, 1976).

Les Salmonelles sont des bactéries entéropathogènes invasives responsables de gastro-entérites et de septicémies (La fièvre typhoïde et paratyphoïde). Leur virulence est liée à une endotoxine située sur la paroi appelée le lipopolysaccharide LPS (Brahmia *et al.*, 2013).

- ***Shigella***

Ces bacilles à Gram négatif, sont immobiles, mais animées de mouvements pendulaires sur place, asporulés, non capsulé, aéro-anaérobie facultatif, appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Les *Shigella* sont des Entérobactéries à tropisme exclusivement digestif, très proche de *Escherichia coli* (> 90 % d'homologie), elles sont les agents d'une maladie diarrhéique aiguë dont la forme la plus complète est représentée par la dysenterie bacillaire (ou la Shigellose). Ces bactéries pathogènes spécifiques du tube digestif, ne se rencontrent que chez l'homme. Elles sont responsables de maladies interhumaines à partir des selles des malades ou des porteurs sains (Brahmia et al. ,2013).

#### **4.2.4. *Klebsiella***

Les *Klebsiella* sont des Entérobactéries immobiles et capsulées. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques : *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella terrigena* et *Klebsiella ornithinolytica*. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*.

Chez l'homme, *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* sont responsables d'infections diverses : infections suppuratives, infections urinaires, infections respiratoires, infections biliaires, infections hépatique, infections intra-abdominales, bactériémies, septicémies. Elles sont responsables d'environ 5 à 10 % des infections nosocomiales [5].

#### **4.2.5. *Enterobacter***

Ce sont des Entérobactéries, bacille à Gram négatif, chimio-hétérotrophe. Les *Enterobacter* présents dans l'environnement, sont également des commensaux du tube digestif. On les rencontre dans les eaux d'égouts, le sol, les produits laitiers. Le genre comprenant plusieurs espèces : *Enterobacter cloacae* est l'espèce type *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter gergoviae* et *Enterobacter sakazakii*.

Ce sont des pathogènes opportunistes responsables en milieu hospitalier surtout, d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses. Certaines souches du genre *Enterobacter* peuvent être responsables d'infections nosocomiales [5].

*Enterobacter aerogenes* est un pathogène opportuniste provoque principalement des infections nosocomiales, étant passé d'un patient à un autre compromis. La plupart des personnes qui développent une infection ont une condition médicale existante qui le rend plus facile pour les bactéries de se développer et se propager, le plus souvent une infection acquise

à l'hôpital, en particulier des patients de l'unité de soins intensifs ou de ventilateurs mécaniques. D'autres facteurs de risque d'infection incluent l'utilisation d'antibiotiques ce qui peut réduire les bactéries naturelles qui sont en concurrence avec *Enterobacter aerogenes*. Cette bactérie affecte plus souvent les nouveau-nés et les personnes âgées. Les bactéries sont souvent partie d'une infection polymicrobienne partager un site d'infection avec d'autres espèces de bactéries [5].

#### **4.2.6. *Aeromonas hydrophila***

*Aeromonas hydrophila* est un bacille Gram négatif facultativement anaérobique, bâtonnet qui mesure entre 0,3 et 1,0 µm de large et entre 1,0 et 3,5 µm de long, La mobilité du bacille est assurée par un unique flagelle polaire. *A. hydrophila* est doté de la capacité de produire des entérotoxines sensibles à la chaleur qui peuvent ou non être associées à des hémolysines et des cytotoxines, qui appartiennent à la famille des *Aéromonadacées* [6].

Le secteur de la santé publique reconnaît *A. hydrophila* comme un agent pathogène opportuniste, on l'a incriminé comme agent pathogène possible de la gastroentérite, de la septicémie, de la cellulite, de la colite et de la méningite, et on l'isole souvent dans des infections de plaies subies en milieu aquatique. On l'a aussi incriminé récemment dans des infections respiratoires [6].

#### **4.2.7. *Vibrio parahaemolyticus***

Appartient à la Famille de *Vibrionaceae*, Bacille à gram négatif, droit ou incurvé en virgule, de 1 à 3 µm, mobile par ciliature polaire, oxydase positive, saccharose négatif, aéro-anaérobie facultatif et halophile [5].

*V. parahaemolyticus* a pour habitat naturel les estuaires et les eaux côtières du monde entier. Cette espèce bactérienne est fréquemment présente dans les sédiments, le plancton, les poissons, les crustacés et les mollusques bivalves, en particulier les huîtres et les moules. La température et la salinité de l'eau jouent un rôle important pour la croissance de *V. parahaemolyticus*. Les densités les plus élevées se rencontrent dans les eaux de température supérieure à 18-20 °C et de salinité intermédiaire entre l'eau douce et l'eau de mer. Les infections à *V. parahaemolyticus* se manifestent dans la grande majorité des cas par une gastro-entérite.

Cette bactérie peut infecter le tube digestif humain. C'est une source majeure d'intoxication alimentaire. Les symptômes incluent: diarrhée, nausées, vomissements, douleurs abdominales et/ou fièvre [5].

#### **4.2.8. Pseudomonas**

Ce sont des bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, oxydase positive, non fermentaires, mobiles par une ciliature polaire (quelques exceptions), respirant ou non les nitrates, oxydant ou non le glucose. Les espèces les plus fréquemment isolées en milieu médical sont : *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*. [5].

#### **4.2.9. Burkholderia**

Ce sont des bacilles Gram négatif droits, mobiles, grâce à un ou plusieurs flagelles polaires ou immobiles (*Burkholderia mallei*) aérobies stricts, catalase positive, oxydase variable selon les espèces. Cependant, on distingue: *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*.

L'espèce type est *Burkholderia cepacia* anciennement appelé *Pseudomonas kingii* et *Pseudomonas multirovans*. *Burkholderia cepacia* est une bactérie phytopathogène (oignon, riz) mais peut se comporter comme un pathogène opportuniste chez les individus aux moyens de défense affaiblis [5].

#### **4.2.10. Staphylocoques**

Les staphylocoques sont des cellules sphérique de 0.5 à 25 um, généralement regroupées en amas, ils sont immobiles et ne forment pas de spores, ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique, il est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (Marchal *et al.* ,1982).

### **4.3. Risque toxique**

Le risque toxique concerne à la fois l'environnement et la santé publique, les eaux hospitalières peuvent être contaminées par des métaux lourds (mercure, argent, chrome, nickel, cobalt...etc.) et par des molécules organiques (solvants, antibiotiques, désinfectants, détergents, médicaments...etc.) Le problème majeur concerne surtout les médicaments anticancéreux qui présentent des risques mutagènes et tératogènes importants (tératogène : qui provoque des malformations congénitales anormaux) (Darsy *et al.* ,2002).

Le risque toxique se caractérise par la présence dans l'eau de substances chimiques en quantité trop importante. Certains paramètres peuvent être source d'inquiétude pour les patients. Ainsi, les nitrates sont souvent cités du fait du retentissement médiatique de leur



présence croissante dans les eaux superficielles ou profondes et c'est avant tout les nitrites qui présentent un danger pour les enfants (méthémoglobinémie).

Aussi, le contexte actuel tend à renforcer la concentration en chlore dans les réseaux de distribution urbains et hospitaliers. Aux teneurs recommandées (de 0,1 à 0,3 mg/L), le risque pour la santé est négligeable et la possibilité de formation de sous-produits toxiques est très limitée. Comme l'action de ces molécules se fait par exposition à long terme, l'impact sur la santé d'un séjour dans un établissement de santé est négligeable (Chiguer, 2013).

# *Chapitre II*

## *Matériel et méthodes*

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université 08 mai 1945.

### 1. Choix des sites

Pour satisfaire les objectifs de la présente étude, trois hôpitaux relativement éloignées les unes des autres ont été choisis dans la région de Guelma, deux se trouvant dans la ville de Guelma, il s'agit de l'hôpital El Hakim Okbi et l'hôpital Ibn Zohr et l'autre se trouvant dans la commune de Boumahra Ahmed et s'agit de E.P.S.P Guelma Chlaghmia Amara (Fig. 06, Tab.01).

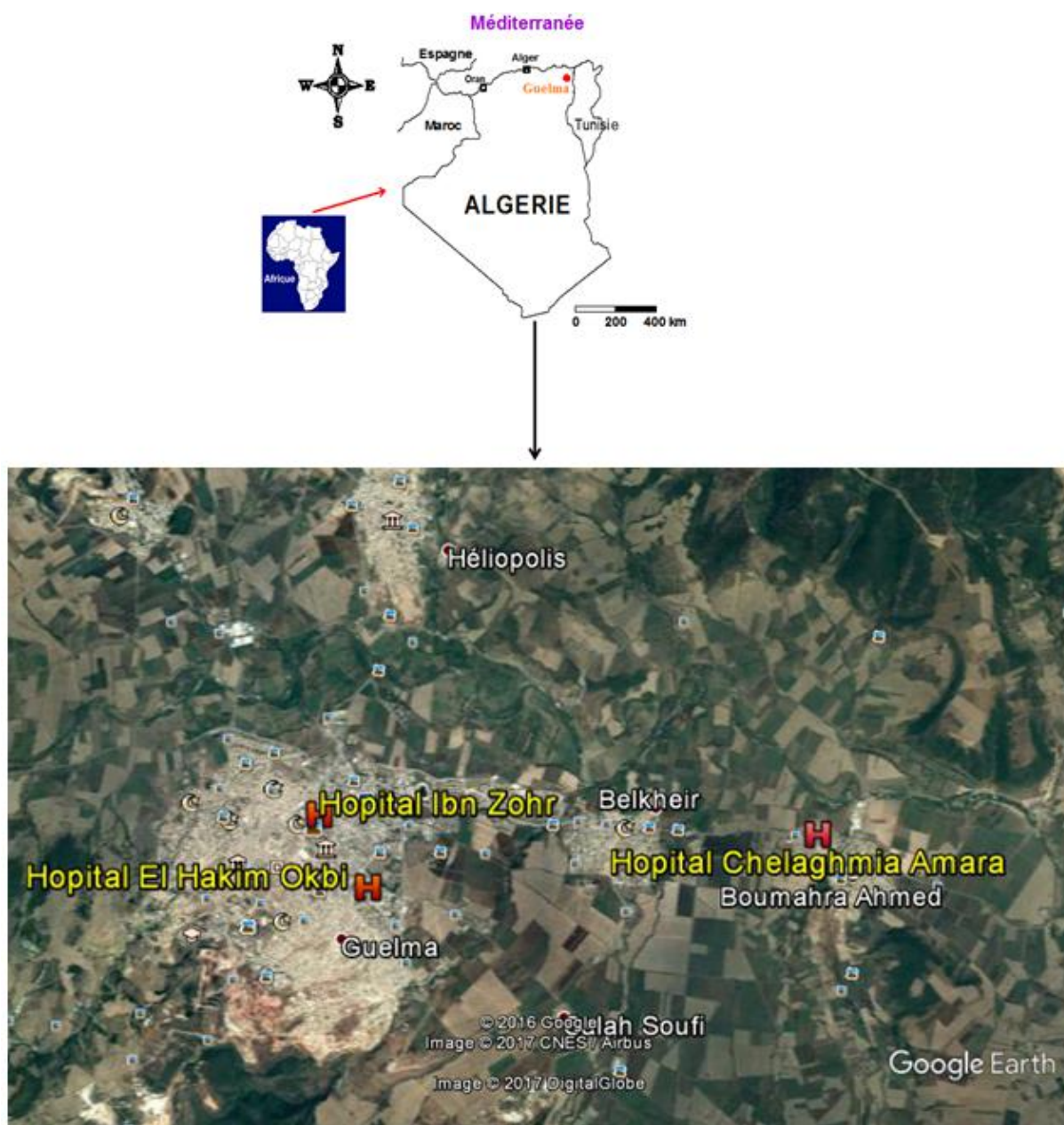


Figure 06 : Situation géographique du site d'étude (modifiée) (Google Earth, 2017).

## 2. Prélèvement

Les prélèvements sont étalés sur une période de deux mois entre Février et Avril, le rythme d'échantillonnage d'un prélèvement est par mois, les prélèvements sont effectués entre 9:15h et 12:00h dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Au niveau de chaque station un prélèvement d'eau a été effectué pour l'analyse bactériologique. Les échantillons sont prélevés à l'aide de flacons en verre pyrex munis de bouchon métallique à vis et stérile de quantité de 250 ml.

**Tableau 01:** Prélèvement des échantillons des effluents hospitalier de la région de Guelma.

Hôpitaux	Ibn Zohr	El Hakim Okbi	Chlaghmia Amara
<b>Prélèvement 1</b>			
<b>Date</b>	Le 19 Février 2017		
<b>Heure</b>	9 :15	12 :00	11 :30
<b>Prélèvement 2</b>			
<b>Date</b>	Le 3 Avril 2017		
<b>Heure</b>	11 :30	09 :30	11 :30
<b>Localisation</b>	Latitude : 36°27'48.95"N	Latitude : 36°27'22.59"N	Latitude : 36°27'51.15"N
	Longitude : 7°25'46.55"E	Longitude : 7°26'7.48"E	Longitude : 7°30'27.67"E
	Élévation : 280 m	Élévation : 286 m	Élévation : 194 m

### 2.1. Méthode de prélèvement

- Identifier les flacons, le nom de chaque hôpital ;
- Port de gants ;
- Le prélèvement doit être sous la surface d'eau ;
- Remplir le flacon et laisser un volume d'air environ 1/10 du volume de flacon ;
- Veiller à ne pas toucher le col et l'intérieur de bouchon avec les doigts et à ne poser le bouchon au sol ;
- Refermer rapidement le flacon ;
- Couvrir le flacon par papier aluminium.

### 2.2. Conservation et le transport

A chaque prélèvement, les flacons doivent être conservés immédiatement dans une glacière portative avec une réserve de froid suffisante pour garder une température inférieure à 4 °C, jusqu'à l'arrivée au laboratoire, il est important de procéder à l'analyse dans un délai très

court, inférieur à 8heures. En aucun cas l’analyse ne doit être effectuée lorsque le délai dépasse 24heures (Bara, 2016).

### 3. Méthode d’analyse

#### 3.1. Paramètres in situ

La mesure des paramètres physiques (Température, pH, Conductivité et Oxygène Dissous) a été effectuée à l’aide d’un multi paramètre de type WTW 350i (Fig. 07).



Figure 07: Multi paramètre de type WTW 350i.

#### 3.2. Premier jour

A partir de chaque prélèvement des trois hôpitaux sélectionnées, prendre 2 gouttes à l’aide d’une pipette pasteur ou anse de platine et l’ensemencer dans les boites de pétri qui contient les milieux de culture. Incuber les boites dans une étuve à 37°C pendant 24 heures (Fig.08).

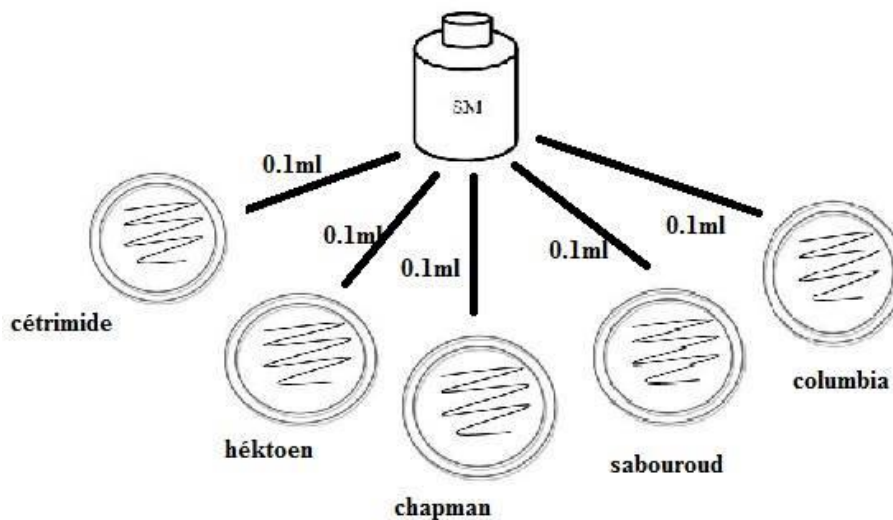


Figure 08 : Ensemencement des différents milieux de culture.

- **Enrichissement des Salmonelles**

Introduire 1ml de l'échantillon d'eau dans un tube de 5 ml de sélénite cystéine. Incuber à 37°C pendant 24h (Fig.09. A).

- **Isolement**

À partir du bouillon d'enrichissement, effectuer des isolements sur le milieu SS. Incuber à 37°C pendant 24h à 48h.

- **Enrichissement des Vibrio**

Ajouter 1ml de l'eau à analyser dans un tube de 5 ml d'E.P.A. Incuber à 37°C pendant 24h (Fig.09. B).

- **Isolement**

Prélever de la surface du milieu d'enrichissement et ensemercer une boîte de GNAB. Incuber à 37° C pendant 24 h.

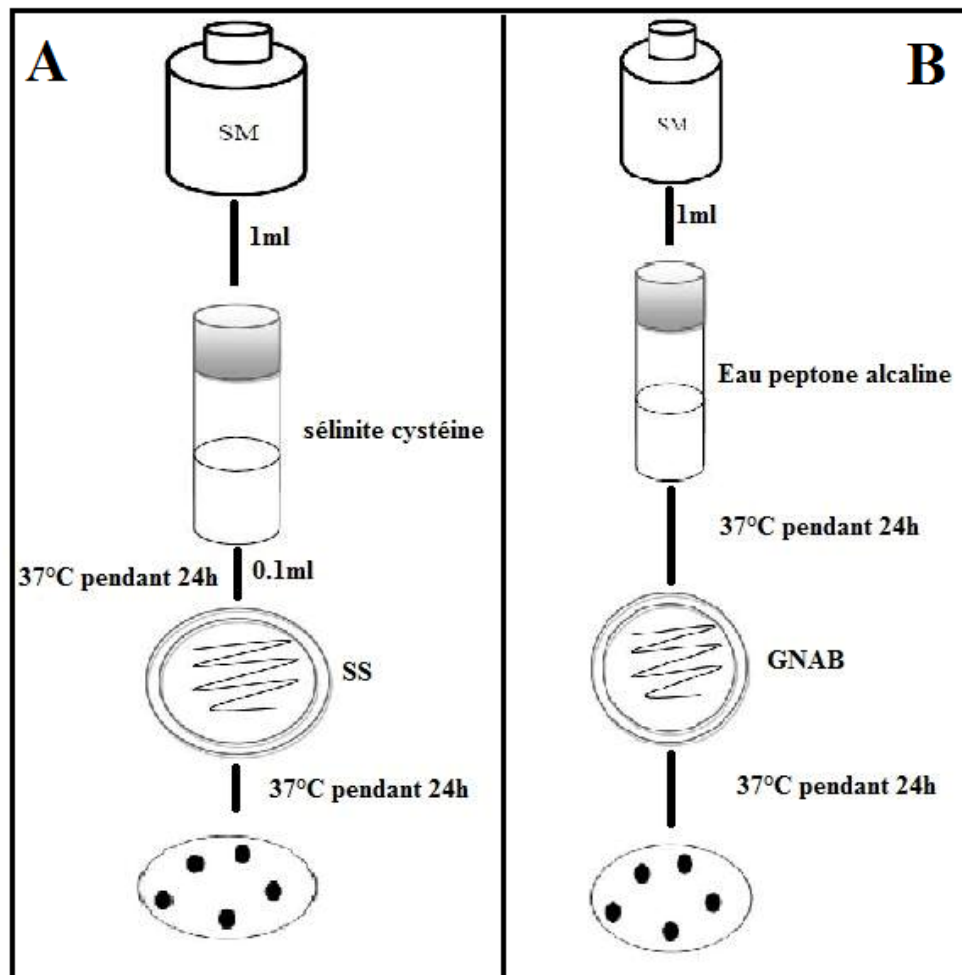


Figure 09 : Enrichissement et isolement du *Salmonella* (A) et du *Vibrio* (B).

### **3.2.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale**

La recherche des micro-organismes aérobies mésophile totale permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle. Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique.

#### **➤ Mode opératoire**

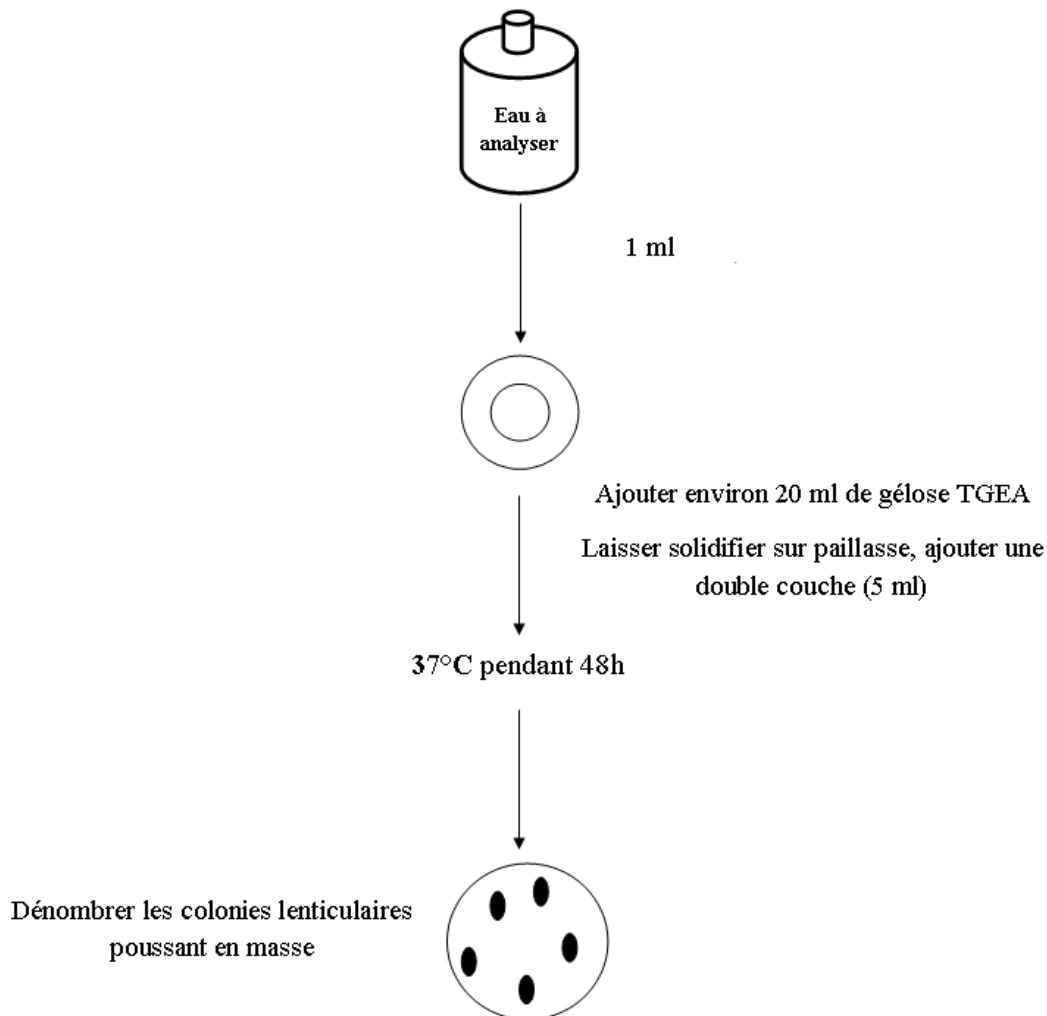
La méthode par incorporation vise à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre des microorganismes, en particulier les bactéries se développant dans les conditions aérobies habituelles de culture. Cette méthode est la plus employée pour les analyses à but sanitaire. La recherche et le dénombrement des germes totaux se réalisent pour cibler les microorganismes mésophiles (37 °C). A partir d'une solution mère (l'eau à analyser), porter aseptiquement une quantité de 1 ml au fond d'une boîte de pétri vide, ensuite, compléter la boîte avec une quantité d'environ 15 à 20 ml de gélose TGEA fondue. Refroidie à 45±2°C.

Laisser le milieu 10 minutes sur la paillasse pour se solidifier, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose. Incuber à 36±2°C, pendant 44±4 heures (Fig.10).

#### **➤ Lecture**

Les germes totaux se présentent dans les boîtes de pétri sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse, pour le dénombrement de ces derniers, on prend en considération les remarques suivant :

- Dénombrer seulement les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Les résultats sont exprimés en unités formatrice de colonie (UFC) par ml d'eau à analyser.



**Figure 10:** Recherche et dénombrement des germes totaux.

### 3.2.2. Recherche et dénombrement des Coliformes

Le dénombrement des coliformes se fait en deux étapes :

➤ **Etape 1 : test de présomption**

A partir de l'eau usée à analyser, porter aseptiquement :

- Trois fois 10 ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche du Durham ;
- Trois fois 1 ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;
- Trois fois 0.1 ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche du Durham ;

Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures (Fig.11).



- **Lecture**

- Un dégagement du gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) ;
- Un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

➤ **Etape 2 : test de confirmation**

Le test de confirmation est basé sur la recherche de Coliformes thermo tolérants. Ces derniers ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44 °C. Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide des tubes contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham. Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 44 °C pendant 24 heures (Fig.11).

- **Lecture**

- Un dégagement du gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia Coli* après addition de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP, le nombre de Coliformes totaux et fécaux sont par 100 ml de l'eau analysé.

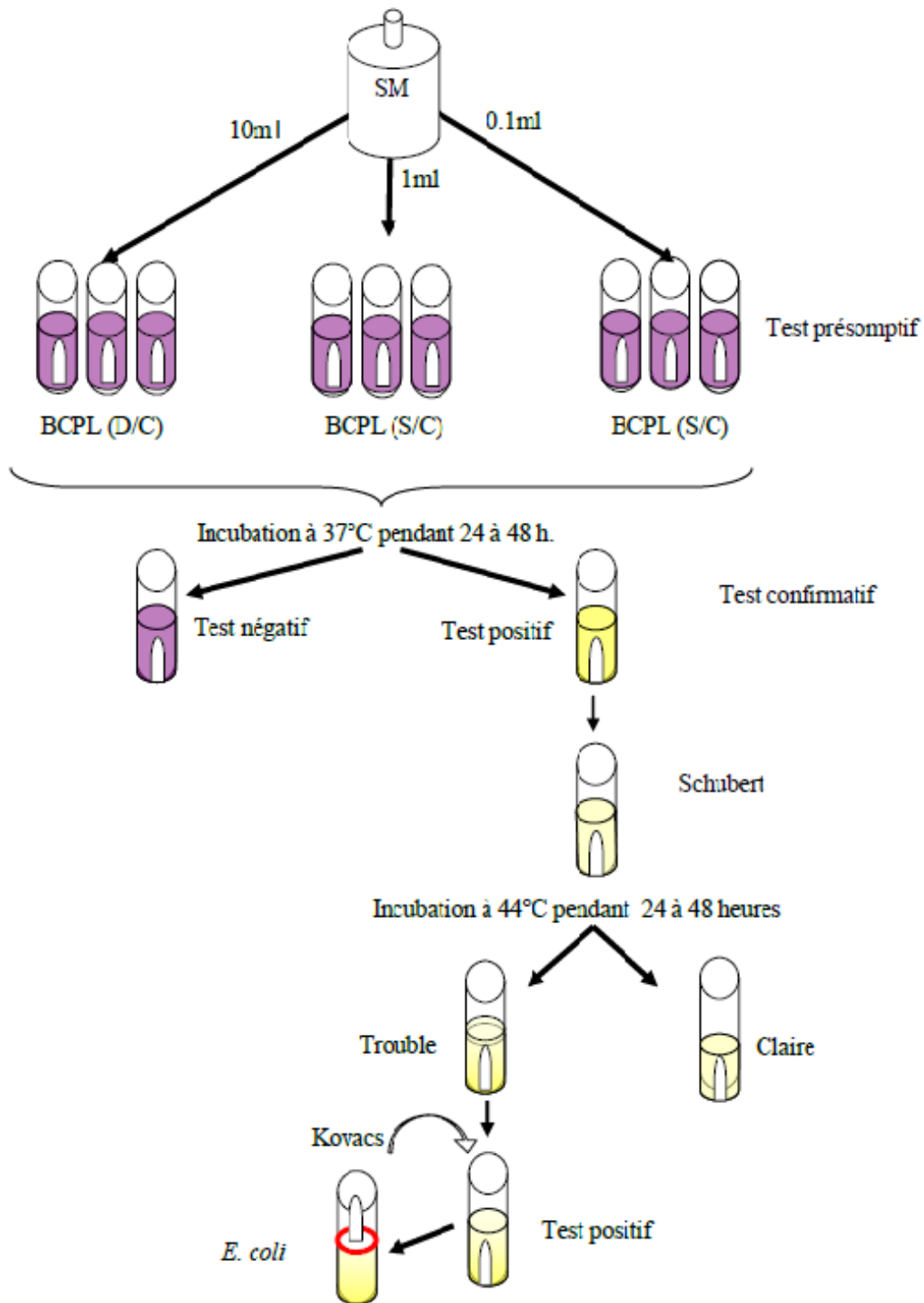


Figure 11: Recherche et dénombrement des coliformes.

**3.2.3 Recherche et dénombrement des Streptocoques Fécaux**

La recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

**➤ Test de présomption**

A partir de l'eau usée à analyser, porter aseptiquement :

- Trois fois 10 ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C ;
- Trois fois 1 ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C ;
- Trois fois 0.1 ml dans trois tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (Fig.12).

**• Lecture**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien, seulement ses derniers doivent absolument faire l'objet d'un repiquage sur milieu LITSKY EVA dans le but d'être confirmés.

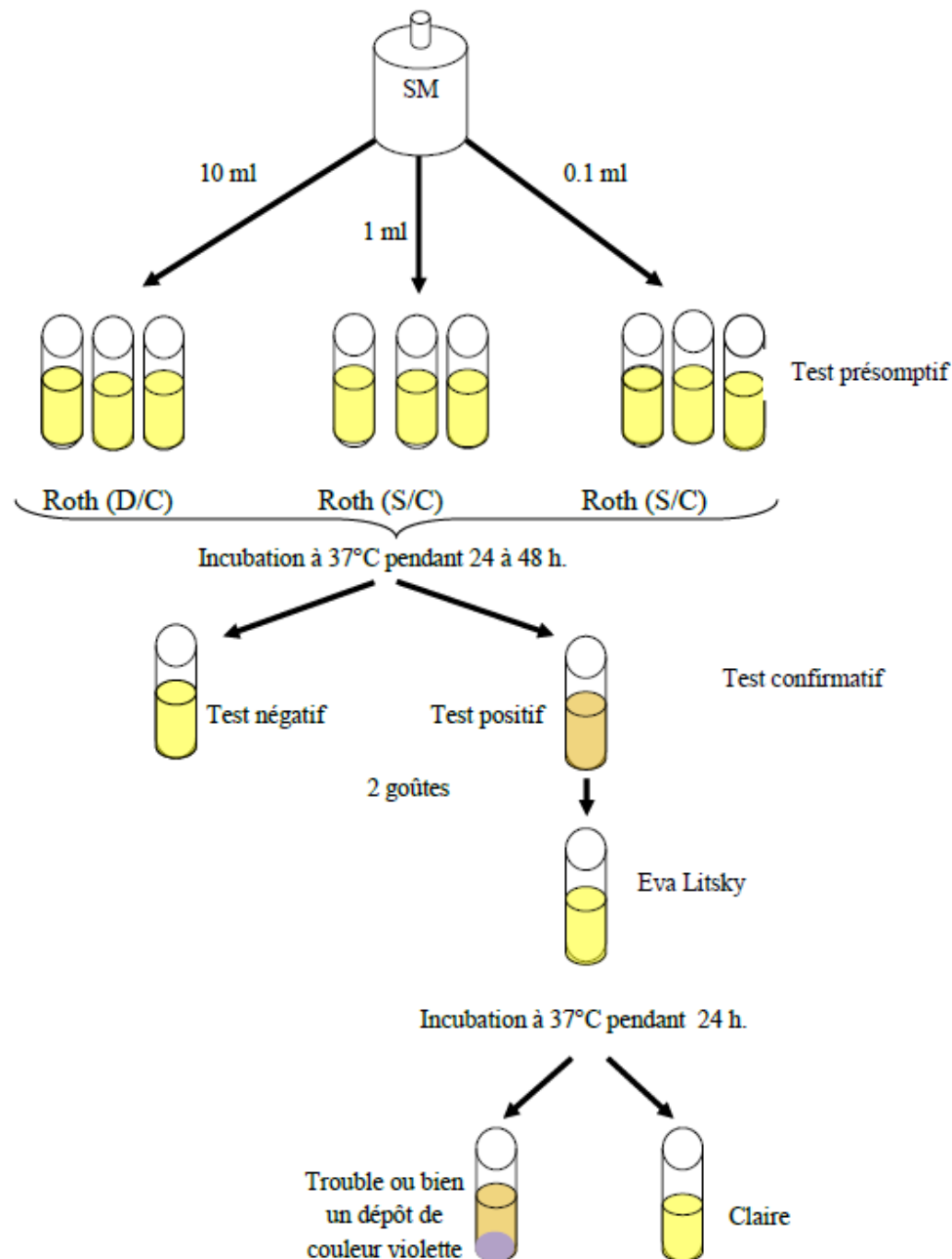
**➤ Test de confirmation**

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption. Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide des tubes contenant LITSKY EVA. Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 37 °C, pendant 24 heures (Fig.12).

**• Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien ;
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes ;
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP, le nombre de Streptocoques fécaux sont par 100 ml de l'eau analysée.



**Figure 12:** Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.

### 3.2.4. Recherche d'Anaérobie Sulfito-Réducteur (ASR)

#### ➤ Préparation de l'eau à analyser

Placer quatre fois 25 ml d'eau usée dans un flacon et chauffer au bain-marie réglé à 80 °C pendant 10 min. Répéter cette opération pour chaque prélèvement. Refroidir rapidement sous courant d'eau et répartir dans quatre tubes stériles à raison de 5 ml par tube.

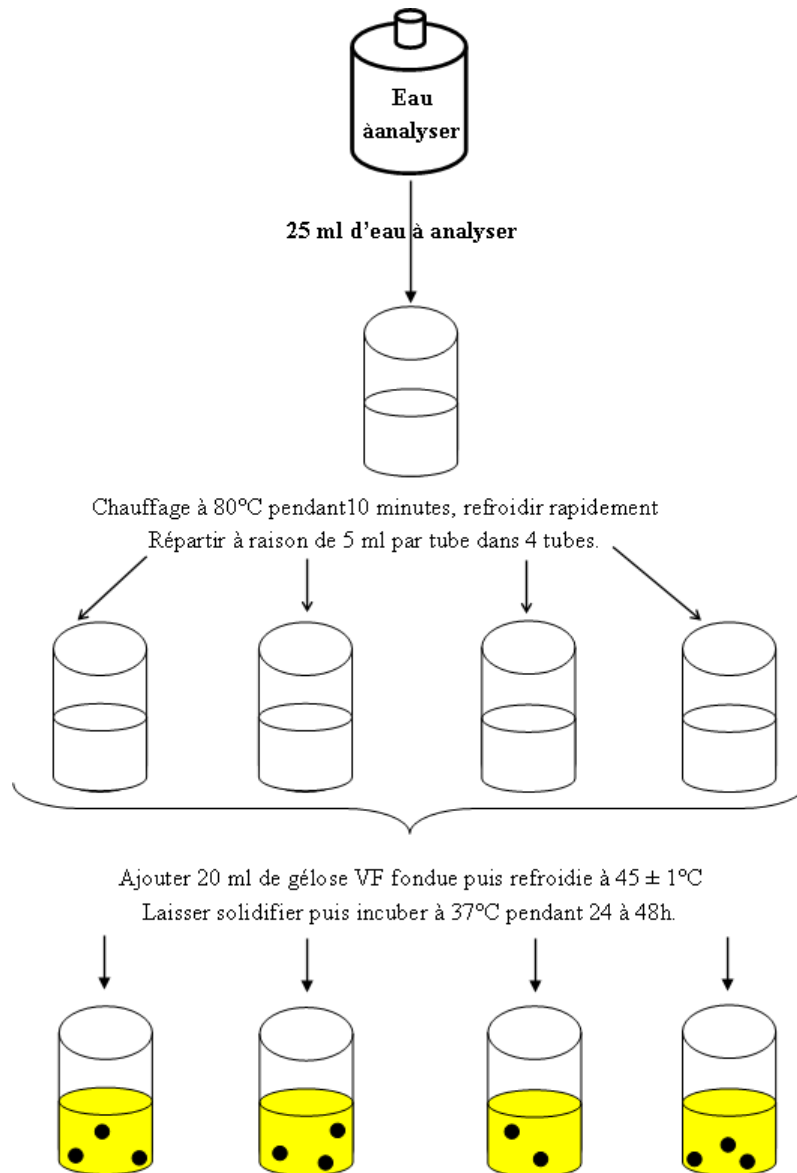
Dans le flacon de gélose Viande Foie (VF) fondue, ajouter 0.5 ml de sulfite de sodium et 4 gouttes d'alun de fer. Remplir les tubes par la gélose jusqu'à 20 ml, mélanger doucement

et ajouter une couche de l'huile de paraffine pour éviter toute introduction d'air, Laisser les tubes 30 min pour la solidification. Incuber dans une étuve à 37°C pendant 46 à 48 heures (Fig.13).

- **Lecture**

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies de ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile et l'analyse sera à refaire en utilisant des dilutions décimales, la deuxième lecture se fera à 24 heures et la dernière à 48 heures.

- Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse ;
- Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser ;
- Certains auteurs préconisent l'identification biochimique de toute colonies suspecte car très souvent il ya développement de colonies de Staphylocoques et de *Bacillus* à coté, qu'on prendrait à tort pour des colonies de *Clostridium* sulfito-réducteur.



**Figure 13:** Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfito-réductrices.

### 3.3. Deuxième jour

#### 3.3.1. Dénombrement

Le dénombrement se fait selon deux types :

- **Dénombrement direct :** par comptage de colonies après ensemencement sur milieu de culture solide.
- **Dénombrement indirect :** par calcul statistique après répartition de l'inoculum dans un milieu de culture liquide.

### 3.4. Troisième jour

- **Repiquage**

- Repérer sur les boîtes de chaque milieu les colonies identiques ;
- Repiquer les colonies identiques sur les mêmes milieux de cultures ;
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures.

### 3.5. Quatrième jour

- Identification des colonies trouvée par la coloration de Gram.

- **L'état frais**

Une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40. Les renseignements obtenus par cette observation concernent principalement la mobilité, la morphologie, le mode de groupement et la quantité approximative de bactéries (Gueroui, 2015).

- **Coloration de Gram**

C'est la coloration de références en bactériologie (Denis *et al.*, 2007), elle permet de diviser le monde des bactéries en deux groupes distincts, mais certaines bactéries peuvent présenter un Gram variable, cette coloration permet en général d'apprécier la pureté des souches bactériennes avant toute identification (Delarras, 2007). Le protocole est le suivant :

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure ;
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté, laisser agir 1 minute ; rincer à l'eau distillé ;
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 seconds ; rincer à l'eau distillée ;
- Recolorer avec de la safranine pendant 10 à 30 seconde ; rincer à l'eau distillée. La safranine peut être remplacée par de la fuchsine de Ziehl diluée au 1/100, 30 seconde à 1 minute ;
- Sécher entre deux feuilles papier filtre puis au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ;
- Observer au microscope à l'objectif 100 à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries Gram positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatif sont colorées en rose (Delarras, 2007 ; Denis *et al.*, 2007).

➤ **Test Oxydase pour Gram négatif**

Sur une lame propre et stérile déposer un disque d'oxydase ensuite préparer une suspension bactérienne à partir de la colonie voulue et déposer une goutte de la suspension sur le disque. Considérer comme oxydase + toute colonie qui changent la couleur du disque en violet (Bara, 2016).

➤ **Test catalase pour Gram positif**

Une goutte d'eau oxygénée puis une colonie prélevée du milieu Chapman déposer sur une lame et le dégagement immédiat de bulles gazeuses ce traduit par la présence d'une catalase (Bara, 2016).

➤ **Test Staphylocoagulase**

A partir des colonies suspectes (*Staphylococcus aureus*), sur milieu Chapman ensemercer un bouillon coeur-cerveau et incuber à 37 °C pendant 18h. Puis mélanger dans un tube stérile 0,5 ml du plasma de lapins oxalatés est incubés à 37 °C pendant 24h (Bara, 2016).

➤ **Recherche des caractères biochimique**

• **Api 20 E**

Api 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La galerie Api 20 E comporte 20 microtubes contenant les substances déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification [7].

• **Api 20 NE**

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des Bacilles à Gram négatif non Enterobactéries et non fastidieux (exp. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*,...etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données.



La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification [7].

- **Api 20 staph**

Api 20 staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données.

La galerie Api 20 staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans Api 20 staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification [7].

- **Api 20 Strep**

Api 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des Streptocoques, Entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants.

La galerie Api 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification [7].

- **Api C AUX**

Api 20 C AUX est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées.

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux témoins de croissance et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification [7].

# *Chapitre III*

## *Résultats et Discussion*

## 1. Paramètres in situ

Les résultats des paramètres in situ sont illustrés dans le tableau. Les valeurs obtenues du pH varient entre 6,9 et 7,85, ce dernier est considéré comme neutre.

La température de l'eau joue un rôle dans l'augmentation des activités chimiques, bactériennes et de l'évaporation de l'eau. Selon les résultats obtenus, la température varie de 15,5 à 19,3 °C comme valeur maximale qui ne dépasse pas 25 °C.

La conductivité est un paramètre important dans la mesure où elle reflète la minéralisation globale de l'eau. Les résultats obtenus montrent des valeurs oscillant entre 1050 et 1215 µs/cm indiquant une minéralisation moyenne des effluents.

L'oxygène est l'un des facteurs fondamentaux de la vie, Il constitue un excellent indicateur de la qualité. Les résultats obtenus de l'oxygène dissous montrent une variation entre 0,5 et 0,69 mg/l indiquant que les effluents sont faiblement oxygénés (Tab.02).

**Tableau 02:** les mesures des paramètres physiques

	<b>Ibn Zohr</b>	<b>El Hakim Okbi</b>	<b>Chlaghmia Amara</b>
<b>pH</b>	7.85	6.90	7.79
<b>Température</b>	15.6	15.5	19.3
<b>Conductivité</b>	1215	1050	1098
<b>Oxygène dissous</b>	0.67	0.5	0.69

## 2. Dénombrement bactérien

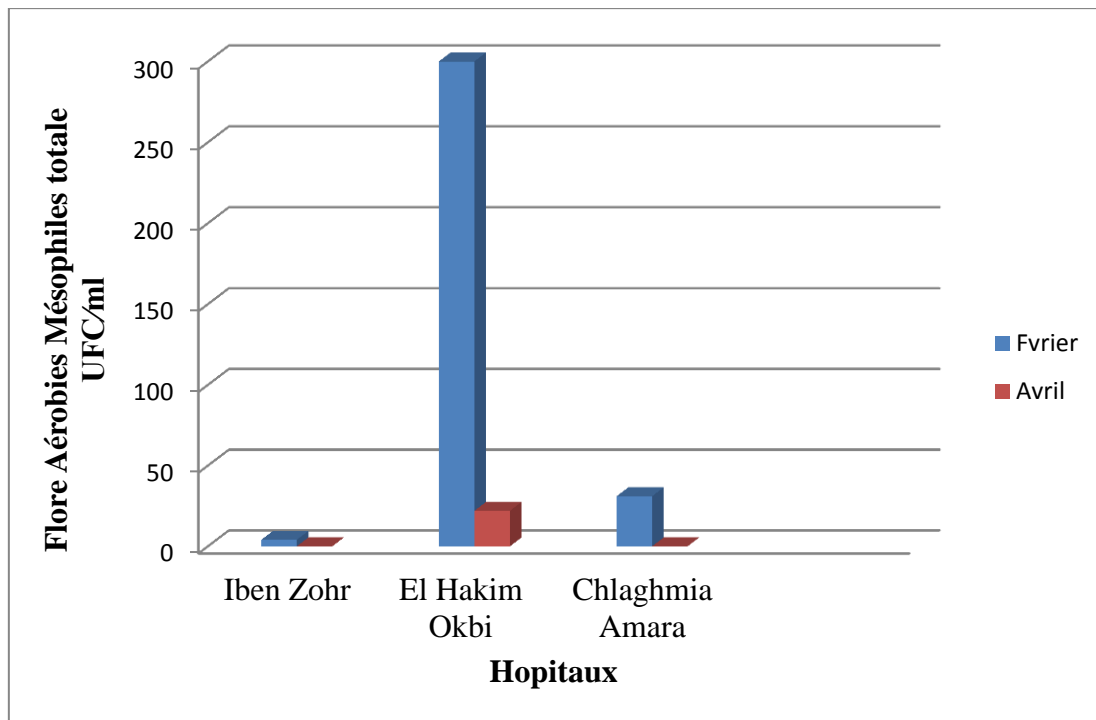
### 2.1. Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale

#### ❖ Premier prélèvement

Les résultats de dénombrement des germes totaux au cours du mois de Février montrent que le nombre de ces bactéries est élevé dans l'hôpital El Hakim Okbi (300 UFC/ml), une valeur de 31 UFC/ml est enregistrée dans l'hôpital Chlaghmia Amara tandis qu'un nombre plus faible (4 UFC/ml) est trouvé au niveau de l'hôpital Ibn Zohr (Fig.14).

#### ❖ Deuxième prélèvement

On remarque que le mois d'Avril enregistre une valeur maximale de 22 UFC/ml au niveau de l'hôpital El Hakim Okbi alors qu'on observe une absence totale des germes totaux pour les deux autres hôpitaux (Fig.14).



**Figure 14:** Variation spatio-temporelle de la Flore Aérobie Mésophile Totale.

D'après les résultats des deux prélèvements réalisés, la charge bactérienne la plus élevée est enregistrée pendant le mois de Février et la plus basse est notée au cours du mois d'Avril.

Le taux des germes totaux dans les effluents hospitaliers est largement important; cela pourrait être dû à l'enrichissement des effluents hospitaliers en matières organiques.

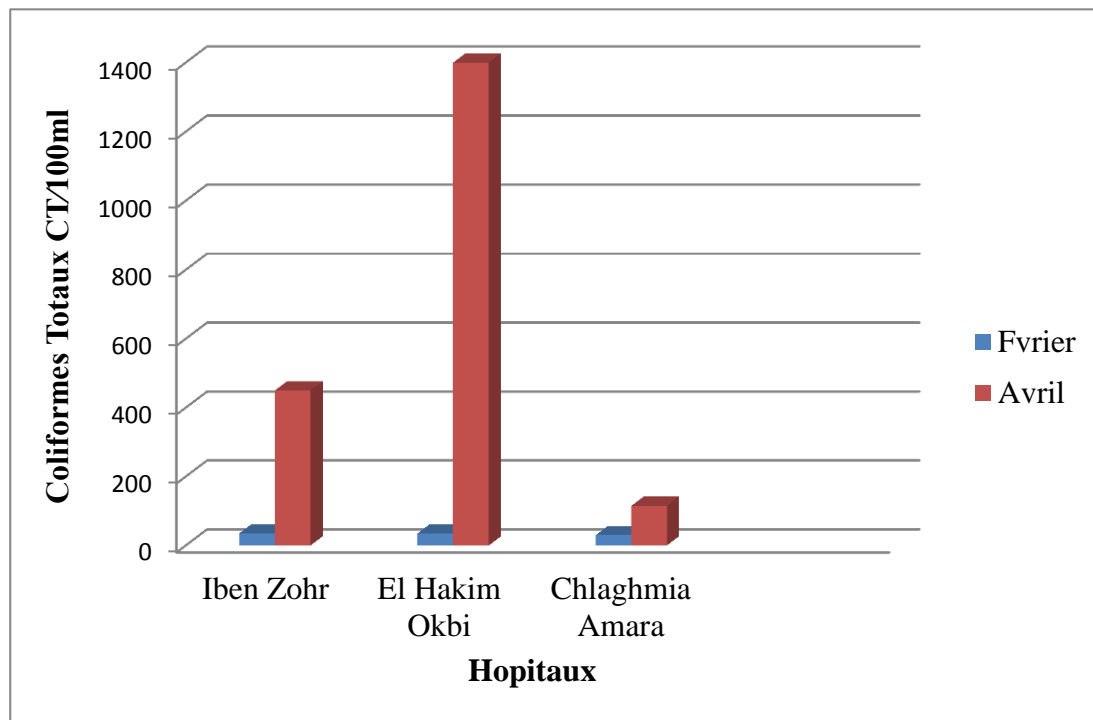
## 2.2. Dénombrement des coliformes totaux

### ❖ Premier prélèvement

Lors du dénombrement des coliformes totaux aux cours du mois de Février, les résultats obtenus de deux hôpitaux El Hakim Okbi et Ibn Zohr sont considérés comme les valeurs maximales (35 CT/100 ml), alors qu'une valeur minimale est enregistrée au niveau de l'hôpital Chlaghmia Amara (30 CT/100 ml) (Fig.15).

### ❖ Deuxième prélèvement

Le nombre des coliformes totaux lors du deuxième prélèvement varie d'une manière très importante entre les trois sites, la charge bactérienne la plus élevée est enregistrée au niveau de El Hakim Okbi (1400 CT/100 ml), un nombre de (450 CT/100 ml) est trouvé dans l'hôpital Iben Zohr et la valeur la plus basse est notée à Chlaghmia Amara (115 CT/100 ml) (Fig.15).



**Figure 15 :** Evolution spatio-temporelle du nombre des Coliformes totaux au niveau des trois hôpitaux.

Donc à partir des deux prélèvements, nous pouvons arriver à une seule conclusion représentée par des valeurs totalement différentes entre les deux mois. Lorsque l'on compare entre les résultats obtenus et les normes de l'OMS et aussi les normes Algériennes, nous notons que nos résultats dépassent les valeurs de ces derniers.

Toutefois, les concentrations de CT montrent une évolution inverse durant les deux mois atteignant des concentrations maximales pendant le mois d'Avril. Cette élévation des concentrations est probablement liée, d'une part à la charge organique marquante favorisant ainsi la croissance des germes dans le milieu, et d'autre part au manque de précipitations. Au cours du mois de Février, les eaux pluviales contribuent à une dilution du milieu et par conséquent une diminution de concentration des germes (Ameziane et Benaabidate, 2012).

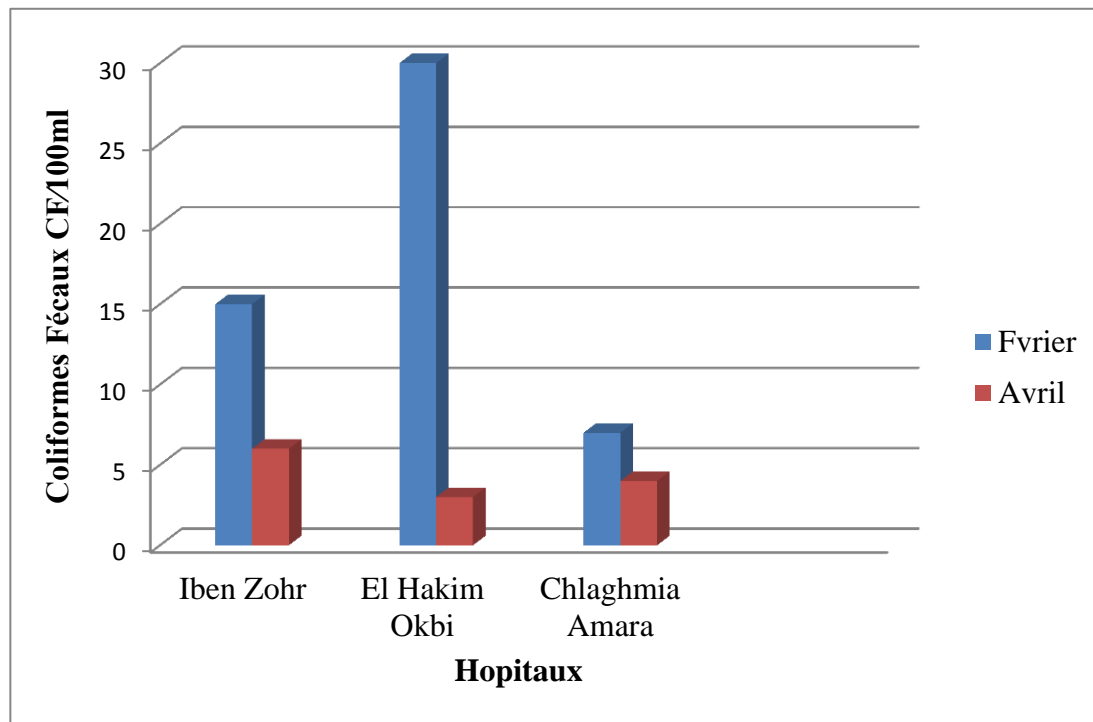
### 2.3. Dénombrement des coliformes fécaux

#### ❖ Premier prélèvement

Concernant le nombre des coliformes fécaux au cours du mois de Février, on remarque que l'hôpital El Hakim Okbi présente une valeur maximale (30 CF/100 ml), alors que l'hôpital Iben Zohr présente une valeur (15 CF/100 ml), et Chlaghmia Amara révèle une valeur de (7 CF/100 ml) considéré comme valeur minimale (Fig.16).

### ❖ Deuxième prélèvement

Pour le mois d'Avril, les résultats obtenus présente une valeur élevée au niveau de l'hôpital Ibn Zohr (06 CF/100 ml), une valeur de (4 CF/100 ml) est notée à Chlaghmia Amara, ainsi qu'une valeur faible au niveau de l'hôpital EL Hakim Okbi (03 CF / 100 ml) (Fig.16).



**Figure 16 :** Evolution spatio-temporelle du nombre des Coliformes Fécaux au niveau des trois hôpitaux.

Sur la base des résultats des analyses effectuées, on remarque que le nombre des coliformes fécaux du mois de Février est plus élevé que le nombre du mois d'Avril. L'OMS et les normes Algériennes fixent une valeur de 0 UFC/100 ml de coliformes fécaux dans les eaux de consommations, nous montre que le nombre dans les eaux analysées dépasse les normes.

La concentration des coliformes fécaux d'un effluent hospitalier pourrait nous renseigner sur le taux d'écotoxicité de cet effluent. Par ailleurs, la concentration en coliformes fécaux a été utilisée comme un indicateur du degré de pollution des eaux par des germes fécaux et considérée comme un indicateur indirect de la présence massive d'antibiotiques et / ou de désinfectants. C'est ainsi qu'on pourrait lier la forte teneur des effluents des hôpitaux étudiés en coliformes fécaux à une faible présence des antibiotiques et / ou de désinfectants dans ces effluents (Ameziane et Benaabidate, 2012).

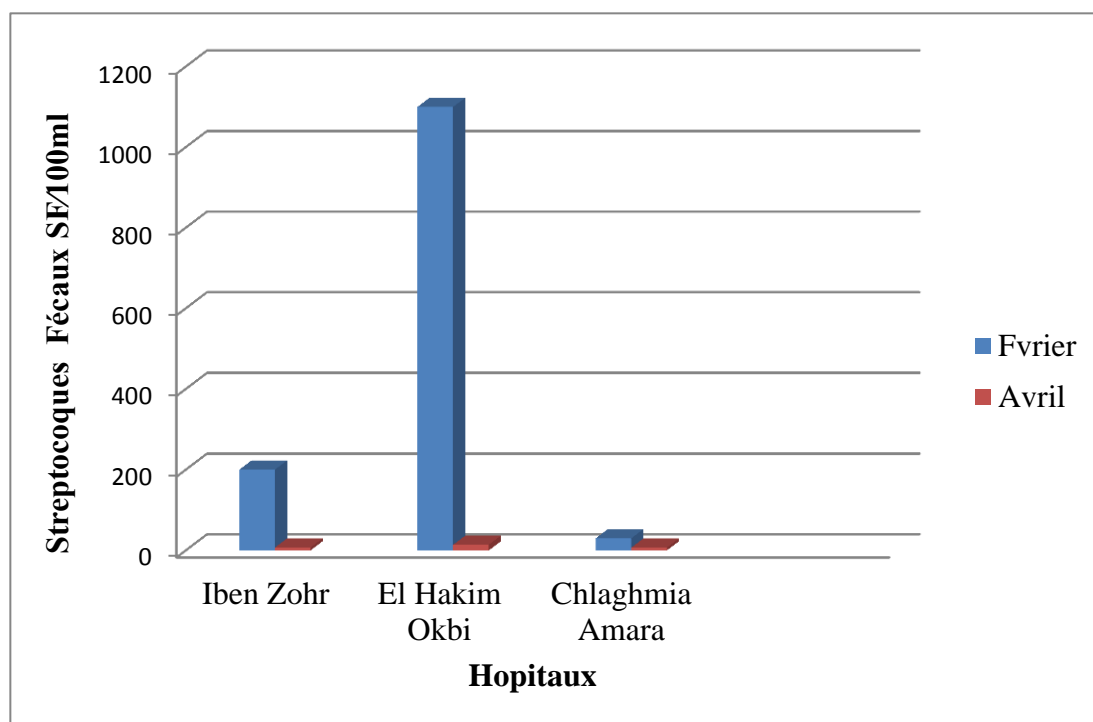
## 2.4. Dénombrement des Streptocoques fécaux

### ❖ Premier prélèvement

Les résultats des analyses microbiologiques d'eau usée de trois hôpitaux différentes montrent des incohérences importantes dans le nombre des streptocoques fécaux où l'on note que l'hôpital El-Hakim Okbi contient 1100 SF/100 ml considéré comme valeur maximal au cours du premier prélèvement, alors qu'une valeur minimale est enregistrée au niveau de Chlaghmia Amara (30 SF/100 ml) (Fig.17).

### ❖ Deuxième prélèvement

Les résultats de dénombrement au cours du mois d'Avril sont plus proches dont l'hôpital Ibn Zohr et Chlaghmia Amara présentent la même valeur (7 SF /100 ml) qui est la valeur faible et une valeur maximale trouvée dans l'hôpital El Hakim Okbi (14 SF/100 ml) (Fig.17).



**Figure 17:** Evolution spatio-temporelle du nombre des Streptocoques fécaux au niveau des trois hôpitaux.

Pour les deux prélèvements, la charge bactérienne en Streptocoques fécaux varie de manière contradictoire dont la grande valeur (1100 SF/100 ml) est enregistrée au cours du premier prélèvement et la petite valeur (7 SF/100 ml) est trouvée pendant le deuxième



prélèvement. Ces valeurs clairement dépassent les normes de potabilité de l'eau notée par l'OMS.

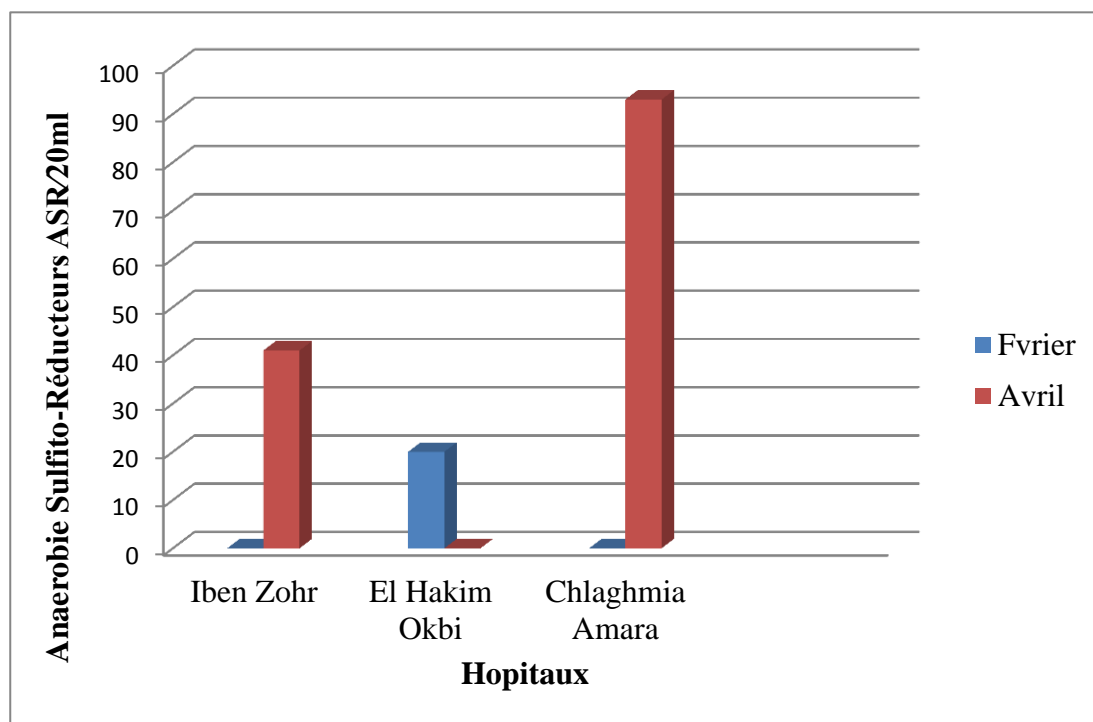
## 2.5. Dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteur (ASR)

### ❖ Premier prélèvement

La recherche des anaérobies sulfito-réducteurs au niveau de l'hôpital Ibn Zohr et Chlaghmia Amara nous a permis de constater une absence totale de ces bactéries, par contre on a révélé une présence au niveau de l'hôpital El Hakim Okbi (20 ASR/20 ml) (Fig.18).

### ❖ Deuxième prélèvement

Au cours du mois d'Avril, les résultats obtenus indiquent une présence des spores d'ASR à l'hôpital Chlaghmia Amara (93 ASR/20 ml) et l'hôpital Ibn Zohr (41 ASR/20 ml), mais ces spores sont indénombrables au niveau de l'hôpital El Hakim Okbi (Fig.18).



**Figure 18:** Evolution spatio-temporelle du nombre des anaérobies sulfito-réducteurs au niveau des trois hôpitaux.

Alors, concernant les deux prélèvements, on observe que le nombre de spores d'ASR au cours du mois d'Avril est très élevé par rapport au mois du Février. Cela montre que l'eau à analyser ont des valeurs supérieures aux normes de potabilité (0 ASR/20 ml).

Pour les Anaérobies sulfito-réducteurs, c'est un groupe composé de microorganismes anaérobies sporigènes, présents dans les fèces en bien moins grand nombre qu'*Escherichia coli*, leurs spores peuvent survivre dans l'eau beaucoup plus longtemps que les coliformes et ils résistent à la désinfection, cette résistance pourrait expliquer leur concentration dans les effluents hospitaliers (Ameziane, 2009).

### 3. Résultats d'identification biochimique

- **Api 20 E**

L'Api 20E est un panneau biochimique pour l'identification et la différenciation des membres de la famille des *Enterobacteriaceae*, grâce au tableau ci-dessous qui contient 14 espèces, nous pouvons conclure que *Serratia ficaria* est la bactérie la plus répandue dans les trois hôpitaux pendant le mois de Février et dans l'hôpital Ibn Zohr pendant le mois d'Avril. Alors que la plupart des bactéries qui restent sont moins répandues (Tab.03).

Parmi les bactéries pathogènes nous citons :

- ✚ ***Shigella spp.***

Le pouvoir pathogène des Shigelles est principalement lié à leur pouvoir d'envahir l'épithélium rectal et d'induire une intense réaction inflammatoire de la muqueuse, ce sont des bactéries dites entéro-invasives (Brahmia *et al.*, 2013).

- ✚ ***Proteus penneri***

Un pathogène nosocomial connu avec un potentiel pathogène sous-estimé. Les infections nosocomiales peuvent affecter n'importe quelle partie du corps, mais les infections des voies respiratoires sont les plus fréquentes, suivies d'infections de ligne centrale, d'infections urinaires et de plaies infections [5].

- ✚ ***Citrobacter freundii***

Des bactéries opportunistes qui peuvent provoquer des infections du système nerveux central chez les nourrissons, notamment des méningites susceptibles d'entraîner la formation d'abcès cérébraux. Le risque de décès est de 30 % et il y a souvent des séquelles neurologiques du système nerveux central à déplorer (grave retard mental, hémiplégie,...etc.). Ce germe peut être aussi responsable d'infections urinaires, d'infections de plaies ou encore de septicémies [4].

Tableau 03: Résultats de l'identification par la galerie API 20E.

Période	Février			Avril		
	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara
<i>Shigella spp</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Serratia Plumuthyca</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Proteus penneri</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Serratia ficaria</i>	+	+	+	-	+	-
<i>Rahnella aquatilis</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Providencia stuartii</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Klebseilla oxytoca</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Serratia odorifera</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Salmonella choleraesuis spp arizonae</i>	-	-	-	-	-	+
<i>Salmonella spp</i>	-	-	-	-	-	+

(+) présence ; (-) absence

#### ✚ *Serratia marcescens*

C'est une bactérie " pathogène opportuniste ", responsables de nombreuses infections nosocomiales transmises lors de divers gestes infirmiers : poses de sondes, de cathéters, liquides contaminés utilisés pour des soins locaux ou en injection [8].

#### ✚ *Klebsiella oxytoca*

Chez l'homme, *Klebsiella oxytoca* est responsable d'infections diverses : infections suppuratives, infections urinaires, infections respiratoires, infections biliaires, infections hépatique, infections intra-abdominales, bactériémies, septicémies. Elle est responsable d'environ 5 à 10 % des infections nosocomiales [5].

#### ✚ *Providencia stuartii*

Les souches de *P. Stuartii* peuvent produire des infections causées par des plaies et des brûlures. Cette espèce est également associée à la diarrhée, aux infections des voies urinaires, aux infections de plaie et à la brûlure, aux bactériémies et aux maladies de la volaille [5].



**Figure 19** : Identification biochimique par Api 20 E de l'espèce *Serratia plymuthyca*.

- **Api 20NE**

Après l'ensemencement d'une galerie biochimique Api 20 NE, on trouve 10 espèces dans les trois hôpitaux pour le prélèvement réalisé pendant les deux mois Février et Avril. Les espèces trouvées : *Weeksella virosa*, *Shewanella putrefaciens*, *Chryseobacterium indologenes*, *Methylobacterium mesophilicum*, sont les plus répandues pour les trois hôpitaux El Hakim Okbi, Ibn Zohr et Chlghmia Amara pendant le mois de Février, par contre la bactérie *Aeromonas hydrophila* est une bactérie aussi la plus trouvée au niveaux de trois hôpitaux mais pendant le mois d'Avril.

A partir du tableau ci-dessous, on observe que les bactéries *Delftia acidovorans*, *Burkholderia cepacia*, *Achromobacter xylosoxydans*, *Pseudomonas fluorescens* sont les moins répandues dans les trois hôpitaux pendant les deux mois (Tab.04).

**Tableau 04:** Résultats de l'identification par la galerie API 20NE.

Période	Février			Avril		
	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara
<i>Delftia acidovorans</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Weeksella virosa</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Shewanella putrefaciens</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Burkholderia cepacia</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Achromobacter xylosoxydans</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	+	+

(+) présence ; (-) absence

Parmi les bactéries pathogènes nous citons :

#### ✚ *Chryseobacterium indologenes*

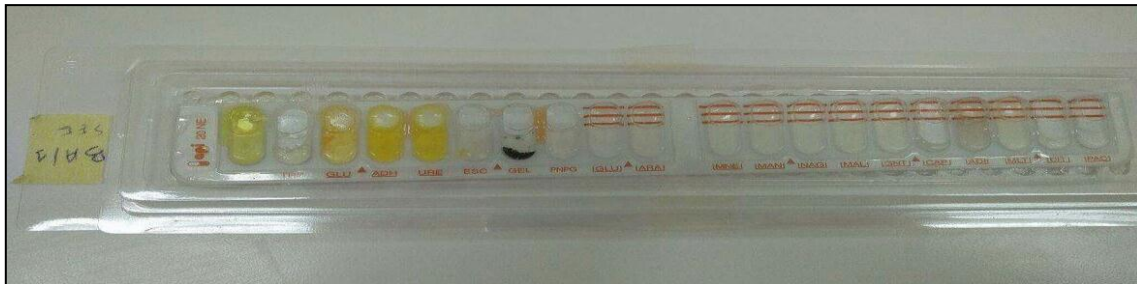
Est un agent pathogène rare dans la microflore humaine. Presque La moitié des cas publiés se réfèrent à des infections nosocomiales, et la grande majorité des patients ont eu conditions sous-jacentes de l'immunodéficience humaine [5].

#### ✚ *Aeromonas hydrophila*

Est une bactérie qui appartient à la famille des *Aéromonadacées*, un agent pathogène opportuniste de la gastroentérite, de la septicémie, de la cellulite, de la colite et de la méningite [6].

**✚ *Shewanella putrefaciens***

Bactérie ubiquiste et pathogène opportuniste de plus en plus souvent isolé dans les prélèvements d'origine clinique. Elle est responsable d'infections cutané-muqueuses, de suppurations profondes et de bactériémies. L'interprétation de l'isolement de *S. putrefaciens* dans un échantillon clinique est délicate car cette bactérie peut n'être qu'un simple contaminant bactérien [5].



**Figure 20:** Identification biochimique par Api 20NE de l'espèce *Delftia acidovorans*.

- **Api 20 staph**

L'étude biochimique réalisée par le système bioMérieux Api staph nous a permis d'identifier seulement deux espèces bactériennes : *Staphylococcus lentus* et *Staphylococcus xylosus*. Nous constatons une présence majoritaire de l'espèce *Staphylococcus lentus* pendant les deux mois dans les trois hôpitaux, contrairement à l'espèce *Staphylococcus xylosus* qui est présente seulement dans l'hôpital Ibn Zohr pendant le mois d'Avril (Tab.05).

**Tableau 05:** Résultats de l'identification par la galerie API 20 Staph

Période	Février			Avril		
Points	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara
<i>Staphylococcus lentus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus xylosus</i>	-	-	-	-	+	-

(+) présence ; (-) absence



Figure 21: Identification biochimique par Api Staph de l'espèce *Staphylococcus lentus*.

- **Api 20 strep**

Après l'identification par la galerie Api 20 strep, nous avons identifié trois espèces qui sont : *Aerococcus viridans*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus avium*, deux espèces sont les plus répandues: *Enterococcus gallinarum* pendant le mois d'Avril dans l'hôpital El Hakim Okbi et Ibn Zohr, et *Aerococcus viridans* pendant le mois de Février dans l'hôpital El Hakim Okbi et Chlaghmia Amara (Tab.06).

Tableau 06: Résultats de l'identification par la galerie API 20 strep

Période	Février			Avril		
	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara
<i>Aerococcus viridans</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Enterococcus gallinarum</i>	-	-	-	+	+	-
<i>Enterococcus avium</i>	-	-	-	-	-	+

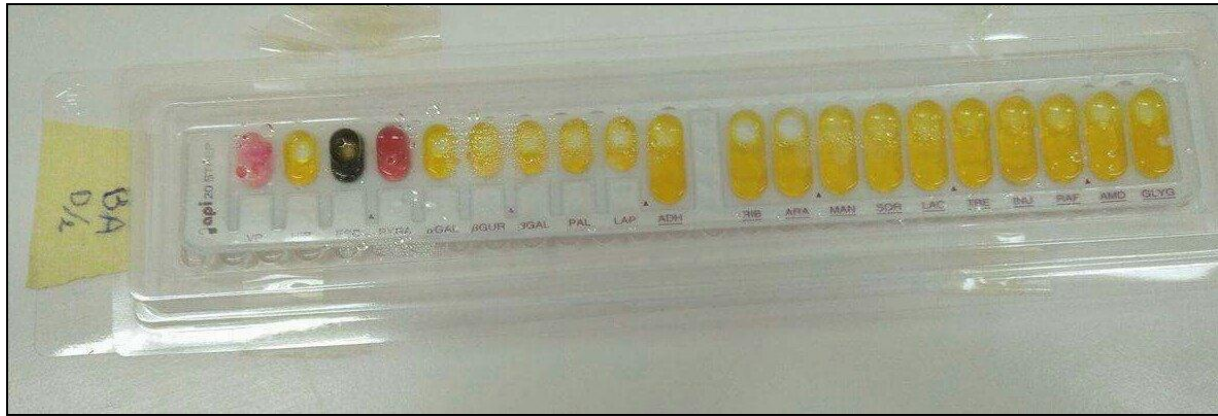
(+) présence ; (-) absence

Parmi les bactéries pathogènes nous citons :

- ✚ ***Aerococcus viridans***

Bactérie isolée chez des patients atteints de méningite, d'endocardite et de bactériémie associée à une granulocytopenie ainsi que chez des patients séropositifs pour le virus de l'immunodéficience humaine. Les bactéries du genre *Aerococcus* sont des pathogènes opportunistes qui touchent surtout les patients vulnérables [6].





**Figure 22:** Identification biochimique par Api Strep de l'espèce *Aerococcus viridans*.

- **Api 20 c aux**

Api 20 C AUX est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées. Nous a permis d'identifier 7 espèces bactériennes, dans lesquelles *Candida boidinii* est la bactérie la plus fréquente au niveau de l'hôpital El Hakim Okbi et Ibn Zohr pendant le mois d'Avril, alors que la plupart des levures qui reste sont moins répandues (Tab.07).

Parmi les bactéries pathogènes nous citons :

- ✚ ***Trichosporon mucoides***

*Trichosporon mucoides* est l'espèce la plus fréquemment isolée du revêtement cutané humain. Elle est aussi incriminée chez l'immunodéprimé et dans les septicémies. Elle a été trouvée responsable de pneumopathies chez les patients qui ont une hypersensibilité [6].

- ✚ ***Cryptococcus albidus***

Elle a été impliquée dans des infections pulmonaires, des méningites, des infections chez le dialysé [5].

**Tableau 07:** Résultats de l'identification par la galerie API 20 C Aux.

Période	Février	Avril
---------	---------	-------



Points	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara	El Hakim Okbi	Ibn Zohr	Chlaghmia Amara
<i>Cryptococcus terreus</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Trichosporon mucoides</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Geotrichum klebahnii</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Candida boidinii</i>	-	-	-	+	+	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	-	-	-	-	-	+
<i>Candida magnoliae</i>	-	-	-	-	-	+

(+) présence ; (-) absence



Figure 23: Identification biochimique par Api 20 C Aux des espèces : **A** :*Cryptococcus albidus*, **B** :*Trichosporon mucoides* , **C** :*Cryptococcus terreus*

# *Conclusion*

## CONCLUSION

Notre travail est consacré à l'étude de la caractérisation microbiologique des effluents hospitaliers de la région de Guelma : cas de l'hôpital El hakim Okbi, Ibn Zohr et E.P.S.P Guelma Chlaghmia Amara.

Les résultats obtenus ont révélé que les effluents hospitaliers présentent une pollution assez élevée. Cela est dû d'une part par des produits toxiques, matières organiques plus ou moins diluées, désinfectants plus ou moins concentrés avec des traces médicamenteuses et liquide biologique (le sang, les déchets de l'hémodialyse...etc.), d'autre part par l'absence d'un traitement de désinfection qui sert à la destruction des germes pathogènes.

Nos résultats d'analyse microbiologique basée sur le dénombrement des germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux et les anaérobies sulfite-réducteurs révèlent des concentrations très élevées. La comparaison de la qualité microbiologique de ces eaux avec les normes de l'OMS et les normes Algériennes montre qu'ils ont dépassé les normes de potabilité.

Selon l'identification biochimique réalisée par les différents systèmes BioMérieux (Api système), on a pu trouver 36 espèces différentes certaines d'entre elles ne sont pas pathogènes alors que d'autres sont considérées comme des germes pathogènes et peuvent provoquer des risques sanitaires inquiétants.

Enfin, nous pouvons conclure avec certaines recommandations pour une meilleure gestion des hôpitaux au niveau de la wilaya de Guelma, de faire :

- Un réseau séparatif des eaux usées, eaux pluviales, si le réseau urbain est lui-même de type séparatif ;
- Récupération et élimination contrôlée des produits toxiques radioactifs et génotoxiques ;
- Ouvrages de prétraitement dont l'installation peut être subventionnée par les agences de l'eau :
  - Dégrillage pour retenir les déchets solides évacués accidentellement (à évacuer eux-mêmes avec les déchets à risque) ;
  - Dégraissage pour retenir les graisses des eaux usées de cuisine ;
- Les déchets des médicaments doivent être obligatoirement incinérés.

*Références  
bibliographiques*

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Ameziane, N. (2009):** La problématique des déchets hospitaliers au niveau de la ville de Meknès (Maroc) entre gestion et impact sur l'environnement et la santé humaine. Mém. DESA, Fac. Sc. Meknès.38.

**Ameziane, N.E. et Benaabidate, L. (2012) :** Caractérisation microbiologique des effluents de l'hôpital Mohamed V de Meknès et étude de leur impact sur l'environnement. Revue « Nature & Technologie ». C- Sciences de l'Environnement, n° 10/Janvier 2014. p 31.

**Association Régionale de Santé et d'identification Animales (ARSIA) (2012) :** Plan d'action Salmonelles, lutte contre les Salmonelles zoonotiques chez les poulets de chair et les dindes d'engraissement, France, p37.

**Bara, Y. (2016) :** Etude comparative de la qualité physicochimique et bactériologique de l'eau du barrage de hammam debagh avant et après traitement cas de la station de traitement de hammam debagh – Guelma. Mémoire de Master, Université 8 mai 1945, Guelma, Algérie, p 89.

**Belokda, W. (2009) :** Contribution à une gestion des effluents liquides hospitaliers. Mémoire de Master, Université Chouaib Doukkali El Jadida, Maroc.

**Bengouga, K. (2010) :** Contribution à l'étude du rôle de la végétation dans l'épuration des eaux usées dans les régions arides. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider, Biskra.

**Bouteffas, W. et Benoughidene, S. (2016) :** Contribution à l'étude de la qualité physicochimique et bactériologique de quatre sources d'eau dans le bassin de Guelma. Mémoire de Master, Université 08 mai 1945, Guelma, Algérie, p96.

**Brahmia, I., Aouadi, F.Z. et Boussaha, A. (2013) :** La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles et les shigelles dans la région de Guelma. Mémoire de Master, Université 08 mai 1945, Guelma, Algérie, p60.

**Chiguer, M. (2013) :** La qualité microbiologique des eaux a l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Souissi, Maroc, p154.

**Darsy, C., Lescure I., Payot, V et Rouland, G. (2002) :** Effluents des établissements hospitaliers : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues. Office international de l'eau, service national d'information et de documentation sur l'eau (snide), limoges, France.

**Delarras, C. (2007) :** Microbiologie pratique pour le laboratoire. Paris, Edition TEC& DOC, p476.

**Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Bingen, E., Quentin, R. (2007):** Bactériologie médicale. Paris, Masson, France, p594.

**Elmoumen, F. (2010) :** Caractérisation et conséquences environnementales de la charge polluante des eaux usées de la ville de Tiznit (Maroc). Mémoire, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, p 35.

**Emmanuel, E. (2004) :** Evaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques Lies aux effluents hospitaliers. Thèse de doctorat, L'institut national des sciences appliquées de Lyon, Lyon, France, p 247.

**Frobisher, F. (1976) :** Microbiologie clinique. Edition : HRW, p507.

**Gueroui, Y. (2015) :** Caractérisation hydrochimique et bactériologique des eaux souterraines de l'aquifère superficiel de la plaine de Tamlouka (Nord-Est Algérien).Thèse de doctorat, Université 8 mai 1945, Guelma, Algérie, p200.

**Jehannin, P. (1998-1999) :** Caractérisation et gestion des rejets liquides hospitaliers. Mémoire de fin d'études, Ecole Nationale de la Santé Publique, p 71.

**Hadjali, R. et Dremont, C. (1997) :** La gestion des effluents liquides en milieu hospitalier. Mémoire de Master, Université de technologie de compiegne, p30.

**Marchal, N., Bourdon, J. L. et Richard, C. (1982) :** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.

**Rabeh, A.A. (2012) :** Elimination des métaux lourds (Cd, Pb, Cr, Zn et As) des eaux usées industrielles et naturelles par le procédé d'infiltration-percolation.

**Rejsek, F. (2002) :** Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. SCEREN-CRDP Aquitaine, Biologie technique-environnement, Bordeaux. p360.

### **Webographie**

[1] : <http://www.laease.com/eau-anaerobies.html>

(Consulté le 25/04/2017,21:38h)

[2] : [http://www.ecosociosystemes.fr/bacteries\\_pathogenes.html](http://www.ecosociosystemes.fr/bacteries_pathogenes.html)

(Consulté le 20/05/2017,20:16h)

[3] : <https://www.3trois3.com/forum/diahrees-porcelets-lactation-difficiles>

(Consulté le 20/05/2017,22 :08h)

[4] : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resistlacta/POLY.Chp.5.html>

(Consulté le 27/04/2017 ,22 :56h)

[5] : [microcsb.net/IMG/pdf/doc-38.pdf](http://microcsb.net/IMG/pdf/doc-38.pdf)

(Consulté le 07/05/2017 ,15 :36h)

[6] : [publications.gc.ca/collections/collection\\_2013/sc-hc/H129-29-2006-fra.pdf](http://publications.gc.ca/collections/collection_2013/sc-hc/H129-29-2006-fra.pdf)

(Consulté le 07/05/2017,21 :14h)

[7] : <http://www.biomerieux.com/>

(Consulté le 21-05-2017,18 :35h)

[8] : [www.labovialle.com/.../267-bacteriemie-a-serratia-marcescens-les-causes-dune-epide](http://www.labovialle.com/.../267-bacteriemie-a-serratia-marcescens-les-causes-dune-epide)

(consulté le 19/05/2017,21:30h)





# *Annexes*

## Annexe 01 : La composition des milieux de culture.

### 1. Milieux liquides

#### 1.1. Bouillon lactose au pourpre de bromotémol (BCPL)

##### Double concentration (D/C)

▪ L'extrait de viande de bœuf.....	2g
▪ Pourpre de bromocrésol.....	0,06g
▪ Peptone .....	14g
▪ Lactose.....	10g
▪ Eau distillée.....	1000ml
▪ pH .....	6,9 +/-0,2

Autoclaver pendant 15 minutes à 120°C

##### Simple concentration (S/C)

▪ L'extrait de viande de bœuf.....	1g
▪ Peptone de caseine.....	7g
▪ Lactose.....	5g
▪ Pourpre de bromocrésol 1% .....	0,03g
▪ Eau distillée.....	1000ml
▪ pH.....	6,9 +/- 0,2

Autoclaver pendant 20 minutes à 120°C

#### 1.2. Milieu de Schubert

▪ Tryptone.....	10g
▪ Peptone.....	10g
▪ Acide Glutanique.....	0.2g
▪ Tryptophane.....	0.2g
▪ Sulfate de Magnésium.....	0.7g
▪ Sulfate d'Ammonium.....	0.4g
▪ Chlorure de Sodium.....	2g
▪ Citrate de Sodium.....	0.5g
▪ Mannitol.....	7.5g
▪ Eau distillée.....	1000 ml
▪ pH.....	7,6

### 1.3. Milieu de Rothe

#### Double concentration (D/C)

▪ Peptone de caseine.....	40g
▪ Extrait de viande.....	3g
▪ Glucose .....	8g
▪ Chlorure de sodium.....	8g
▪ Phosphate dipotassique.....	5.4g
▪ Phosphate mono potassique.....	5.4g
▪ Azide de sodium.....	0.4g
▪ Eau distillée.....	1000ml
▪ pH.....	9,6 +/- 0,1

Autoclavage pendant 20 min à 120°C

#### Simple concentration (S/C)

▪ Peptone de caseine.....	20g
▪ Extrait de viande .....	1.5g
▪ Glucose .....	4g
▪ Chlorure de sodium.....	4g
▪ Phosphate dipotassique.....	2.7g
▪ Phosphate mono potassique .....	2.7g
▪ Azide de sodium.....	0.2g
▪ Eau distillée.....	1000 ml
▪ pH.....	9,6 +/- 0,1

Autoclavage pendant 20 min à 120°C

### 1.4. Milieu d'Eva Litsky

▪ Tryptone.....	20g
▪ Glucose.....	5g
▪ Chlorure de sodium.....	5g
▪ Phosphate mono potassique.....	2.7g
▪ Azide de sodium .....	0.3g
▪ Solution d'éthyle violet.....	5g
▪ Eau distillée.....	1000 ml
▪ pH .....	6,8 à 7

Autoclavage pendant 20 min à 120 °C

### 1.5. Milieu Sélénite Cystéine

▪ Tryptone.....	5g
▪ Lactose .....	4g
▪ Phosphate disodique.....	10g
▪ Hydrogénosélénite de sodium .....	4g
▪ L-cystine.....	10g
▪ pH.....	7 +/- 0,2

## 2. Milieux solides

### Gélose Viande foie

▪ Base viande foie.....	20g
▪ Glucose.....	0.75g
▪ Amidon.....	0.75g
▪ Sulfite de sodium .....	1.2g
▪ Carbonate de sodium.....	0.67g
▪ Agar agar.....	11g
▪ Eau distillée .....	1000 ml

Dissoudre les constituants, répartir en tubes ou en flacons, Autoclave (15 min à 120°C)

### Gélose chapman

Pour 1 litre de milieu :

▪ Tryptone.....	5,0 g
▪ Peptone pepsique de viande .....	5,0 g
▪ Extrait de viande .....	1,0 g
▪ Mannitol .....	10,0 g
▪ Chlorure de sodium .....	75,0 g
▪ Rouge de phénol .....	25,0 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

### Gélose hektoen

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande.....12,0 g
- Extrait autolytique de levure .....3,0 g
- Lactose.....12,0 g
- Saccharose .....12,0 g
- Salicine..... 2,0 g
- Sels biliaires ..... 9,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium .....5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal .....1,5g
- Bleu de bromothymol ..... 65mg
- Fuchsine acide ..... 40mg
- Agar agar bactériologique ..... 13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.

### **Gélose sabouraud**

Pour 1 litre de milieu :

- Dextrose .....40,0 g
- Digestat pancréatique de tissus animaux..... 5,0 g
- Digestat pancréatique de séine.....5.0g
- Chloramphénicol.....50 mg
- Gélose..... 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,6 ± 0,2

### **Gélose cétrimide**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique .....20.0g
- Cétrimide..... 0.3g
- Chlorure de magnésium.....1.4g
- Sulfate de potassium..... 10.0g
- Agar agar bactériologique.....13.6g

- Glycéol..... 10.0ml

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,6 ± 0,2

### **Gélose columbia**

Pour 1 litre de milieu :

- Mélange de peptones .....23,00g
- Amidon..... 1,00g
- Chlorure de sodium..... 5,00g
- Sulfate de colistine..... 0,01g
- Acide nalidixique..... 0.015g
- Agar..... 15,00g
- Sang de cheval ou de mouton .....70 ml

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2

### **Gélose SS**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande .....5.0g
- Extrait de viande..... 5.0g
- Lactose..... 10.0g
- Sels biliaires..... 8.5g
- Citrate de sodium .....10.0g
- Thriosulfate de sodium..... 8.5g
- Citrate ferrique ammoniacal..... 1.0g
- Rouge neutre..... 25.0g
- Vert brillant..... 0.33g
- Agar agar bactériologique..... 15.0g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0± 0,2

## **TGEA**

- Tryptone.....5g
- Glucose.....1g
- Extrait de levure.....2.5g
- Gélose.....15g
- Eau distillée.....1000ml

pH = 7, autoclavage 20 minutes à 120°C.

**1. Réactif TDA** : Pour la recherche du tryptophane désaminase.

- Perchlorure de fer..... 3.4g
- Eau distillée..... 1000 ml

**2. Réactif IND** : Pour la recherche d'indole.

- Paradiméthylaminobenzaldéhyde..... 5g
- Alcool isoamylique..... 75ml
- HCL 37%..... 25ml

**3. Réactif de Voges-Proskauer (VP)** : Pour la recherche de l'acétoïne.

**VP1 :**

- Hydroxyde de potassium..... 40g
- Eau distillée..... 1000 ml

**VP2 :**

- Alpha naphthol..... 6g
- Ethanol..... 100ml

**4. Réactif Kowacks** : La mise en évidence de la production d'indole.

- Butanol-1 ..... 50 – 70 %
- Eau ..... 10 – 30 %
- Acide Hydrochlorique..... 10 – 25 %
- Diméthylamino-p-Benzaldéhyde..... 0 – 20 %

**5. Réactif de Griess pour les nitrates**

**NIT 1**



- Acide sulfalinique..... 0.8g
- Acide acétique 5 N..... 100ml

**NIT 2**

- N-N-diméthyl-1-naphtylamine .....0.6g
- Acide acétique 5 N .....100ml

### **Violet de gentiane**

- Violet de gentiane.....1g
- Ethanol à 90% .....10ml
- Phénol..... 2g
- Eau distillé .....100ml

### **Lugol**

- Iode .....1g
- Iodure de potassium .....2g
- Eau distillé .....300ml

### **Fuschine**

- Fuschine basique.....1g
- Alcool éthylique .....100ml

### **Annexe04 : Table NPP.**

<b>Nombre caractéristique</b>	<b>Nombre de cellules</b>
-------------------------------	---------------------------

3 tubes de 10ml	3 tubes de 1 ml	3 tubes de 0.1 ml	NPP dans 100 ml
0	0	1	3
0	1	0	3
0	1	1	6
0	2	0	6
1	0	0	4
1	0	1	7
1	0	2	11
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
1	2	1	15
1	3	0	16
2	0	0	9
2	0	1	14
2	0	2	20
2	1	0	15
2	1	1	20
2	1	2	30
2	2	0	20
2	2	1	30
2	2	2	35
2	2	3	40
2	3	0	30
2	3	1	35
2	3	2	40
3	0	0	25
3	0	1	40
3	0	2	65
3	1	0	45
3	1	1	75
3	1	2	115
3	1	3	160
3	2	0	95
3	2	1	150
3	2	2	200
3	2	3	300
3	3	0	250
3	3	1	450
3	3	2	1100
3	3	3	1400

**Annexe 05** : Normes de potabilité de l'eau.

Paramètres microbiologiques	Unités	Valeurs limites	
		Algérie	OMS

Germes aérobies revivifiables à 22 °C et à 37 °C	UFC/ml	/	/
Coliformes totaux	CT/100 ml	/	10
Coliformes fécaux	CF/100 ml	0	0
Streptocoques fécaux	SF/100 ml	0	0
Anaérobie-sulfiteo-réducteurs	ASR/120ml	0	0

**Annexe 06 : Résultats des analyses microbiologiques.**

<b>Analyse</b>	<b>Période</b>	<b>Février</b>	<b>Avril</b>
----------------	----------------	----------------	--------------

	<b>Station</b>	<b>IZ</b>	<b>HK</b>	<b>BA</b>	<b>IZ</b>	<b>HK</b>	<b>BA</b>
	<b>Germes Revivifiables à 37°C</b>	04	>300	31	00	22	00
	<b>Coliformes Totaux</b>	35	35	30	450	1400	115
	<b>Coliformes Fécaux</b>	15	30	07	06	03	04
	<b>Streptocoques Fécaux</b>	200	1100	30	07	14	07
	<b>Anaérobie sulfito- reducteur</b>	00	20	00	41	ID	93