

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

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

Thème : Isolement et Identification des microorganismes provenant des douches publiques

Présenté par : - ADJEB Zineb

- ALLAL Sarra

- BOUMAZA Mohamed

- MEBAREK Khadidja

Devant le jury composé de :

Président: M^r. BOUCHELAGHEM EL Hadi (M.A.A)

(Université de Guelma)

Examinatrice : Mlle. BOUSSADIA Meriem Imen. (M.A.A)

(Université de Guelma)

Examinatrice : Mlle. AMRI Sandra. (M.A.B)

(Université de Guelma)

Encadreur : M^{me} BENHALIMA Lamia (M.A.B)

(Université de Guelma)

Juin 2012



Remerciement :

Nous exprimons notre profonde gratitude avant tout à Dieu qui a nous aidé et qui nous a donné le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous adressons également notre sincère remerciement à M. BOUCHELAGHEM EL Hadi, Maitre assistant au département de biologie qui à bien voulu présidé le jury de se mémoire.

Nous remercions de tout cœur notre encadreur Mme Benhalima. Pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger ainsi que pour ses conseils, son encouragement, son confiance et ses orientations.

Notre gratitude va également à : Mlle. BOUSSADIA et Mlle. AMRI, maitre assistant au département de biologie, qui nous honore par sa participation de notre jury d'examinassions.

Nous tenons tout spécialement à remercier Melle Houria responsable de laboratoire de département pour l'aide qu'elle nous a apporté dans la réalisation du stage pratique, durant le déroulement de toutes les étapes de notre travail.

Nos sincères remerciements s'adresse aussi à : Hi-Ba, Houda, Sana, Laila et Nadjah techniciennes au laboratoire, pour leurs aident durant de notre travail.

Enfin, tous les étudiants de 2^{ème} année Master Santé, Eau et environnement (2011/2012), tous les enseignants et les enseignantes du département de biologie qui ont contribué à notre formation durent les Cinq années. Et tout ceux qui de près ou de loin qui ont participé à l'élaboration directe ou indirecte de ce modeste travail.



DEDICACES

*C'est un devoir très agréable de venir
rendre hommage au terme de ce travail,
à ceux qui sans lesquels il n'aurait pas pu être fait.*

Je dédie ce travail,

A mes chers parents

Qui ont tout sacrifié pour mon bonheur et ma réussite.

Qui m'ont toujours soutenu et guidé.

Qui étaient toujours présents à coté de moi face aux pires épreuves de la vie.

*En espérant qu'un jour je serais en mesure de combler une part minime de
mes dettes envers eux.*

*A ma sœur Maroua et Rahma et mon frère Alaa edin et mohamed elmahdi,
Pour leurs encouragements et respect.*

*C'est une occasion pour remercier ma chère amie **Rahma Chader** qui m'a
toujours encouragé pour continuer mes études, qui m'ont soutenu tant par leur
conseil, leur patience, leur confiance et leur soutien, leur gentillesse et leur
serviabilité et pour les bons moments qu'on a passés ensemble.*

*A tout les membres de ma familles surtout ; **Tarek, Mira** et son fille **Noor
Loudjaine, Yassmina, Abla, Adra.***

*Je remercie très spécialement **Mme Yassmina Zawai** et **Mlle Wahiba khalef**
envers qui j'ai un grand respect; pour leur aide très précieux. " **Merci Hi-Ba**".*

*A mes amis **Yassmine, Zineb, Khadidja, Halima, Karima, Sara, Chahra,
Wafia, et Nasssima** et collègues pour
tout et a tous les gens que j'aime et je
respecte.*

SARRA

Dédicace :

*A Dieu Le Tout Miséricordieux, Ton amour,
La miséricorde et Tes grâces à mon
endroit m'ont fortifiée dans la persévérance et l'ardeur au travail.*

A Mon très cher père Mebarek Said

*qui m'a assuré un soutien inconditionnel sans lequel je n'aurais jamais pu
terminer mes années d'études pour ces conseils et son encouragement.*

*Pour m'avoir donné la possibilité de faire ce que je voulais et à son affection, son
patience et son compréhension*

A ma douce et très chère mère benghalia noura ,

*qui par son aide, ses encouragements son optimisme et surtout son amour m'a
permis de comprendre que l'on peut aller au bout de nos projets si on y mettait du
cœur.*

*A mes proches de mon cœur pour m'avoir soutenu par leur présence dans les bons
comme dans les mauvais moments : mes sœurs :*

Sara, Aicha, Roquia et Chaima

A mon cher frère : abdellah

A tout ma grand famille grand et petit

*Pour finir, je voudrais aussi remercier toutes mes très chères amies
je ne peux les citer toutes. Mais je vous fais part de ma gratitude en espérant que
vous garderez l'expression de mon infatigable amour et amitié.*

Khadija

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de ma mère. It's for you mam and I love you.

Mon père Ammar pour ses sacrifices, sa bonté, leur amour, leur tendresse, et pour leur soutien moral et matériel durant toutes les étapes de ma vie.

Ma belle mère Soraya qui par son aide, ses encouragements son optimisme et surtout Son patience et compréhension m'a permis de comprendre que l'on peut aller au bout de nos projets si on y mettait du cœur.

A mes frères :

Saber, Nabil, Rachid et surtout Khalil

A mes sœurs :

Samira et notre princesse Khadidja

A mes chères amies : Fatima, Ibtissam, Fouzia ,Nassima, Afaf, Nadia.

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

Zineb

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Listes des abréviations

Introduction

I) Partie bibliographique

Chapitre 1 : Douches et prolifération des microorganismes

I- Les douches publiques	02
1- Définition.....	02
2- Localisation des microorganismes pathogènes dans les douches.....	02
2-1- Dans l'endroit des douches.....	03
2-2- Dans les eaux chaudes	04
II- Les principaux micro-organismes présents dans les douches.....	05
1- Bactéries pathogènes préoccupantes courantes.....	05
1-1- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	05
1-2- <i>Legionella</i>	06
1-3- Mycobactéries non tuberculeuses (MNT).....	07
1-4- Les salmonelles.....	09
1-5- <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
1-6- <i>Campylobacter</i>	11
1-7- <i>Escherichia coli</i>	12
1-8- <i>Staphylococcus aureus</i>	13
1-9- Les streptocoques.....	13
2- Les moisissures.....	14
III- La formation des biofilms dans les réseaux des douches	15
1- Définition.....	15
2- Structure d'un biofilm	16
3- Facteurs promoteurs du biofilm.....	16
4- Développement d'un biofilm bactérien.....	17

5- Agent bactériens formant un biofilm	19
6- Les effets d'un biofilm.....	20
Chapitre 2 : Dangers microbiologiques liées à l'usage des douches	
I- Les maladies infectieuses provoqué par les douches publiques.....	21
1- Définition et évolution des maladies infectieuses.....	21
2- Principales maladies liées à l'usages des douches et leur mode de transmission.....	21
2-1-voies respiratoires	21
-La légionellose	22
-Infections pulmonaires provoqués par MNT.....	22
2-2-voies digestives.....	23
-Choléra.....	23
-Amibiase	24
-La fièvre typhoïde	25
-Giardiose.....	26
2 3 voies cutanés.....	26
-Le pied d'athlète.....	26
II- Les moyenne de maitrise de la qualité microbiologique des douches.....	27
1-Nettoyage de la pommc de douche.....	27
2-Nettoyage des endroits des douches	29
3- Production d'eau chaude sanitaire.....	30
3-1-Matériaux des canalisations	31
3-2- Réseau de distribution d'eau chaude sanitaire.....	32
3-3- Pour l'eau.....	33
II) Partie expérimental	
Chapitre 3 : Matériel et méthodes	
I –Matériel.....	34
II- Méthodes.....	35
1- Cadre d'étude.....	35

2- Échantillonnage et méthode de prélèvement.....	35
2-1-Échantillonnage	35
2-2-Méthode de prélèvement.....	37
3-Méthode d'analyse	37
3-1-Enrichissement.....	37
3-2-Isolement.....	37
3-3- Identification.....	40
3-3-1-Identification macroscopique.....	40
3.3.2-Identification microscopique	40
3-3-3-Études des caractères biochimiques	42
❖ Les <i>Enterobacteries</i>	42
A- Les enzymes respiratoires	42
B- La galerie biochimique classique.....	44
C- Les tests complémentaires.....	47
D- Etude des caractères biochimique par la galerie API 20.....	49
❖ Les Staphylocoques.....	50
1-Isolement sur le milieu Chapman.....	50
2-Identification par la coloration de Gram	51
3-Recherche des caractères biochimiques.....	51
❖ Les <i>Pseudomonas</i>	51
1-Identification par la coloration de Gram.....	51
2-Recherche des caractères biochimiques.....	51
❖ Recherche des levures et des champignons.....	53

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1-Résultats de l'enrichissement	54
2- Résultats d'isolement	54
2-1-Aspect macroscopique des colonies après l'isolement	54
2-2-Examen microscopique	57
3-Résultats de l'identification biochimiques	61
3-1- Pour les <i>Enterobacteries</i>	62
3-2- Pour les <i>Staphylocoques</i>	67
3-3-Pour les <i>Pseudomonas</i>	69
3-4-Pour les levures	70
Discussion.....	72
Conclusion.....	73
Résumé	
Références bibliographique	
Annexe	

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	N° de Page
01	Caractéristiques cliniques respectives de la maladie de legionellose.	22
02	Caractéristiques cliniques respectives des Infections pulmonaires provoqués par MNT.	23
03	Caractéristiques cliniques respectives de la maladie de choléra.	24
04	Caractéristiques cliniques respectives de la maladie de l'amibiase.	25
05	Caractéristiques cliniques respectives de la fièvre typhoïde.	25
06	Caractéristiques cliniques respectives de la Giardiase.	26
07	Les caractéristiques cliniques respectives du pied d'athlète.	27
08	Matériels utilisés dans notre travail.	34
09	Présentation des sites de prélèvement.	35
10	L'aspect des microorganismes dans le milieu Hektoen.	38
11	Les buts et les méthodes d'examen microscopiques.	41
12	Les caractères de test catalase.	42
13	Les caractères de test d'oxydase.	43
14	Les caractères de la galerie biochimique.	44
15	Les caractères de test de l'ONPG.	47
16	Les caractères de test TDA.	48
17	Recherche des lysines, ornithine Décarboxylases : LDC et ODC.	48
18	Caractéristiques des souches de <i>staphylocoques</i> les plus fréquemment isolées.	51
19	Les caractères de test King A et King B.	52
20	Résultats de l'isolement des prélèvements du douche (1).	55
21	Résultats de l'isolement des prélèvements du douche (2).	56
22	Résultats de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration des prélèvements du douche (1).	57
23	Résultat de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration des prélèvements du douche (2).	58
24	Les germes identifiés.	61
25	Résultat de la galerie API 20 E.	62
26	Les caractères biochimiques des espèces identifiées à partir des prélèvements des deux douches.	63
27	Résultats d'identification des souches des <i>Staphylocoques</i> .	67
28	Les caractères biochimiques des <i>pseudomonas</i> .	70

Liste des figures

N° de Figure	Titre	N° de Page
01	Facteurs permettant la formation d'un biofilm au niveau d'une canalisation.	17
02	Représentation schématique de la formation et de la structure d'un biofilm au sein d'un réseau de distribution d'eau.	19
03	Parasitose : amibiase.	24
04	Le pied d'athlète.	27
05	Installer un pommeau de douche.	28
06	Nettoyage des parois de douche.	30
07	Les zones de prolifération possible des legionelles	31
08	Des canalisations encuvivre.	32
09	Les points analysés dans deux douches.	36
10	Méthode d'enrichissement.	37
11	Le protocole expérimental de l'analyse microbiologique des douches.	39
12	Galerie API 20E.	49
13	Résultat de l'enrichissement.	54
14	Observation microscopique à l'état frais des Bacilles et des Cocci (x40)	59
15	Observation microscopique à l'état frais de filament non cloisonné.	59
16	Observation microscopique après coloration de Gram.	60
17	Les Galeries API 20E après l'incubation à partir de prélèvement (02) : <i>Proteus penneri</i> .	62
18	Les Galeries API 20E après l'incubation à partir de prélèvement (03) : <i>Aeromonas hydrophila gr. 1</i> .	62
19	Galerie biochimique classique de P(03), pour <i>Enterobacter aerogenes</i> .	64
20	Galerie biochimique classique de P(01), pour <i>Hafnia alvei 1</i> .	64
21	Galerie biochimique classique de P(03), pour <i>Yersinia enterocolitica</i> .	64
22	Galerie biochimique classique de P(03), pour <i>Providencia rehgeri</i> .	65

Suite de la liste des figures

23	Galerie biochimique classique de P (02'), pour <i>Plesiomonas shigelloides</i> .	65
24	Galerie biochimique classique de P (04') pour <i>Yersinia kristensenii</i> .	65
25	Galerie biochimique classique de P (01'), pour <i>Klebsiella oxytoca</i> .p	66
26	Galerie biochimique classique de P (01'), pour <i>pasteurella pneumotropica haemolytica</i> .	66
27	Galerie biochimique classique de P (03'), pour <i>Chryseobacterium meningospticum</i> .	66
28	Galerie biochimique classique de P (04), pour <i>Escherichia coli 1</i> .	67
29	Les tests de <i>Staphylococcus aureus</i> .	68
30	Les tests de <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	68
31	Les tests de <i>staphylococcus saprophyticus</i> .	69
32	Les caractères biochimiques et les tests complémentaires de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	71

LISTE DES ABREVIATIONS

%: Pourcentage

ADH : l'arginine dihydrolase

°C : Degré Celsius.

E: *Escherichia*

ECS: eau chaude sanitaire

GN: gélose nutritive

H: Heure

IND: indole

LDC: la lysine décarboxylase

mn: minute

MNT : Mycobactéries non tuberculeuses

Nacl : chlorure de sodium

nm: nanomètre

ODC : l'ornithine décarboxylase

ONPG: Ortho-nitro phényle B-D galactosidase

PH: Potentielle Hydrogène.

RM : Rouge de méthylène

T: Température

TDA: tryptophane désaminase

TSI: tri-sugar_iron

um: micromètre

UV: ultra-violet

USA : Etats-Unis d'Amérique

VP: Voges-Proskauer

Introduction

Achetez VueScan maintenant!
www.hamrick.com

Introduction

Une cabine de douche est un lieu où l'on prend une douche qui est généralement pratiquée pour des raisons d'hygiène. Mais également c'est un lieu où l'on peut contracter des nombreux micro-organismes : les champignons, les virus, les parasites et les bactéries.

La présence d'eau, d'humidité et de température dans les douches crée un milieu idéal au développement de ces microorganismes.

Les maladies infectieuses liées à l'usage des douches collectives constituent donc un sérieux problème de santé et selon les médecins, les personnes à risque sont : les femmes enceintes, les personnes âgées, les individus dont le système immunitaire est faible.

Cette situation, nous a incités à proposer notre thème de recherche qui est : Isolement et identification des microorganismes provenant des douches dont les objectifs suivant :

- Isolement des microorganismes à partir de plusieurs endroits des deux douches.
- Identification des souches isolées en étudiant le maximum des caractères biochimiques
- Vérification du niveau d'hygiène dans ces endroits qui peuvent être la cause de la propagation de plusieurs maladies infectieuses.

Nous rapportons dans cette étude deux grandes parties :

La première est attribuée aux données bibliographique comportant deux chapitres : l'un est consacré à la prolifération des microorganismes dans les douches et leur rôles dans la formation des biofilms au niveau des réseaux d'eau chaud, et l'autre à la présentation des principales maladies infectieuses liées à l'usage des douches et les moyens de maîtrise de leur qualité microbiologique.

La deuxième relate notre travail expérimental qui rassemble les techniques d'isolement et identification des microorganismes résidant les douches, ainsi que les résultats obtenus et leurs discussions, et enfin nous terminerons cette étude par une conclusion.

Partie bibliographique

Achetez www.hamrick.com maintenant!

Chapitre I

*Douches et prolifération des
microorganismes*

Achetez www.hamrick.com maintenant!

I- Les douches publiques :

1- Définition:

Une douche est un jet d'eau dirigé sur le corps qui est généralement pratiqué pour des raisons d'hygiène ou dans un but thérapeutique.

La douche se prend en général dans une cabine de douche, cabine spécialement conçue à cet effet et pouvant aussi servir à soigner par son action massant et éventuellement aromathérapique ; mais l'on peut aussi se doucher dans une baignoire, ou directement sur le sol, lequel doit être en pente convergente vers une bonde, avec ou sans enfoncement spécialement aménagé. Une douche peut être aménagée par un rideau de douche.

Des douches publiques collectives existent également, notamment dans les campings, les salles de sport, les hôtels, les campings et les cités universitaires. Partout où l'on peut pratiquer la baignade, ainsi que dans les prisons. [42]

La présence d'eau et d'humidité dans les douches et les cuves thermales créent un milieu idéal au développement de microorganismes vecteurs de maladies (par exemple les bactéries et les virus et les champignons) qui causent notamment des otites, des gastro entérites et des dermatites. L'assainissement est essentiel pour maintenir les concentrations de microorganismes pathogènes à des niveaux sécuritaires. [43]

2-Localisation des microorganismes pathogènes dans les douches :

Les douches contiennent des nombreux micro-organismes (les champignons, les virus, les parasites et les bactéries) qui se développent parfaitement dans les conditions de température et d'humidité élevée.

Les besoins de base de bactéries sont étroitement liés à des formes supérieures de vie. Ils nécessitent une source d'énergie, un Source de carbone, et une source d'azote afin de combler leurs besoins nutritionnels, la majorité des bactéries sont tolérantes à la présence ou l'absence d'oxygène libre dans leur environnement, même si quelques-uns le sont pas. Les niveaux de température et d'humidité jouent aussi un rôle énorme dans la survie des bactéries. Depuis plus de 80% en poids d'une cellule bactérienne est constitué d'eau, l'humidité est essentiel pour la croissance. [43]

2-1-Dans l'endroit des douches :

- **La pomme de douche :**

L'endroit le plus rempli de bactéries responsable de problèmes respiratoires. Une bactérie responsable de pathologies respiratoires est retrouvée dans le tiers des échantillons de pommeaux de douche analysés. Les pommes de douche abritent 100 fois les bactéries que l'eau potable ordinaire, selon une nouvelle étude.

Une nouvelle étude indique que potentiellement des microbes pathogènes peuvent se coincer dans les pommes de douche et de se développer en biofilm, ou couches de boue qui offrent une explosion de bactéries avec le chaude de l'eau. [44]

- **Canaux de chauffe-eau :** qui favorisée le développement des bactéries, car même à 60°C – réglage de la plupart des chauffe-eaux électriques – on évalue que quelque 25 % de ces derniers sont contaminés par des bactéries de type *legionelle*.

Évoluant au fond du chauffe-eau, là où la température est plus basse et donc propice à leur prolifération, ces bactéries sont responsables d'une forme de pneumonie. La transmission se fait essentiellement par l'inhalation de gouttelettes d'eau contaminées provenant, par exemple, de bains tourbillons, de douches et de systèmes de climatisation de grands immeubles. Chaque année au Québec près de 100 personnes sont hospitalisées pour une pneumonie attribuable à la contamination des chauffe-eaux résidentiels. [46]

- **Les serviettes :** humides pour une bonne partie de la journée, elles représentent un milieu idéal pour la reproduction des bactéries.
- **Les robinets et les poignets :** souvent touchés, ils sont parmi les endroits les plus exposés.
- **Les bains, saunas et piscines :** comme dans tout endroit humide et chaud, les germes s'y portent à merveille. Même si l'hygiène y est parfaite, il y a des chances d'attraper quelques champignons. [70]

- **Les parois de douche :** Les bactéries et les germe se déposent sur les surfaces comme les parois de douche ou encore les rideaux vinyl. L'afflux constant d'eau chaude n'aide en rien à lutter contre le développement des bactéries. [69]
- **Le Sol, les cadres de fenêtre et la baignoire :** Les moisissures sont des plantes minuscules qui poussent là où il fait chaud et humide (dans la douche, par exemple). On trouve le plus souvent les moisissures, juste au pied de la baignoire, là où elles touchent le plancher, sous l'évier et sur les appuis ou les cadres de fenêtre. [50]

2-2-Dans les eaux chaudes :

Les réseaux d'eau chaude sanitaire sont des lieux propices à la prolifération des bactéries. Le risque se situe essentiellement au niveau des douches qui génèrent des aérosols pouvant être inhalés par les usagers. [48]

La principale cause du développement de ces bactéries dans les réseaux d'ECS est la stagnation de l'eau dans les canalisations de bouclage. A défaut de circulation dans une ou plusieurs boucles, l'eau devient stagnante et l'abaissement de température (28 °C - 45 °C) est favorable au développement des *legionnelles*. [18]

Il est évident que les mêmes facteurs qui affectent la colonisation par les *legionnelles* dans les grands bâtiments existent également dans les petits systèmes d'eau résidentiels. Si les températures sont faibles, il n'y a pas de différence entre les systèmes de grandes et petites et compte *legionnelles* sont élevés dans les deux.

A des températures en dessous de 20 °C, les Bactéries ne peuvent pas se développer mais reste simplement en dormance. Sur les températures d'autre part plus de 60 °C, *legionelles* ne peut pas survie. Il est tué dans cette température.

La formation du biofilm dans les systèmes d'eau et sur les appareils tels que les pommes de douche à assurer la protection des bactéries. [51]

II--Les principaux micro-organismes présents dans les douches :

1-Bactéries pathogènes préoccupantes courantes :

1-1-*Pseudomonas aeruginosa* :

- **Morphologie :**

Le *Pseudomonas* est un bacille pyocyanique à Gram négatif mobile qui mesure 0,5 µm. [19]

- **Habitat :**

C'est un germe très répandu dans la nature en particulier dans les endroits humides et riches en rejets domestiques. On peut également le trouver dans les plantes, les légumes et les fruits. A domicile, certains endroits humides sont des réservoirs potentiels pour *Pseudomonas aeruginosa* : lavabos et baignoires (siphon, bec de robinet, pommeau de douche), jacuzzi, toilettes, matériel de nettoyage (serpillières, seaux, éponges, ...). Certains appareils comme les nébuliseurs constituent également des réservoirs. [19]

- **Transmission :**

La colonisation humaine se fait par l'eau et par le manuportage à partir des colonisations digestives. [3]

- **Pouvoir pathogène :**

Sa présence dans l'eau n'est pas admissible, notamment en raison :

- De son caractère pathogène opportuniste qui se manifeste sous des formes variées et qui représente une menace en particulier pour la santé de certaines catégories de personnes (immunodéprimés, jeunes enfants, femmes enceintes, personnes âgées ou atteintes d'affections graves, chroniques ou métaboliques, hématologiques ou cancéreuses ou encore présentant des plaies et brûlures) notamment lors d'inhalation d'aérosols ou de contact avec les muqueuses oculaires ou des téguments lésés :
- De sa résistance à certains antibiotiques.
- De sa capacité à se multiplier en milieu humide sur des substrats très variés.
- De la difficulté à éliminer cette bactérie lorsqu'elle colonise des réseaux ou d'autres Installations. [34]

1-2-Legionella:**• Description :**

Les *Legionelles* sont des petits bacilles à Gram négatif mobile ou immobile polymorphes, filamenteux souvent immobiles aérobies strictes. Il existe à ce jour plusieurs espèces et sérogroupes tel que *Legionella pneumophila*. [22]

• Habitat :

- C'est une bactérie ubiquiste (largement répandue dans la nature), non commensale, à développement intracellulaire facultatif. *In vitro*, c'est une bactérie exigeante : elle ne pousse que sur des milieux spéciaux et lentement (3-4 jours et jusqu'à 10 jours).

- C'est une bactérie hydrotellurique (eau et sols). *Legionella* vit dans les eaux douces (lacs, rivières, eaux stagnantes...), mais aussi la terre humide et les composts. Elle se multiplie dans des protozoaires libres (amibes) de l'environnement avec lesquels elle vit en symbiose. Les températures optimales de multiplication sont entre 25 et 45°C.

• Réservoirs artificiels :

- Réseaux d'eau chaude, surtout dans les collectivités (hôpitaux, hôtels, immeubles) du fait de certaines caractéristiques : taille et vétusté des circuits d'eau, bras morts, température plus basse présence d'un biofilm : site de prolifération, certains matériaux tels que le fer, zinc.

- Systèmes de climatisation « humides » : caissons d'humidification, aérocondenseurs, tours aéro-réfrigérantes.

- Autres sources retrouvées : thermes, saunas, bains à remous, machines à glace, brumisateurs, fontaines, respirateurs, nébulisateurs, humidificateurs. [5]

• Mode de contamination :

La transmission des infections à *legionelles* se fait par voie aérienne par inhalation c'est la seule voie de contamination démontrée à ce jour. Les *legionelles* infestent les macrophages alvéolaires. La douche est souvent incriminée en raison de la vapeur d'eau produite. On a signalé qu'il n'y a pas de contamination interhumaine, et pas de transmission manuportée. [36]

- Les facteurs de risque individuels et collectifs :

- A. Facteurs de risque individuels :

- * **Intrinsèques** : âge, sexe masculin, tabagisme, alcoolisme, diabète, morbidités respiratoire et cardiovasculaire, immunodépression (cancers, hémopathies, traitements immunosuppresseurs). Cependant un certain nombre de cas (17 %) s'observent et chez des sujets sains.

- * **Extrinsèques** : ventilation et aérosolthérapie à domicile. Ce risque doit disparaître en recommandant l'utilisation d'eau stérile. On appréhende encore mal le risque de l'habitat individuel. Importance de l'entretien du réseau d'eau chaude (détartrage des pommeaux de douche, robinets...)

- B. Facteurs de risque collectifs :

- * Tous les séjours dans des lieux où les réseaux d'eau sont collectifs et susceptibles d'être contaminés. Les endroits les plus à risque sont donc les hôpitaux, les hôtels, les campings, les stations thermales...

- * Les tours aéro-réfrigérantes qui émettent dans l'atmosphère parfois à plusieurs kilomètres des nuages d'eau contaminés.

Plusieurs circulaires et arrêtés récents visent à réduire ces risques. [5]

1-3- *Mycobactéries non tuberculeuses (MNT)* :

- Description :

Il s'agit de bactéries appartenant à l'ordre des *Actinomycetales* de la famille des *Mycobacteriaceae* ne comporte qu'un seul genre, le genre *Mycobacterium*. [8]

Ce sont des bactéries à Gram -, immobile, avec des éléments renflés et pratiquement jamais de ramification.

Elles sont alcool-acido-résistantes, les *mycobactéries* sont aérobies, leur croissance est faible généralement lent, parfois impossible sur les milieux de culture ordinaires. [22]

- **Sources et réservoirs :**

Les MNT peuvent infecter les humains et les animaux par différentes voies d'exposition qui incluent l'ingestion, l'inhalation et l'exposition par contact ou post-traumatique. Dans la plupart des cas l'eau a été impliquée comme route possible de transmission. En effet les MNT sont isolées des systèmes de distribution d'eau chaude, des machines à glace, des fontaines, les piscines et des aquariums. Elles sont également isolées parfois en grand nombre dans les écosystèmes aquatiques comme les étangs, lacs, rivières et marais. Les humains sont donc couramment exposés à ces bactéries par contact avec l'eau.

Les sources et les réservoirs potentiels. Les poissons et mollusques pas ou peu cuits et les produits laitiers sont considérés comme des voies importantes de contamination. En effet les animaux filtreurs (poissons et mollusques) concentrent les MNT présents dans les sédiments ou l'eau et les rejettent dans l'environnement ou les transmettent à leurs prédateurs. [59]

- **Pouvoir pathogène :** Les MNT touchent surtout les sujets de plus de 60 ans.

On distingue 3 formes pulmonaires :

- Forme nodulaire fibreuse/cavitaire (tuberculose-like) : touche surtout l'homme entre 40-50 ans ; facteurs de risque : tabagisme, alcool ; toux, hémoptysie, symptômes généraux ; atteint surtout les lobes supérieurs.

- Forme nodulaire bronchectasique : femme âgée (moyenne 70 ans) sans antécédent pulmonaire ; peu de tabac et d'alcool ; morphotype particulier : maigre, pectus excavatum, cyphoscoliose, hyperextensibilité articulaire, prolapsus de la valve mitrale (syndrome de Lady Windermere : petits nodules du lobe moyen ou de la lingula chez une femme d'âge moyen ou âgée, non fumeuse) ; toux ; aspergillose plus fréquente.

Pneumopathie ressemblant à une hypersensibilité : "hot tub lung" (syndrome des jacuzzis et spas) ; liée à l'activité de l'infection et à la réaction inflammatoire ; toux, dyspnée et fièvre sub-aiguë ; patients plus jeunes, non fumeurs ; granulomes non nécrosants et pneumonie organisée. [52]

1-4- Salmonelles :

- **Description :**

Les *salmonelles* sont des bactéries entériques en forme de bâtonnets, anaérobies facultatives, à Gram négatif, mobiles pour la plupart avec des flagelles péritriches, de 0,7-1,5 × 2,0-2,5 µm, qui produisent du sulfure d'hydrogène. La nomenclature des *salmonelles* est particulièrement complexe. La notion d'espèce est peu employée pour le genre *Salmonella* et on réfère plutôt au sérotype. Ce genre contient plus de 2 000 sérotypes différents. [10]

- **Habitat :**

Les *salmonelles* peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau. Elles se retrouvent donc fréquemment dans les milieux aquatiques pollués, la contamination par les oiseaux (Anatidés) et les reptiles (Chéloniens) sont d'importants vecteurs de *salmonelles*. Les volailles, les bovins et les ovins étant des animaux fréquemment contaminants, les *salmonelles* peuvent se retrouver dans les aliments, notamment les viandes, le lait, et un œuf dont la coquille est fêlée.

- **Mode de contamination**

La transmission des infections à *salmonelles* se fait principalement par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Plusieurs sérotypes de *Salmonella* sont largement distribués dans la nature et associés aux matières fécales des animaux. La consommation de viande et de poulet contaminés constitue la principale source d'infection pour l'humain. [10]

- **Pouvoir pathogène :**

- ✓ **Les formes septicémiques :**

Ce sont les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues à *S.Typhi*, *S Paratyphi* A, B et rarement C. Ce sont des septicémies à point de départ lymphatique.

- ✓ **Les salmonelloses purement digestives :**

Les toxi-infections alimentaires à *Salmonella* se manifestent par des diarrhées, de la fièvre, et des vomissements. Les premiers signes surviennent 8 à 10 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. L'évolution de ces gastro-entérites est en règle générale spontanément favorable en quelques jours.

- ✓ **Les formes extra-digestives :**

Elles sont plus rares ; infections urinaires, cholécystites, méningites, ostéomyélites, spondylodiscites, infections pulmonaires. Ces formes surviennent plus volontiers chez des malades immuno-déprimés. [2]

1-5-*Aeromonas hydrophila* :

- **Description :**

Aeromonas hydrophila est un bacille anaérobie facultatif, en forme de bâtonnet, non sporulé et Gram négatif qui appartient à la famille des *Aeromonadaceae*. Même si cette section porte avant tout sur *A. hydrophila*, on a aussi isolé d'autres *aeromonades* comme *A. caviae* et *A. sobria* dans des matières fécales humaines et des sources d'eau.

- **Habitat :**

Des travaux antérieurs ont déterminé clairement que l'espèce *Aeromonas*, y compris *A. hydrophila*, est très répandue dans l'environnement. On a trouvé ces micro-organismes dans des lacs, des rivières, de l'eau de mer, des effluents d'égout et de l'eau potable, notamment. Les concentrations de l'espèce *Aeromonas* varient en fonction de l'environnement à l'étude. Elles pouvaient être plus élevées dans les réseaux de distribution d'eau à cause de la croissance sur les films biologiques.

A. hydrophila constituait de 20 à 60 % des *aeromonades* isolés. On a déterminé qu'*Aeromonas spp* se multipliait entre 5°C et 45°C. La température de l'eau constitue un facteur important pour la multiplication d'*Aeromonas*. Dans le cas de systèmes publics d'approvisionnement en eau, on a signalé des variations saisonnières coïncidant avec la plage optimale de croissance d'*Aeromonas*, et montrant que l'on récupère *Aeromonas* plus souvent au cours des mois chauds.

On a observé la même tendance dans le cas d'échantillons de selles.

- **Mode de contamination :**

L'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, ou le contact avec le micro-organisme par une rupture de la peau, constituent les voies courantes d'infection avancées dans le cas d'*Aeromonas*. On n'a signalé aucune transmission entre personnes. Comme on l'a déjà mentionné, *A. hydrophila* dépend de la température pour se multiplier. C'est pourquoi le risque d'infection atteint son maximum l'été, lorsque ces micro-organismes se multiplient plus rapidement.

- **Effets sur la santé :**

Depuis quelques années, le secteur de la santé publique reconnaît *A. hydrophila* comme un agent pathogène opportuniste; on l'a incriminé comme agent pathogène possible de la gastro-entérite, 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. Les enfants, les personnes âgées et celles dont le système immunitaire est compromis sont les plus à risque d'infection. [33]

1-6-*Les Campylobacter* :

- **Description :**

Les *Campylobacter* sont des bacilles à Gram négatif caractérisés par :

- Leur morphologie. Bacilles fins, de 0,5 à 5 µm de long, incurvés en forme de virgule, en forme de S, de « vol de mouette » ou de forme hélicoïdale pour les formes longues.
- Leur mobilité. Elle est très vive due à une ciliature polaire monotriche. Elle est classiquement décrite comme un « vol de moucheron ». Les formes longues peuvent être flagellées aux deux extrémités.
- Leur métabolisme respiratoire micro-aérophile.
- Une réaction oxydase (+).

- **Habitat :**

Les *Campylobacter* sont des bactéries trouvées dans le tube digestif des animaux, notamment les volailles, les ovins et les porcs. Les animaux de compagnie (chien et chat) ont été incriminés comme vecteurs de *Campylobacter*.

La contamination de l'homme se fait par voie digestive. Les cas de Campylobactériose sont le plus souvent sporadiques. L'eau ou des laitages contaminés ont été à l'origine d'épidémies.

- **Pouvoir pathogène :**

- *C. fetus* sub sp. *fetus*. Il est responsable de septicémies à point de départ digestif survenant chez la femme enceinte ou chez des sujets ayant une maladie sous-jacente : cirrhose, hémopathie, SIDA etc...

Des infections localisées (cardiaques, méningées, articulaires) ont aussi été décrites.

- *C. jejuni* et *C. coli*. Ils sont beaucoup plus souvent rencontrés. Ils sont cause d'entérites qui sont plus fréquentes chez l'enfant vivant dans des conditions d'hygiène précaires. Après une incubation de 1 à 3 jours, survient une diarrhée fébrile avec parfois du sang dans les selles. Les douleurs abdominales et les vomissements sont habituels. La guérison survient spontanément en une semaine environ. Les bactériémies sont peu fréquentes. Quelques complications infectieuses (appendicites, cholécystites, péritonites) ou post-infectieuses (arthrites) ont été signalées. [2]

1-7-*Escherichia coli* :

- **Description :**

E. coli possède tous les caractères communs aux *Enterobacteriaceae*. Cette espèce est le plus souvent mobile, Gram négatif, aérobie, en forme de bâtonnets, non sporulées, cytochrome oxydase négative, capable de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents antibactériens similaires. Fermentant le lactose à 44°C avec production de gaz et produisant de l'indole à 44°C. [7]

- **HABITAT**

E. coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. La présence d'*E. Coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation. [2]

- **Effets sur la santé:**

Même si la plupart des souches d'*E. Coli* ne sont pas pathogènes, certaines peuvent causer de graves maladies diarrhéiques chez les êtres humains. Les *E. coli* pathogènes sont subdivisés en six groupes en fonction de leurs caractéristiques sérologiques et de leur virulence : *Enterohémorragique*, *enterotoxinogène*, *enteroenvahissant*, *enteropathogène*, *enteroagglutinant* et d'adhésion diffuse. On a incriminé une souche *enterohémorragique*, soit *E. coli* dans beaucoup d'éclousions d'origine alimentaire et quelques-unes d'origine hydrique.

[7]

- **Pouvoir pathogène :**

Les *streptocoques* sont, après les *staphylocoques*, les bactéries pyogènes n° 2. Le plus pathogène d'entre eux est le *streptocoque bêta-hémolytique* du groupe A de LANCEFIELD, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections provoquées par les *streptocoques*.

Les réactions immunologiques de l'hôte infecté par *S.pyogenes* sont beaucoup plus complexes que celles qui s'observent lorsqu'il est infecté par *S.aureus* et peuvent conduire à la formation d'anticorps spécifiques à un taux élevé et d'auto-anticorps. [2]

2-LES MOISSURES :

- **Description :**

Moissure est un nom vernaculaire ambigu qui désigne en français certains microorganismes au développement filamenteux, le plus souvent *des champignons* du clade *des mycètes*, bien que le nom ait été longtemps employé pour désigner des espèces d'une règne assez éloigné et aujourd'hui distingué (comme celui des chromistes, plus proches des végétaux verts que des champignons) ; il en existe des milliers d'espèces différentes. Ce sont en général des organismes pluricellulaires. [53]

- **Sources et réservoirs :**

Le réservoir naturel des moisissures se situe à l'extérieur, sur les végétaux, la matière organique en décomposition, à la surface d'eau stagnante ainsi que dans le sol ou à la surface de ce dernier. Lorsque les conditions le permettent, les moisissures produisent, à maturité, des spores qui peuvent être transportées par les courants d'air ou par les humains et les animaux domestiques et se retrouver éventuellement dans les maisons et édifices. [27]

Une fois à l'intérieur, les moisissures peuvent se développer si elles sont en présence d'eau ou d'humidité en quantité suffisante et de matières nutritives comme le bois, le carton ou le placoplâtre. On les retrouve souvent aux endroits humides, par exemple dans les douches autour de la baignoire ou des fenêtres. [54]

- **Les effets des moisissures sur la santé :**

Lorsque les conditions propices à la croissance des moisissures sont présentes dans une habitation ou un édifice public et qu'elles ne sont pas contrôlées, les moisissures peuvent proliférer, coloniser divers substrats et se retrouver éventuellement dans l'air ambiant.

1-8- *Staphylococcus aureus* :**• Description :**

Le microorganisme *Staphylococcus aureus* est une bactérie de la famille des *Micrococcaceae* de forme sphérique (coque), de 0,8 µm à 1,0 µm de diamètre. Ces coques à Gram positif se présentent généralement en grappes, par paires ou en cellules individuelles compte tenu de l'âge de la culture. C'est une bactérie non mobile, a sporulée et aérobie facultatif possédant une catalase.

• Habitat :

Les *staphylocoques* trouvés dans l'eau proviennent principalement de la peau, de la bouche, du nez et de la gorge des baigneurs et occasionnellement d'une pollution fécale. Les *staphylocoques* pathogènes (*S. aureus*) produisent plusieurs types d'enzymes qui participent à l'envahissement d'un hôte.

• Pouvoir pathogène

S. aureus est un microorganisme pathogène dont on connaît au moins deux types de manifestations cliniques chez l'homme. Les *staphylocoques* sont d'abord souvent mis en cause dans les cas de toxi-infections alimentaires où il y a production d'une entérotoxine thermorésistante responsable de gastro-entérites. Ils sont également responsables d'infections rhinopharyngées et cutanées qui sont de loin prédominantes par rapport aux infections gastro-intestinales. [11]

1-9- Les streptocoques :**• Description :**

Les *streptocoques* sont des cocci de taille et de forme irrégulières, à Gram positif, groupés en chaînettes plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, acapsulés, asporulés.

• Habitat :

Les *streptocoques* regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine (*streptocoques* des groupes A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (*streptocoques* du groupe B et *streptocoques* non groupables et non hémolytique) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (anciens *streptocoques* du groupe D ou entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre à part, le genre *enterococcus*).

D'autres encore sont des commensaux des animaux ou des saprophytes.

En effet, les spores des moisissures croissant en surface des matériaux sont facilement aérosolisables.

De plus, des fragments de mycélium, des particules de matériaux contaminés ou de la poussière contenant des particules fongiques déposées, peuvent également être aéroportés. L'exposition aux particules fongiques (spores, fragments) ou aux métabolites fongiques pourra donc se faire par inhalation ou, dans une moindre mesure, par contact physique (exposition cutanée) ou plus rarement encore, par ingestion. Les effets des moisissures sur la santé des occupants seront fonction du type et de l'importance de l'exposition, de la nature de l'agent en cause et de la susceptibilité des individus exposés (état de santé, âge, etc.). [27]

- **Les personnes les plus vulnérables :**

Les réactions observées chez les personnes exposées varient selon leur état de santé, leur âge et le temps qu'elles passent dans les endroits permettant la prolifération des zones humides comme : les douches. Les personnes suivantes sont généralement plus sensibles à une exposition aux moisissures :

- ✚ Les personnes souffrant d'allergies, d'asthme et de maladies respiratoires chroniques ainsi que les personnes hypersensibles.
- ✚ Les nourrissons et les jeunes enfants.
- ✚ Les personnes âgées.

Les personnes dont le système immunitaire est affaibli, que ce soit en raison d'un traitement de chimiothérapie, d'une transplantation récente, du VIH (virus de l'immunodéficience humaine), du sida ou autre. [54]

III-La formation des biofilms dans les réseaux des douches :

1-Définition :

Les biofilms correspondent à des associations de microorganismes inclus dans une matrice d'exopolymères, qui sont généralement attachées à la surface de toutes sortes de matériaux, tels que les métaux, les plastiques, les particules de sols, tissus, ... etc.

Dans l'environnement humain, les biofilms peuvent se développer dans des douches très facilement car ils fournissent un environnement humide et chaud pour le biofilm à prospérer.

Les biofilms peuvent se former à l'intérieur de l'eau et des eaux usées des tuyaux et provoquer le colmatage et la corrosion .

Les biofilms sur les planchers et les comptoirs peuvent faire de l'assainissement dans les zones difficiles de préparation des aliments. [55]

2- Structure d'un biofilm :

Sa structure est hétérogène, souvent sous forme d'une matrice extracellulaire, et composée de substances polymères. Les biofilms, notamment observés comme habitat d'écotone ou comme élément du réseau trophique. C'est un ensemble de cellules microbiennes, uniques ou en micro-colonies qui adhèrent à la surface du matériau et enchevêtrées au sein d'un réseau complexe, hautement hydraté, d'exopolymères (fibres saccharidiques, lipides, protéines) avec dépôts minéraux ou de corrosion. [26]

3-Facteurs promoteurs du biofilm :(fig.01)

Les points à risque des installations, qui sont favorables au développement bactérien, sont les endroits où il y a possibilité de stagnation d'eau entre 25 et 55 °C et présence de biofilm :

- ✚ Les ballons d'accumulation qui contiennent des tranches d'eau à différentes températures.
- ✚ Les boues dans les pots de décantation, les chauffe-eau et les filtres mal entretenus.
- ✚ Les bras morts des réseaux.
- ✚ Les plaques de tartre déposées sur les parois des réseaux, robinets, poignets, dans les tuyaux... etc. [26]
- ✚ Charge organique de l'eau entrante.
- ✚ Nature, âge et état des matériaux.
- ✚ Relargage de composés biodégradables.
- ✚ Vitesse de circulation faible. [56]

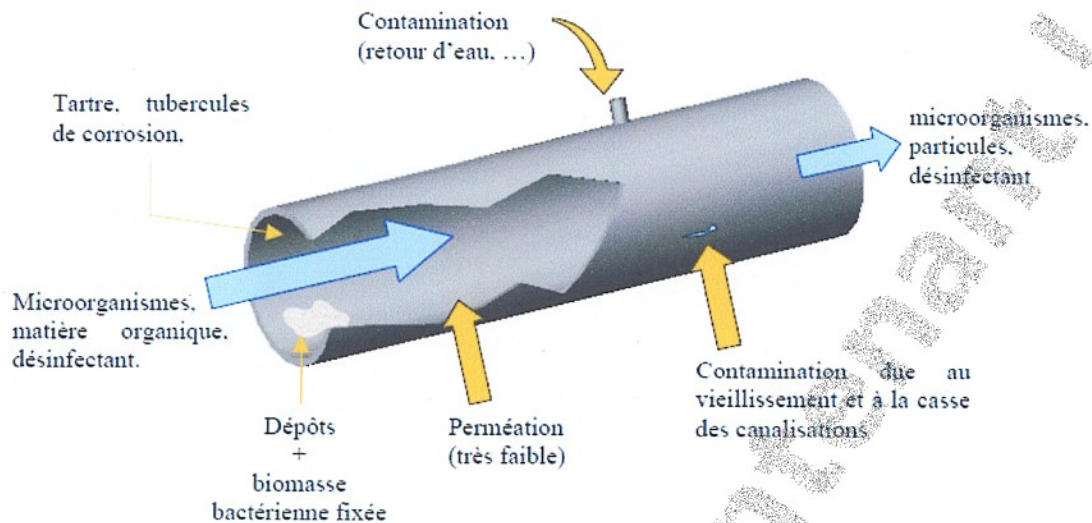


Figure N° 01: Facteurs permettant la formation d'un biofilm au niveau d'une canalisation [14].

4-Développement d'un biofilm bactérien:

La prolifération bactérienne sous forme de biomasse fixée dans les réseaux de distribution d'eau est le résultat d'un ensemble de processus physique, chimique et biologique. Ainsi, la formation d'un biofilm se réalise en plusieurs étapes faisant intervenir ces différents processus. (fig.02)

❖ Transport des microorganismes :

Toute adsorption de microorganismes suppose un rapprochement de ceux-ci vers le support. Quatre mécanismes peuvent alors être impliqués :

- La sédimentation, due aux seules forces de gravité,
- Les bactéries entrent en contact avec la surface des conduites de manière aléatoire (Mouvements favorisés par les tournants des canalisations).
- La turbulence de l'eau à l'intérieur du réseau amène les microorganismes jusqu'au support.
- La mobilité, pour les microorganismes mobiles, avec ou non des phénomènes de chimiotactisme. [26]

❖ Attachement des microorganismes :

L'adsorption des bactéries à la surface des canalisations s'effectue le plus souvent au niveau de dépôts minéraux et organiques, ou à la surface de tubercules de corrosion.

La phase d'attachement des microorganismes peut être divisée en deux étapes principales :

- l'**adhérence**, qui correspond à une adsorption réversible des cellules : une fraction des bactéries planctoniques transportées par l'eau, se dépose au niveau de la surface des canalisations. Cette phase est en général aspécifique et de courte durée (5 à 10 heures)
- l'**adhésion** ou fixation irréversible des bactéries : cette étape est plus lente que la précédente, l'irréversibilité de l'adhésion faisant appel au métabolisme bactérien. En effet, la sécrétion d'exopolymères par les microorganismes leur permet de consolider leur adhésion au support, formant autour de la bactérie, une enveloppe, appelée glycocalix. [57]

❖ Colonisation du support :

Dans des conditions favorables, lorsque les bactéries sont fixées de manière irréversible au support, les cellules peuvent se multiplier, selon la quantité de matière organique biodégradable disponible, et le taux d'oxydant résiduel. Il y a alors accroissement de la biomasse et production de métabolites sécrétés par les bactéries. Cette étape de croissance est divisée en trois phases .

- Une phase dynamique de croissance,
- Une phase linéaire de croissance, traduisant une évolution à taux constant et maximale du biofilm,
- Une phase de ralentissement, qui correspond à un début d'équilibre du biofilm entre le taux de multiplication et d'accumulation des microorganismes et le taux de détachement de matière. Ceci met en évidence des facteurs hydrodynamiques sur le développement du biofilm. [14]

Les différentes étapes de la formation, puis de l'évolution d'un biofilm, sont présentées sur la figure ci-dessous (fig.02).

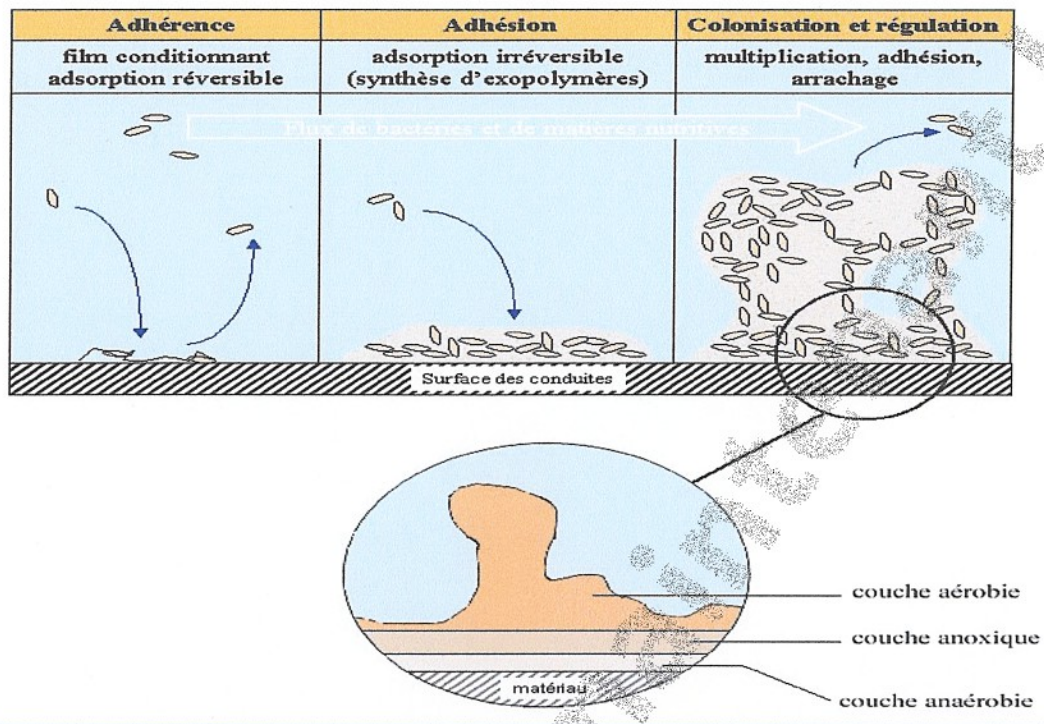


Figure N°02: Représentation schématique de la formation et de la structure d'un biofilm au sein d'un réseau de distribution d'eau. [14]

5-Agent bactériens formant un biofilm :

Presque tous les biofilms peuvent abriter (ou piéger) des organismes pathogènes pour d'autres espèces, y compris dans les tuyaux d'eau chaude où l'on trouve des *Legionnelles* d'origine hydro-telluriques qui survivent au chlore dans les biofilms qui la protègent de la chloration et semble jouer un rôle important pour sa survie dans les installations. On en trouve y compris dans les biofilms de réseaux d'eau domestiques, parfois associée à *Pseudomonas aeruginosa*. Outre la nature de l'eau (acidité, minéralisation, teneur en matières organiques et nutriments), la température et le type de matériaux utilisés en plomberie jouent aussi un rôle important dans la formation des biofilms. En conditions difficiles (chaleur élevée, biocide, etc.), les *Legionnelles* croissent mieux et plus vite quand elles sont co-cultivées avec des amibes et en présence de *cyanobactéries* (qui modifient la teneur en nutriments du milieu).

[56]

6-Les effets d'un biofilm :

Différents problèmes peuvent être directement reliés à la formation et au développement d'un biofilm sur les parois des canalisations d'adduction d'eau. Ces conséquences peuvent porter sur le réseau de distribution lui-même, ou sur la consommation de l'eau issue du réseau contaminé :

- Les bactéries accumulées au niveau d'un biofilm constituent le premier maillon d'une chaîne alimentaire et ainsi favorisent le développement de macroorganismes.
- Certains types bactériens peuvent induire, par leur présence ou leur activité métabolique, une augmentation de la turbidité, de la sapidité et de l'odeur de l'eau.
- Certaines bactéries peuvent accélérer le phénomène de corrosion. Le terme de biocorrosion est alors utilisé.
- Les capacités de distribution d'un réseau peuvent être diminuées par l'augmentation des forces de résistance, induites par la présence de biofilms. [14]
- Le biofilm constitue une source de contaminations critique et difficile à supprimer. Protégés dans leur matrice organique, les micro-organismes deviennent résistants aux procédures standards de nettoyage et de désinfection.

Les méthodes classiques de nettoyage sont des solutions inefficaces et coûteuses, qui entraînent de nombreuses problématiques:

- Agressivité pour les utilisateurs.
- Risque élevé de recontamination de l'installation et des produits finis.
- Impact environnemental négatif. [57]
- L'entrée à flux constant de bio masse au sein des systèmes de distribution d'eau et sa prolifération au sein des réseaux posent une problématique du point de vue de la santé publique. [14]
- Une fraction des microorganismes peut également représenter un risque potentiel pour les consommateurs, et ainsi, augmenter la fréquence de symptômes gastro-entériques (diarrhées, vomissement).
- Des travaux épidémiologiques ont montré que le taux moyen d'incidents à tropisme gastro-intestinal était de 0,1 par personne et par an, dans le cas d'une population générale, pour la consommation d'une eau respectant les critères de potabilité. [14]

Chapitre II

*Dangers microbiologiques liées à l'usage des
douches*

Achetez VueScan maintenant!
www.hamrick.com

I- Les maladies infectieuses provoquées par les douches publiques :

1 -Définition et évolution des maladies infectieuses :

Une maladie infectieuse est une maladie provoquée par la transmission d'un microorganisme : virus, bactérie, parasite, champignon. , constituent un problème de santé publique. [30]

Dans la nature, des maladies infectieuses se développent chez tous les organismes vivants (animaux, végétaux, fongiques, micro-organismes). Leur mode de transmission est variable et dépend de leur réservoir (humain, animal, environnemental) et parfois de vecteurs (maladies vectorielles).Elles sont plus ou moins contagieuses . [60]

Elles peuvent se manifester sous forme de poussées soudaines et brutales appelées épidémies. Elles touchent alors une part importante de la population, puis disparaissent, quelquefois pendant très longtemps. Au contraire, seule une très faible proportion de la population est atteinte, maintenant en permanence un foyer infectieux. On dit que la maladie est endémique.

[61]

Le développement d'une maladie infectieuse se déroule en plusieurs étapes :

* **Une période d'incubation** : généralement silencieuse, elle correspond à la période qui sépare le moment où le germe se fixe sur l'hôte et le moment où celui-ci manifeste les premiers signes cliniques de l'infection.

* **Une période d'invasion** : presque toujours de courte durée, elle est marquée surtout par des signes généraux aux infections (fièvre, courbatures, etc.).

* **Une période d'état** : caractéristique de la maladie, le plus souvent elle fait apparaître des signes cliniques spécifiques qui conduisent au diagnostic. [30]

2- Principales maladies liées à l'usage des douches et leur mode de transmission :

Les maladies infectieuses liées à l'usage des douches collectives sont transmises de différentes façons :

2-1- voie respiratoire :

La contamination de l'homme se fait par voie aérienne, par inhalation de gouttelettes d'eau d'un diamètre inférieur à 5 μm contenant des bactéries (*legionella*, mycobactérie non tuberculose) en suspension dans l'air. Les installations d'eau en cause sont : douche, robinets, spas, fontaines.

Les germes se transmettent lors d'un contact propice entre les muqueuses du nez et de la bouche, les principales maladies provoquées par cette voie: la légionellose, infections pulmonaires provoqués par MNT.

➤ **La légionellose** : Est une infection respiratoire provoquée par des bactéries appelées *legionelles* qui prolifèrent en eau douce à des températures comprises entre 25°C et 42°C.

L'infection présente deux formes :

- Une infection aiguë bénigne appelée fièvre de Pontiac, guérissant spontanément sans traitement en 2 à 5 jours.

- Une infection aiguë pulmonaire grave, pouvant entraîner le décès dans un peu plus de 15 % des cas, appelée maladie du légionnaire.

La légionellose est une maladie soumise à déclaration obligatoire aux autorités sanitaires depuis 1987. [4]

Le Tableau N°01 résume les caractéristiques respectives de la maladie de légionellose.

Tableau N°01 : Caractéristiques cliniques respectives de la maladie de légionellose

Cause	Diverses espèces de <i>Legionella</i> , fréquemment <i>Legionella pneumophila</i> , séro groupe I.
Transmission	L'infection résulte de l'inhalation de vapeurs ou de brumes contaminées. Les bactéries vivent dans l'eau et colonisent les canalisations d'eau chaude à 20-50°C (optimum 35-46°C). Elles contaminent les colonnes de refroidissement des systèmes de climatisation, les systèmes d'eau chaude, les humidificateurs, les bains d'eau bouillonnante et autres conteneurs d'eau. Il n'y a pas de transmission interhumaine.
Nature de la maladie	La légionellose existe sous deux formes cliniques différentes : <ul style="list-style-type: none"> ■ La maladie des légionnaires est une pneumonie bactérienne aiguë avec apparition brutale de symptômes associant anorexie, mauvais état général, myalgies, céphalées et fièvre en hausse rapide, qui évolue vers la pneumonie, celle-ci pouvant conduire à une insuffisance respiratoire et au décès. ■ La fièvre de Pontiac est une pathologie de type grippal avec rétablissement spontané au bout de 2 à 5 jours. La sensibilité à la légionellose augmente avec l'âge, en particulier chez les fumeurs et les personnes déjà atteintes d'une affection pulmonaire chronique ou immunodéprimées.
Répartition géographique	Dans le monde entier
Risque pour les voyageurs	Le risque pour les voyageurs est généralement faible. Des flambées se produisent occasionnellement par suite de la propagation de l'infection par des systèmes de climatisation ou des canalisations d'eau contaminés dans des hôtels ou d'autres installations

➤ **Infections pulmonaires provoqués par Mycobactéries non tuberculeuses (MNT)**

Parmi les infections humaines aux MNT liées à l'eau, l'infection pulmonaire est très décrite. Dans ces cas l'eau sous forme d'aérosol est incriminée et cause des infections à MNT chez des adultes immunodéprimés et des adultes immunocompétents.

Concernant ces infections pulmonaires à MNT issu d'une inhalation d'aérosols contaminés dans les douches publiques, les locaux infiltrés d'eau et même des enceintes hospitalières sont des lieux de contamination par voix aériennes décrits au Canada, en Australie, en Finlande et aux USA. [37]

Les caractéristiques respectives de l'infection pulmonaire provoquée par MNT sont résumées dans le tableau N°02.

Tableau N°02 : Caractéristiques cliniques respectives des Infections pulmonaires provoqués par MNT . [62]

Cause	Complexe aviaire (<i>M avium</i> et <i>M intracellulare</i>), <i>M kansasii</i> , complexe <i>M. abscessus</i> , <i>M. xenopi</i> .
Mode de contamination	L'infection résulte de l'inhalation de vapeurs contaminées par MNT
Réservoir	-Les pommes de douche peuvent offrir un milieu de développement idéal à MNT responsables de pathologies respiratoires. -Dans les réseaux de distribution d'eaux chaudes, surtout si ceux-ci présentent des zones de ralentissement du flux ou des bras morts qui favorisent la formation de biofilms
Symptômes	Atteinte bronchique chronique avec toux sèche est présente chez presque 90% des patients. la fatigue, la fièvre et la perte de poids sont moins fréquemment décrites qu'avec la tuberculose souffle court, faiblesse et j'en passe.
Les Personnes à risques	-Les patients présentant une pathologie pulmonaire préalable: séquelles de tuberculose, pneumoconiose, bronchectasies, cancer bronchopulmonaire, fibrose pulmonaire, etc. -Personnes âgées -Femmes enceintes

2-2- voies digestives : De très nombreuses affections sont causées par des microorganismes pathogènes tels *le Giardia*, *E. coli* 0157:H7, *Shigella*, *Salmonella* et autres microbes qui se transmettent généralement par l'ingestion accidentelle d'eau des douches ayant été contaminée par des matières fécales (fièvre typhoïde, dysenterie, choléra, diverses intoxications alimentaires, amibiases et téniasis...etc.) Parfois l'affection est déterminée simplement par l'ingestion des toxines produites par les germes (botulisme). [63]

➤ **Choléra :**

Maladie diarrhéique contagieuse causée par des bactéries incurvées vibrions -qui excrètent une toxine : diarrhée entéro-toxinique. Selon les estimations, il y a chaque année 3 à 5 millions de cas de choléra, avec 100 000 à 120 000 décès. La brève période d'incubation, de deux heures à cinq jours, renforce la dynamique potentiellement explosive des épidémies.

Le Tableau N°03 résume les caractéristiques respectives de la maladie de choléra. [6]

Tableau N°03 Caractéristiques cliniques respectives de la maladie de choléra.

Cause	le bacille <i>Vibrio cholerae</i> .
Mode de contamination	par contact direct avec les mains d'un malade - ou d'un porteur sain - ou par ingestion d'eau ou d'aliments souillés par des déjections de malade.
Facteurs favorisant l'infection	mauvaise hygiène, malnutrition, inondations.
Période d'incubation	quelques heures à 6 jours selon la dose de bactéries ingérées.
Symptômes	Diarrhée aiguë aqueuse (souvent comme de l'eau de riz, souvent avec une odeur de poisson) avec ou sans vomissement, avec ou sans déshydratation sévère ou décès, chez un patient de plus de 5 ans. En effet si des adultes ou enfants de plus de 5 ans sont affectés, il y a une forte suspicion d'épidémie de choléra qui nécessite d'être investiguée.
Autres signes	Douleurs abdominales sans ténésme. Pas de température.

➤ **Amibiase** : Est une maladie infectieuse due à un parasite microscopique, un protozoaire hématophage dénommé *Entamoeba histolytica*, transmis par l'eau contaminée. Elle entraîne une infection gastro-entérite de type dysentérique (diarrhée accompagnée de sang et de mucus), qui se propage sur un mode épidémique et fait de très nombreux morts dans les pays en voie de développement. Outre l'atteinte digestive, le parasite peut également infecter d'autres organes tels le foie, le poumon et le cerveau (figure03). [25]

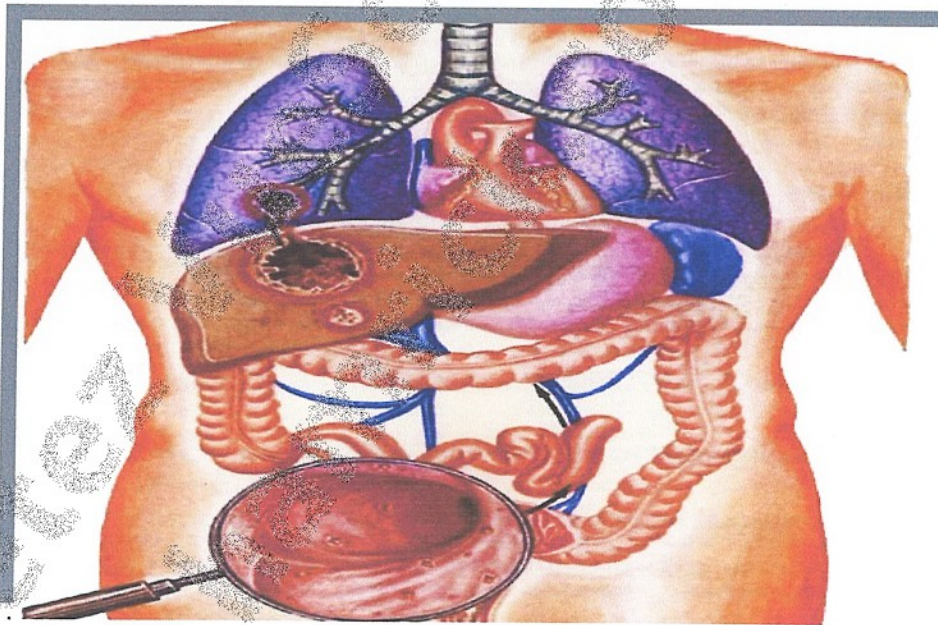


Figure N°03 : Parasitose : amibiase. [64]

Le Tableau suivant résume les caractéristiques respectives de la maladie de l'amibiase.

Tableau N° 04:Caractéristiques cliniques respectives de la maladie de l'amibiase. [25]

Cause	Le protozoaire <i>Entamoeba histolytica</i> .
Transmission	L'infection se transmet par la voie féco-orale, soit directement de personne à personne soit indirectement par la consommation d'eau ou d'aliments contaminés par des matières fécales.
Nature de la maladie	Le tableau clinique englobe infection asymptomatique, diarrhée, dysenterie, colite foudroyante, péritonite et amibiase extra-intestinale. L'amibiase aiguë se manifeste par une diarrhée ou une dysenterie avec selles fréquentes, peu abondantes et souvent sanguinolentes. L'amibiase chronique se manifeste par des symptômes gastro-intestinaux associés à la fatigue, une perte de poids et une fièvre occasionnelle. L'amibiase extra-intestinale survient quand le parasite envahit d'autres organes, généralement le foie, où il provoque des abcès hépatiques amibiens. Les abcès amibiens du foie s'accompagnent de fièvre et de douleurs de l'hypocondre droit.
Répartition géographique	Présente dans le monde entier, mais plus fréquente dans les zones ou les pays où les conditions d'hygiène sont mauvaises, en particulier sous les tropiques.
Précautions	Mesures d'hygiène concernant l'eau et les aliments. Il n'existe pas de vaccin.

➤ **La fièvre typhoïde :** Est une infection à déclaration obligatoire. Elle réalise un se psis à point de départ lymphatique .Le Tableau N°05 résume les caractéristiques respectives la fièvre typhoïde. [28]

Le Tableau N°05:Caractéristiques cliniques respectives de la fièvre typhoïde.

Cause	' <i>Salmonella typhi</i> ', ' <i>paratyphi A</i> ', ' <i>paratyphi B</i> ' ou ' <i>paratyphi C</i> '.
Répartition géographique	Elle est rare dans les pays développés où elle existe de façon sporadique. En Algérie, elle reste épidémique
source de contamination	essentiellement de nature fécale provenant soit de malades soit de porteurs chroniques
Réservoir	strictement humain.
contamination	soit directe par les selles contaminées ou les aliments manipulés par des porteurs, soit indirecte par l'eau, le laitage... etc.
L'incubation	silencieuse et dure de 7 à 15 jours.
CLINIQUE	<ul style="list-style-type: none"> • fièvre en plateau à 39-40° • vomissements • diarrhée jaunâtre "jus de melon" • céphalées, somnolence (tuphos) • langue saburrale • douleurs abdominales • taches rosées abdominales
Complications :	• hémorragie intestinale

➤ **Giardiase :** Est une infection intestinale causée par *Giardia lamblia*, parasite unicellulaire microscopique. Le parasite qui cause la giardiase se loge dans les intestins des humains et des animaux infectés. Le mode d'infection le plus fréquent est l'ingestion d'eau contaminée. L'infection se transmet de main en bouche par l'ingestion de nourriture contaminée ou en touchant des surfaces contaminées puis en avalant le parasite sans le savoir. [6]

Le Tableau N°07 résume les caractéristiques respectives la Giardiase.

Le Tableau N°06: Caractéristiques cliniques respectives de la Giardiase. [6]

Cause	Le protozoaire <i>Giardia intestinalis</i> , appelé aussi <i>G. lamblia</i> ou <i>G. duodenalis</i>
Transmission	L'infestation résulte généralement de l'ingestion de kystes de <i>Giardia intestinalis</i> présents dans de l'eau (eau de boisson non filtrée ou eaux de baignade) ou dans des aliments contaminés par des excréments humains ou animaux infestés
Nature de la maladie	De nombreuses infestations sont asymptomatiques. Quand ils surviennent, les symptômes sont principalement intestinaux : diarrhée chronique (selles d'abord aqueuses puis grasses et liquides), crampes abdominales, ballonnements, fatigue et perte de poids.
Répartition géographique.	Dans le monde entier
Risque pour les voyageurs	Le risque est important pour les voyageurs en contact avec des eaux de baignade utilisées par des animaux sauvages, avec de l'eau non filtrée dans des piscines ou avec de l'eau contaminée dans le système d'approvisionnement des collectivités.

2-3- voies cutanés :

Du fait de la macération et de la transpiration, les plis de la peau sont le siège privilégié des infections cutanées. Tous n'ont pas la même cause, certains sont la conséquence d'infections bactériennes (*Streptocoque*, *Staphylocoque*.) et d'autres d'infections mycosiques par des champignons microscopiques, dermatophytes ou *Candida*.

Les maladies cutanées se manifestent au niveau des plis de la peau, c'est à dire aine, aisselle, espace entre les doigts ou les orteils, nombril, sous les seins. La plus connue de ces atteintes est le pied d'athlète. [27]

❖ **Le pied d'athlète :** La mycose des pieds (figure N°05), également appelée «pied d'athlète» par certains spécialistes, est une infection provoquée habituellement par des dermatophytes. Ces derniers sont des champignons microscopiques qui se développent dans des atmosphères humides et chaude (douches). [27]

- ✚ Retirez le couvercle de la tête de douche, s'il y a un. Le couvercle peut tordre ou casser. Ne le forcez pas si elle semble bloquée. Ce n'est pas une exigence. Vous pouvez nettoyer la tête de douche avec encore attaché.
- ✚ Chauffer le vinaigre blanc sur votre poêle.
- ✚ Verser le vinaigre blanc chaud dans un bol ou un seau. Placez la pomme de douche dans le bol et le plonger dans du vinaigre blanc. Laissez tremper pendant 15 à 20 minutes.
- ✚ Effacer les trous dans la tête de douche avec un trombone ou un fil mince. Effacer tous les débris des trous. Rincez la tête de douche de retour dans le vinaigre.
- ✚ Rincer la pomme de douche et couvrir avec de l'eau chaude. Réinstaller la pomme de douche et le couvercle. Testez la douche pour vous assurer d'avoir réinstallé correctement. [66]
- ✚ Pour éviter la contamination, il est préférable d'utiliser un pommeau de douche entièrement métallique plutôt qu'en plastique, et de laisser couler l'eau une minute avant d'entrer dans la douche, car le film de bactéries est alors projeté dans l'air et les microgouttelettes peuvent être inhalées.
- ✚ Changer votre pommeau de douche de deux à quatre fois par an ou de passer à un métal on doit aider à réduire l'accumulation de bactéries, ajoutant que beaucoup de gens ont des têtes de douche vieille de plusieurs décennies. [67]



Figure N°05 : Installer un pommeau de douche [67]



Figure N°04: Le pied d'athlète. [27]

Le Tableau n°08 résume les caractéristiques respectives du pied d'athlète.

Le Tableau n°07 : les caractéristiques cliniques respectives du pied d'athlète

Cause	Ces mycoses sont dues à des champignons dermatophytes ou des levures (du genre <i>Candida</i>), qui véhiculent souvent des spores,
Contamination	La contamination se fait très fréquemment dans des endroits humides tels que les douches. Les chaussures trop serrées et qui retiennent la chaleur peuvent également constituer un lieu de développement de ces champignons, notamment lorsque les pieds transpirent excessivement. Par ailleurs, les personnes souffrant de certaines formes de lésions du pied peuvent contracter facilement la mycose.
Symptômes	Des démangeaisons rouges au niveau des zones infectées. Ces démangeaisons se font remarquer notamment à l'apparition de l'infection. Si celle-ci n'est pas traitée à temps, la peau acquiert une couleur grisâtre et forme de petites écailles sur la région concernée ainsi que sur les régions environnantes. Si à ce stade, le patient ne reçoit pas encore de traitement, la mycose des pieds cause des fissures au niveau de la peau et les sensations de douleur et de grattement s'aggravent encore plus.
Les endroits les plus touchés	Les ongles, les orteils, aine, aisselles, sous le sein
les personnes à risques	-les personnes diabétiques -les sportifs -les personnes âgées de plus de 40 ans

II-Les moyens de maitrise de la qualité microbiologique dan les douches :

Il est nécessaires de respecté de nombreuses dispositions légales en matière d'hygiène et de sécurité par :

1-Nettoyage de la pomme de douche :

- ✚ Retirer la pomme de douche. Cela peut nécessiter des pinces ou des pinces étaux. Si vous utilisez des outils, placez une serviette ou un chiffon sur la tête de douche pour le protéger des égratignures et les bosses.

- **Remarque :**

Si vous ne pouvez pas supprimer la tête de la douche pour nettoyer, remplir un petit sac en plastique comme un sac à sandwich avec du *vinaigre blanc* et bien serrer autour de la pomme de douche. Comme mentionné ci-dessus, faire tremper pendant 15-20 minutes.

2- Nettoyage des endroits des douches:

- + Nettoyer ou remplacer le rideau de douche souvent. Les résidus de savon sur le rideau peuvent être des lieux de prolifération des micro-organismes. [83]
- + Frottez la baignoire, Choisissez votre agent de nettoyage de choix et de frotter la racaille de votre baignoire régulièrement (après chaque usage), en évitant de laisser de l'eau stagner et former tartre et moisissures. [68]
- + Nettoyez régulièrement la cabine et les parois de douches (figure 06) avec une solution alliant eau et vinaigre. et répétez cette opération au moins une fois par mois, comme le recommandent la plupart des fabricants de rideaux de douche. [69]

Le vinaigre est un de plus redoutables ennemis des bactéries, avec une rate de destruction de 85-99%. Essayez avec un torchon propre trempé dans du vinaigre les surfaces de la salle de bains, le carrelage, versez-en dans les tuyaux. Rincez une fois par semaine les éviers avec deux verres de vinaigre. [70]

- + Lavez les serviettes et la descente de bain toutes les semaines.
- + Assurez-vous que l'espace sous l'évier est toujours propre et sec. Faites réparer les fuites!
- + Lavez les petites carpettes toutes les semaines.
- + Laissez la porte et le rideau de douche ouverts, pour que les murs sèchent.
- + Quand c'est possible, ouvrez une fenêtre ou utilisez un ventilateur extracteur pour aérer la pièce et enlever l'humidité pendant et après la douche car la vapeur d'eau non seulement favorise le développement des bactéries, mais empêche les serviettes de sécher et abîme les revêtements muraux.
- + Utilisez du linoléum, du vinyle ou des carreaux comme revêtement de sol (plancher)
- + Utilisez un porte-savon aéré afin d'éviter la décomposition du savon sur le rebord. [30]



FigureN°06: Nettoyage des parois de douche [77]

3-Production d'eau chaude sanitaire :

Les réseaux d'eau chaude sanitaire sont des lieux propices à la prolifération des Bactéries telle que *Legionella*, celles-ci se développant à des températures comprises entre 25 et 45°C. [71] (Figure n°07)

Le risque se situe essentiellement au niveau des douches qui génèrent des aérosols pouvant être inhalés par les usagers.

- * Prévoir si nécessaire des traitements adaptés anti tartre et anti corrosion
- * Maintenir et entretenir les installations de traitement

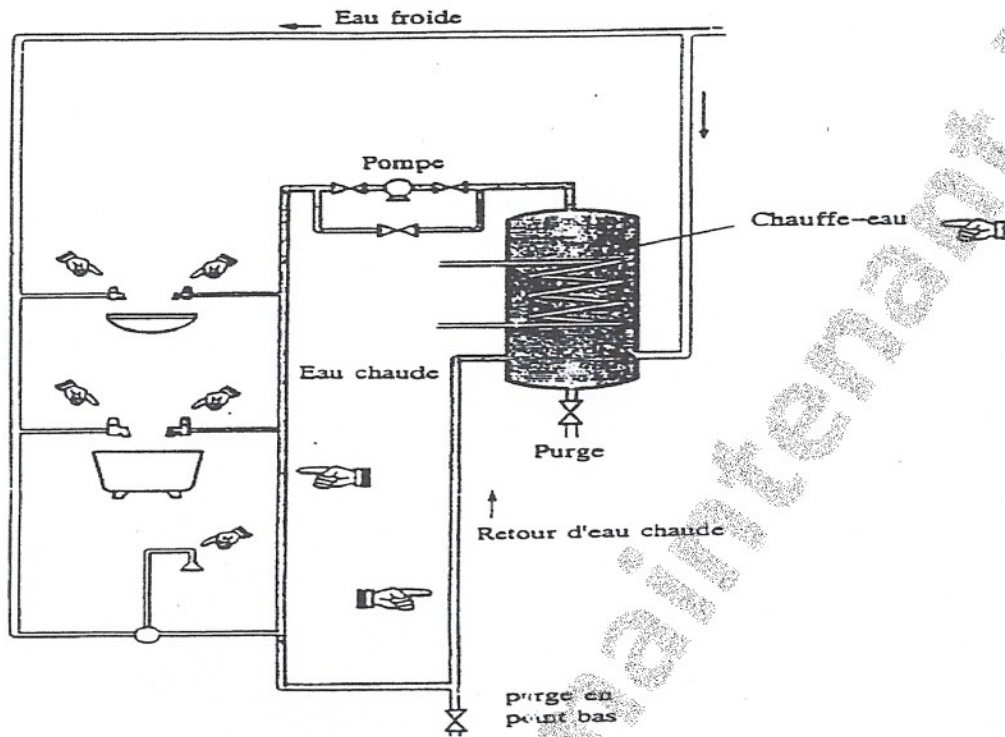


Figure N°07: Les zones de prolifération possible des légionelles [31]

3-1-Matériaux des canalisations :

Les matériaux des canalisations et les réservoirs des douches ne doivent pas dégrader la qualité de l'eau.

En particulier, il est nécessaire :

- ✓ d'identifier et de supprimer les canalisations en Plomb
- ✓ de ne pas utiliser de matériaux polymériques (Polychlorure de Vinyle ou Polyéthylène) dans un lieu où sont stockés des produits de nature organique (solvants par exemple...).
- ✓ D'utiliser le cuivre (figure n°08), le bronze et le laiton sont ainsi les premiers matériaux officiellement autorisés à revendiquer des propriétés sanitaires aux Etats-Unis. Cette reconnaissance est une étape importante pour l'utilisation du cuivre comme agent antibactérien.

Les propriétés naturellement antibactériennes du cuivre démontrent aujourd'hui leur efficacité tant sur des surfaces sèches qu'en milieu aqueux.

Le cuivre utilisé en tant que matériau de canalisation permet de :

Limiter la prolifération des légionnelles et de ralentir la formation du biofilm, inactivés les virus de la famille *Influenza*, réduisent le risque de contamination de l'eau par les bactéries *Escherichia coli* ou *Listeria* et tue la totalité des champignons ou bactéries *staphylocoques* en moins de 2 heures par simple contact. [26]

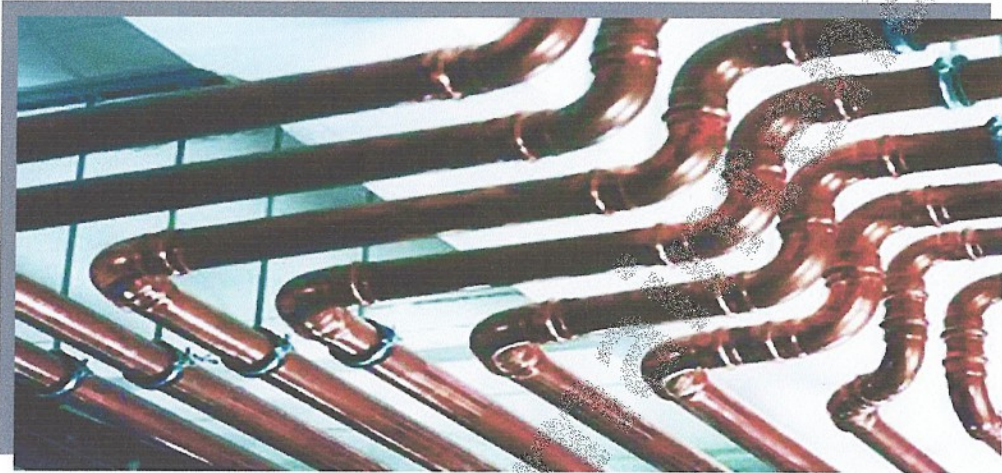


Figure N°08 : Des canalisations en cuivre. [26]

3-2-Réseau de distribution d'eau chaude sanitaire:

- ☛ Limiter la température maximale de l'eau chaude sanitaire aux points de puisage à 50°C pour éviter les risques de brûlures.
- ☛ Si possible mitiger au plus près des points de distribution.
- ☛ Effectuer un rinçage et le cas échéant une désinfection après tous travaux sur le réseau.
- ☛ Supprimer les bras morts et tous dispositifs favorisant la stagnation de l'eau.
- ☛ Vérifier l'absence de passage d'eau froide sur le réseau d'eau chaude (risque de réchauffement) et vice versa (risque de contamination microbiologique).
- ☛ Vérifier la bonne circulation dans la boucle d'eau chaude.
- ☛ Procéder à un entretien régulier :
 - ☐ S'assurer du bon fonctionnement des l'imitateurs de température.
 - ☐ vérifier l'état de fonctionnement des pompes de recirculation en cas de bouclage de l'eau chaude.
 - ☐ Désinfecter et rincer les canalisations une fois par an au minimum.
 - ☐ Détartrer tous les éléments périphériques de la distribution, joints, filtres de robinet, filtres de douche, flexibles de douche, au minimum une fois par an et les remplacer si nécessaire : détartrer dans une solution à pH

acide telle que acide sulfurique, vinaigre blanc.....). La mise en place d'une stratégie de renouvellement régulier et fréquent de ces dispositifs dans le cadre d'une action planifiée paraît à encourager.

- ☛ Procéder à des chasses aux extrémités des réseaux, sur tous points bas, toute zone et tous points d'usage à faible utilisation.
- ☛ Observer les tubes témoins pour évaluer le niveau d'entartrage ou de corrosion.
- ☛ Fonctionnement saisonnier et (ou) irrégulier de l'établissement.
 - Un soutirage d'eau est nécessaire lorsque les chambres ou lieux restent inoccupés pendant plusieurs jours et tout particulièrement avant la mise à disposition à un nouvel occupant.
 - Dans les établissements à fonctionnement saisonnier, il doit être procédé, avant la réouverture, à un nettoyage complet des réservoirs et des éléments de robinetterie suivi d'un écoulement prolongé à tous les points d'usage.

3-3-Pour l'eau :

- ❖ Si vous êtes préoccupé par les bactéries dans l'eau elle-même, vous serez heureux de savoir que presque toutes les municipalités des Etats-Unis utilisent un procédé de chloration pour désinfecter l'approvisionnement public en eau, éliminant pratiquement tous les organismes pathogènes dans l'eau.
 - Vérifier la qualité de l'eau par des recherches de Légionelles une fois par an conformément à la circulaire.
- ❖ Noter toutes les opérations d'entretien et de vérification sur un carnet sanitaire d'exploitation (date, nature, coordonnées de l'opérant)
- ❖ Mettre à jour le plan de réseau d'eau après toute modification. [31]

Partie expérimental

Chapitre III

Matériel et méthodes

Produced with ScanTOPDF

Matériels et méthodes :

I- Matériels :

Le matériel utilisé dans la partie expérimentale est représentés dans le tableau suivant :

(Tableau N°8).

Tableau N°08 : Matériels utilisés dans notre travail.

Appareillages	les milieux de culture	Les réactifs et les colorons utilisées	Autres matériels
-Autoclave. -Etuve. -Réfrigérateur.	-Gélose nutritive. -Gélose Hektœn. -Gélose Chapman. -Gélose Sabouraud. -Milieu TSL -Citrates de Simmons. -Clark et lubs. -Mannitol mobilité. -Urée- indole. -King A et King B. -Bouillon nutritive. -Eau peptonée tamponnée.	-L'alcool. -Fuchsine. -Huile de cèdre. -Lugol. -Réactifs de Kovacs. -Réactif de TDA. -Rouge de méthylène. -Violet de Gentiane. -Voges-Proskauer (VPI, VPII).	- Etiquettes. -Anse de platine. -Bec bunsen. -Boîte de pétri stériles -Ecouvillons. -Micro pipette. -Tubes à hémolyse. -Système Api 20 E. Verrerie : -Lames et lamelles. -Pipettes Pasteur. -Tubes à essai stériles.

II- Méthodes :**1- Cadre d'étude :**

L'objectif de notre travail est l'isolement et l'identification des micro-organismes provenant des douches publiques, afin de vérifier le niveau d'hygiène dans ces endroits qui peuvent être la cause de la propagation de plusieurs maladies hydriques.

Notre travail a porté sur deux cabines de deux douches différentes :

- La première chambre se situe dans une douche qui se trouve dans le centre ville de Guelma.
- La deuxième chambre se situe dans une douche de la région d'Ain Makhlouf.

Nos analyses ont été effectuées au niveau de laboratoire de microbiologie du département de biologie à université 08 Mai 1954 de Guelma.

2- Échantillonnage et méthode de prélèvement :**2-1-Échantillonnage :**

Les échantillons ont été prélevés à partir de deux douches affectons plusieurs endroits déterminés selon le tableau suivant : (Tableau N°09)

Tableau N° 09 : Présentation des sites de prélèvement.

Douche	Numéro de prélèvement	Site de prélèvement
Douche 01	P 01	Pomme de douche
	P 02	Robinet
	P 03	Mur
	P 04	Banc
Douche 02	P 01'	Pomme de douche
	P 02'	Robinet
	P 03'	Mur
	P 04'	Tasse

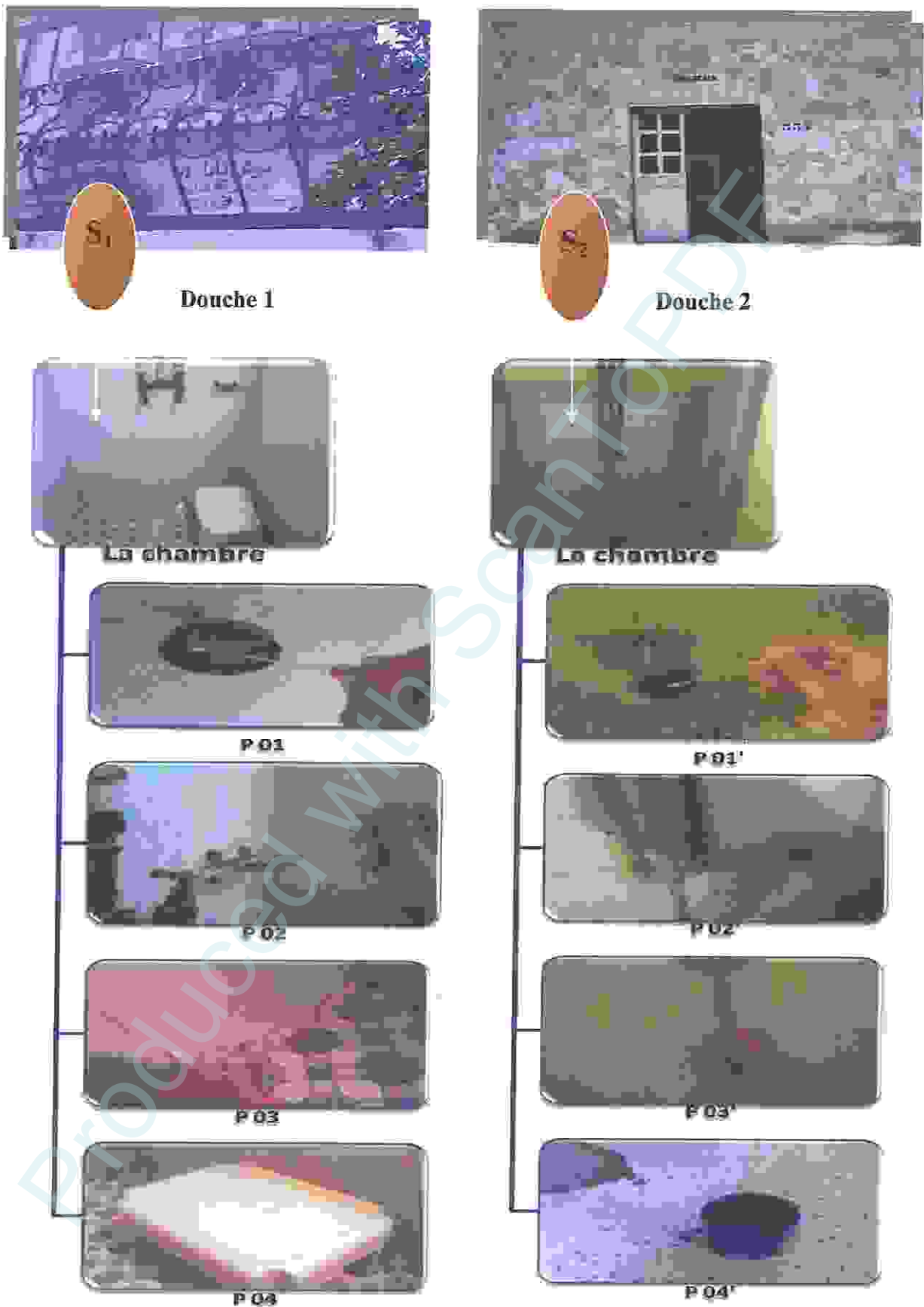


Figure N°09 : Les points analysés dans deux douches.

2-2-Méthode de prélèvement :

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide des écouvillons stériles rigoureux et humidifié avec l'eau distillée stériles que l'on frottait directement sur les surfaces à analysées. (Figure N° :09)

Remarque : Les prélèvements ont été étiquetés (la date, site de prélèvement, et le nom de douche).

3- Méthode d'analyse : (Figure N° 10)

3-1-Enrichissement

Après avoir effectués les différents prélèvements, les écouvillons sont introduits dans des tubes d'eau peptonée tamponnée. Les tubes sont ensuite acheminés au laboratoire dans un délai qui n'a pas dépassé trois heures ou ils ont incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures.

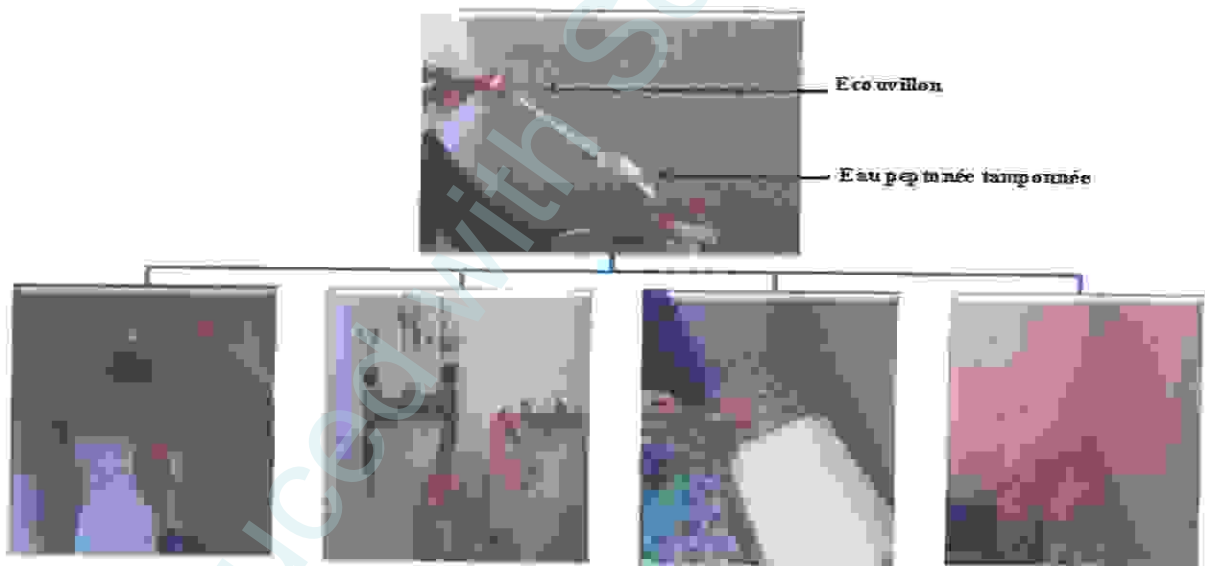


Figure N°10 : Méthode d'enrichissement

3-2-Isolement :

A partir des milieux d'enrichissement nous avons ensemencé plusieurs milieux de culture gélosés afin d'isoler le maximum des microorganismes présents sur les surfaces analysées.

L'ensemencement a été effectuée qui se fait par stries transversales sur des boîtes de pétri contenant les géloses suivants : (Figure N° 11)

- **Gélose Nutritive** : est utilisée dans le cadre de la microbiologie pour la culture d'une grande variété de microorganismes (*Salmonella*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Shigella*, etc...), L'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention de colonies bien isolées. [41]

- **Gélose Hektœn** : est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes.

En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène réduisent le citrate ferrique ammoniacal et se manifestent par un noircissement dû à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies. [45]

-L'aspect des microorganismes sur l'Hektœn est représenté dans le tableau suivant :

Tableau N°10 : L'aspect des microorganismes sur le milieu Hektœn

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies jaune saumon.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Arizona</i> , <i>Serratia</i>
Colonies jaune saumon à centre noir	<i>Proteus vulgaris</i>
Colonies vertes à centre noir	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> .
Colonie vertes ou bleuâtres	<i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Proteus morgani</i> , <i>Proteus rettgen</i>
Petites colonies bleues ou brunâtres	<i>Pseudomonas</i> (oxydase positive)

- ✦ **Gélose Chapman** : est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH).
La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). [41]

- ✦ **Gélose Sabouraud** : est un milieu peptoné et glucosé permettant la croissance des levures et des moisissures, et constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes.

Elle est recommandée essentiellement pour l'isolement des moisissures dans les prélèvements peu chargés en bactéries, les contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, la culture des moisissures en vue de réaliser leur identification. [38]

le protocole expérimental de notre travail est représenté dans le schéma suivant :

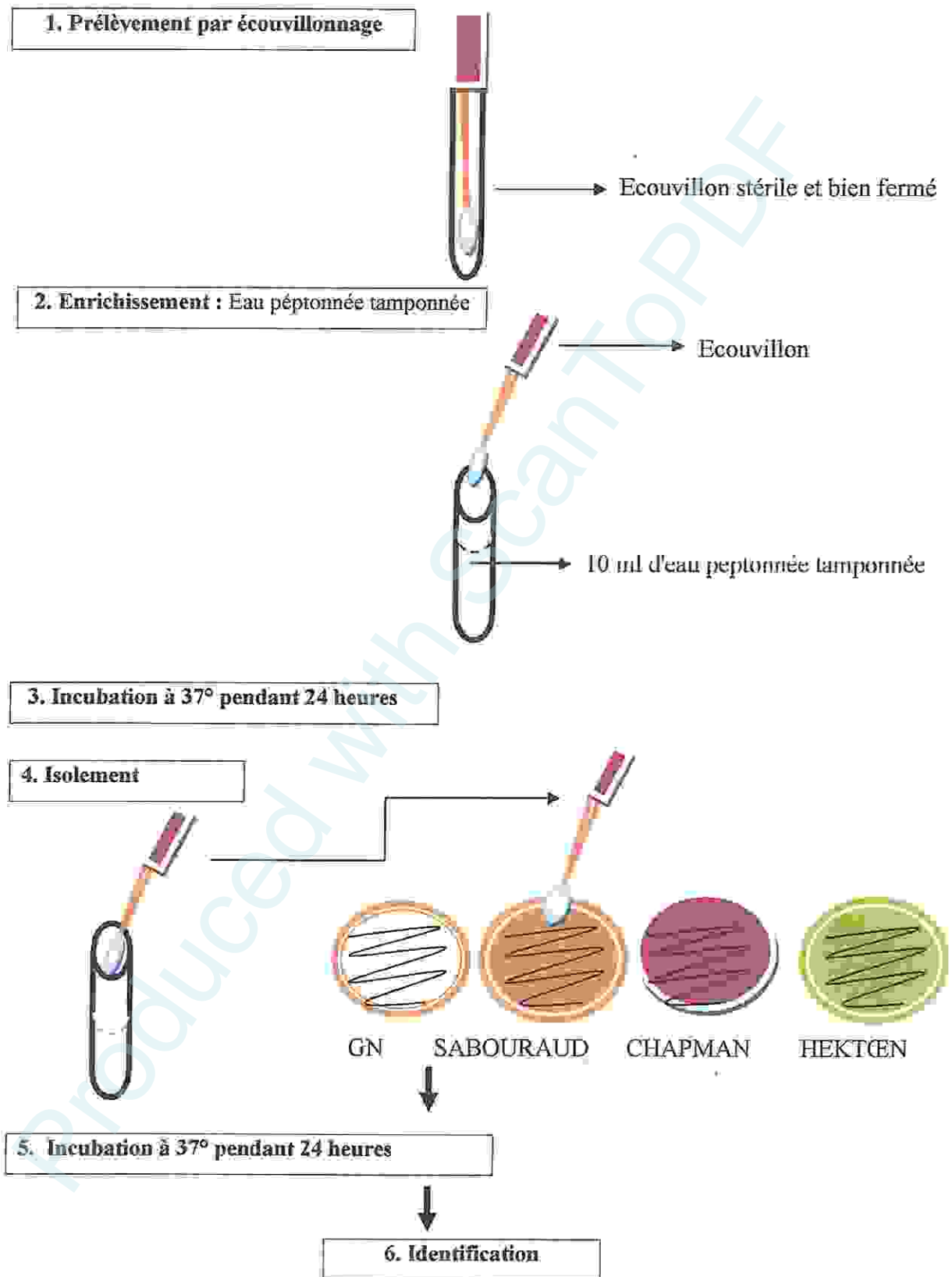


Figure N° 11 : Le protocole expérimental de l'analyse microbiologique des douches.

✓ Technique d'ensemencement :

L'inoculum est prélevé à l'aide d'une l'anse de platine dans des conditions d'asepsie rigoureuses à partir des milieux d'enrichissement, il est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par des stries sur toute la surface, les boîtes sont marquées puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

3-3- Identification :**3-3-1-Aspect macroscopique :**

L'identification des germes est basée sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement, cette observation servira de moyen d'orientation pour une identification plus approfondie.

3.2.2-Aspect microscopique :

A partir des colonies suspectes sur les différents milieux gélosés on réalise un examen direct à l'état frais et après coloration. Les buts et les méthodes d'examen microscopiques sont représentés dans le tableau suivant. (Tableau N°11)

Tableau N°11 : les buts et les méthodes d'examen microscopiques.

	Examen direct a l'état frais	Examen direct après coloration
Le but d'examen	- Permet de connaître la forme, la taille, la mobilité et l'abondance des bactéries ainsi que leur mode de groupement.	Coloration de Gram - Cette technique traditionnelle a pour but de déterminer l'aspect microscopique de la bactérie et la nature de sa paroi (Gram+ et Gram -), on peut observer la disposition des germes et leur morphologie (cocci, bacille, coccobacille). [15 ,20]
La méthode	-Déposer aseptiquement sur une lame porte-objet (propre) une goutte d'eau physiologique. -prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une colonie a partir du milieu gélosé, l'émulsionner dans la goutte ; puis recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air. Lecture : faire l'observation microscopique (X40)	Préparation d'un frottis : Avant tout coloration il faut réaliser un frottis -Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile. -Prélever à l'aide de l'anse de platine une colonie bactérienne. -Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène. -Réaliser le frottis en partant du centre de la lame en décrivant avec l'anse des mouvements circulaires se façon à obtenir un étalement. -Sécher et fixer le frottis au dessus de la flamme du bec bunsen. [15,20]
		A partir de la culture à étudier préparer un frottis. - Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane, laissé agir pendant 1 minute, rincer à l'eau. - Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute. -Rincer à l'eau courante. - Laver à l'eau puis à l'alcool à 95° , rincer à l'eau. - Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes. -Rincer a l'eau courante égoutté puis sécher au dessus de la flamme de bec bunsen. -Observer au microscope à immersion après avoir déposer une goutte de l'huile de cèdre au centre de la lame (X100). [15, 20]

3-3-3-Études des caractères biochimiques :

❖ Les entérobactéries :



A/ Les enzymes respiratoires :

⚡ Test Catalase : [13]

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Le tableau suivant explique le test de catalase : (Tableau N° :12)

Tableau N°12 : Les caractères de test catalase [78]



Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif	Aspect du test positif
-Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, -A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum. -Observer immédiatement. [21]	-La catalase : Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram +. [12]	Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase (+) -Pas de bulles : catalase (-)		

❖ **Test Oxydase :**

L'oxydase : enzyme intervenant dans divers couples d'oxydo-réduction. La recherche de la phénylène-diamine-oxydase qui agissant sur un substrat incolore, entraîne la formation d'une semiquinone rouge. Cette dernière très instable, s'oxyde rapidement en donnant un composé noirâtre. (Tableau N°00). [16,25]

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram (-) et permet de mettre en évidence une enzyme : **la phénylène diamine oxydase** des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : **le N diméthyl paraphénylène diamine** (Tableau N° 13) suivant.



Tableau N°13 : Les caractères de test d'oxydase.

Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif
-Sur une lame propre et stérile dépose un disque d'oxydase ensuite prépare une suspension bactérienne a partir de la colonie voulue et déposer une goutte de la suspension sur le disque. [16, 25]	-La phénylène diamine oxydase.	-Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est positif.	
		- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase : le test est négatif.	<p>Aspect du test positif</p> 

B/ la galerie biochimique classique :

Nous avons utilisé la galerie biochimique présentée dans le tableau suivant :



Tableau N°14 : les caractères de la galerie biochimique

Milieu	L'ensemencement	Caractères recherches	Résultat attendu
TSI (tri-sugar_iron)	<p>-Ensemencer abondamment la surface par des stries serrées, puis le culot par simple piqûre.</p> <p>-Mettre à l'étuve 24h à 37°C.</p>	<p>-Utilisation du glucose.</p> <p>-Utilisation du saccharose. [25]</p> <p>-Utilisation du lactose.</p> <p>-Production H₂S.</p> <p>-Production du gaz.</p>	<p>-Virage de la couleur vers le jaune : glucose, lactose et saccharose positif (+).</p> <p>-Formation de tache noire. (H₂S⁺)</p> <p>-Bulles de gaz dans le culot, parfois même une surélévation de la gélose : Gaz(+).</p> 
Citrate de Simmons	<p>-L'ensemencement de la pente se fait par une strie longitudinale, au fil droit, à partir d'une suspension bactérienne. -- Ne pas visser le bouchon à fond, afin de permettre les échanges gazeux. Incuber pendant 24 heures voire 3à4 jours, à 37°C. [35]</p>	<p>-Utilisation du citrate comme unique source de carbone est une utilisation aérobie et se traduira par une alcalinisation du milieu. [17]</p>	<p>- Virage de l'indicateur de pH au bleu. [17]</p> 

Suite de tableau N°14:

Milieu	L'ensemencement	Caractères recherches	Résultat attendu
Clark et lubs	<p>-Ensemencer largement.</p> <p>-Incuber 24h a 37°C.</p> <p>1. test VP</p> <p>-Ajouter 10 gouttes d'alpha naphthol et le même volume de soude concentrée(ou de potasse)</p> <p>-Attendre quelques min a 1 heure.</p> <p>2. Test RM</p> <p>-Ajouter 2 à 3gouttes de rouge de méthyle</p> <p>-La lecture est immédiate. [35]</p>	<p>-Production de l'acétone.</p> <p>-La réaction de Voges Proskauer (VP) consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne.</p> <p>-Mise en évidence de la voie des fermentations acides mixtes par le test RM (au rouge de méthyle).</p>	<p>1. Test VP</p> <p>Rouge : VP+ / Jaune : VP</p>  <p>2. Test RM</p> <p>Rouge :RM+ / Jaune :RM</p> 
Mannitol Mobilité	<p>-Ensemencer par piqure centrale à laide d'un fil droit.</p> <p>-Incuber pendant 24h à T° optimal. [35]</p>	<p>-Mannitol</p> <p>-Mobilité</p> <p>[80]</p>	<p>-Caractère mannitol : Apparition de couleur jaune.</p> <p>-La mobilité : les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle ; (formation d'un voile autour de la piqure). [35]</p> 

Suite de tableau N°14:

Milieu	L'ensemencement	Caractères recherches	Résultat attendu
Urée indole	-Ensemencer largement, Incuber 24h à 37°C. <u>Test d'indole</u> - Après incubation on ajoute à la culture le réactif à l'indole de Kowacks.	- l'uréase , enzyme hydrolysant l'urée, activité directement détectable par le suivi de l'alcalinisation. [32] - Formation d'indole la tryptophanase, après addition du réactif de Kowacks. Le diméthyl- amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kowacks réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge.	-Apparition de couleur rose: Uréase (+).  <u>Test positif</u> : Apparition d'un anneau rouge à la surface: indole (+). [32] 


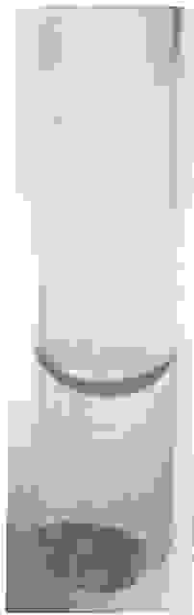
C- Les tests complémentaires :

✓ **Recherche de la Béta-galactosidase (ONPG) :**

La recherche de B-galactosidase ou test ONPG (Ortho-nitro phényle B-D galactosidase) permet de détecter l'enzyme capable de scinder la molécule de lactose positive, des bactéries lactose négatives. Ce test est pratiqué uniquement pour toute bactérie lactose (-), en 24 h sur milieu solide. [78]

Le tableau suivant explique le test de l'ONPG : (Tableau N° :15)

Tableau 15 Les caractères de test Béta-galactosidase.



Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif	Aspect du test positif
<p>On utilise l'ONPG Ortho-Nitro Phényle Galactosidase.</p> <p>A partir de Milieu lactose.</p> <p>-Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée.</p> <p>-Ajouter avec une pipette une goutte de flambée mais refroidi, disque imprégné d'ONPG.</p> <p>-Incuber 30 min à 37°C.</p> <p>-la majorité des réactions positives sont observées entre 15 et 30 mn.</p>	<p>- une β-galactosidase-membranaire</p> <p>- une β-galactosidase</p>	<p>-Milieu jaune : ONPG +</p> <p>-Milieu sans couleur : ONPG -</p>		

✓ **Test TDA:**

La désaminase agit sur le L-tryptophane en donnant l'acide indole-pyruvique : l'acide indole pyruvique donne avec le perchlorure de Fer une coloration brune rouge. [78]

Le test est réalisé sur le milieu urée-indole selon le tableau suivant. (Tableau N°16)

Tableau N°16 : Les caractères de test TDA.



Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif	Aspect du test positif
-Faire une suspension en milieu Urée-indole. -Étuver -Ajoute 2 ou 3 gouttes du réactif de TDA.	-La tryptophane désaminase (TDA), après addition de chlorure de Fer III: le Fer III forme un complexe avec le produit de l'activité de la TDA. L'acide indole-3-pyruvique, complexe décelable par l'addition d'un précipité marron. [32]	-Obtention d'un précipité brun foncé : TDA (+) -Absence de précipité avec couleur de milieu : TDA (-)		

✓ Test : Décarboxylase ODC, LDC et des dihydrolase ADH bactériennes

Le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* et *Pseudomonadaceae*, est souvent facilité par la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH).

Les deux types d'enzymes ont été rassemblés parce que leurs techniques de recherche sont identiques. De plus, en ce qui concerne l'ADH, la technique utilisée ne permet pas de distinguer entre deux activités enzymatiques : l'activité dihydrolase et l'activité décarboxylase.

Tableau N°17 : Recherche des lysines, ornithine Décarboxylases : LDC et ODC.

Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif	Aspect du test positif
-Ensemencer le milieu de Moeller avec une goutte de suspension. Agiter (si le tube n'est pas plein le recouvrir de vaseline stérile). 3 tube contenant respectivement: * Milieu Moeller (Témoin) * Milieu Moeller +lysine (LDC) * Moeller+ornithine (ODC) -Fermer le tube entièrement afin de créer une anaérobiose relative. Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C. [35]	LDC ODC	-Une bactérie non décarboxylante utilisera les peptones du milieu, et produira des acides organiques ainsi que des bases faibles comme l'ammoniac, ; Le milieu deviendra jaune. -Une bactérie décarboxylante, après avoir utilisé le glucose va produire du dioxyde de carbone et des amines. L'alcalinité des amines est importante, et le virage de l'indicateur de pH sera obtenu le milieu restera violet.		

D- Etude des caractères biochimique par la galerie API 20E :

La galerie 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 (fig.12), ainsi qu'une base de données. [29]

- **Principe :**

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. 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. [28]



Figure N°12 : Galerie API 20E.

- **Mode opératoire :**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes : [29]

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ✓ Remplir tubes et cupules des tests : [CIT], [VP], [GEL], avec la suspension bactérienne.
- ✓ Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- ✓ Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures. [29]

- **Lecture :**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- ✓ Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

- ✓ Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- ✓ Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacks. Un anneau rouge obtenu en 2minutes indique une réaction positive. [9]

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E.

- **Identification :**

- ⚡ **Avec le tableau d'identification :**

Comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau ;(annexe)

- ⚡ **Avec le catalogue analytique :**

Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification. [23]

- ⚡ **Avec un logiciel d'identification. [81]**

- ❖ **Les Staphylocoques :**

- 1-Isolément sur le milieu Chapman :

- ⚡ **L'aspect macroscopique :**

Les colonies des staphylocoques sont petites, plates, rondes, lisses et jaunes.

- Les souches de *Staphylococcus aureus* forment des colonies luxuriantes et élaborent leur propre pigment. Les colonies s'entourent en 24 à 48 heures d'une auréole jaune due à la fermentation d' mannitol.
- Les souches de *Staphylococcus epidermidis* donnent naissance à de petites colonies qui, dans la majorité des cas, rondes ; lisse et opaque et pigmentation avec un diamètre de 1 à 2 mm, se développent sans modifier la teinte du milieu.

Ce pendant il faut noter qu'une minorité non négligeable de souche de *Staphylococcus epidermidis* est capable de fermenter le mannitol. [24]

- ⚡ **Mannitol :**

La fermentation du mannitol se traduit par le virage de couleur du milieu au jaune.

2-Identification par la coloration de Gram :

- Les staphylocoques apparaissent à l'examen microscopique : des cocci à Gram (+) regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappes de raisin).

3- Recherche des caractères biochimiques : (Tableau N°18)

Suite au manque de l'API Staph, l'identification biochimique des staphylocoques a été réalisée par la galerie classique.

Les tests d'identification sont réalisés comme ceux déjà effectués pour l'identification des entérobactéries.

↳ Test Catalase :

Toutes les espèces de genre *Staphylococcus* sont catalase positives.

Tableau N°18: Caractéristiques des souches de *staphylocoques* les plus fréquemment isolées:

<i>Staphylocoque</i>	<i>Aureus</i>	<i>intermedius</i>	<i>Epidermidis</i>	<i>Saprophyticus</i>
Mannitol	+	-	-	+
Coagulase	+	-	-	-
Catalase	+	+	+	+

❖ Les *Pseudomonas* :**1-Identification par la coloration de Gram :**

Les *Pseudomonas* apparaissent à l'examen microscopique : Bacille à Gram(-)

2-Recherche des caractères biochimiques :

- L'identification biochimique des *Pseudomonas* a été réalisée par la galerie classique.
- Les tests d'identification sont réalisés comme ceux déjà effectués pour l'identification des entérobactéries.
- Pour la confirmation de *Pseudomonas aeruginosa*, procéder aux différents tests biochimiques d'identification communs, tels que la recherche des enzymes respiratoires (catalase, oxydase), de l'ADH, LDC, ODC.

En outre effectuer un test plus spécifique à l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*, Et qui consiste à :

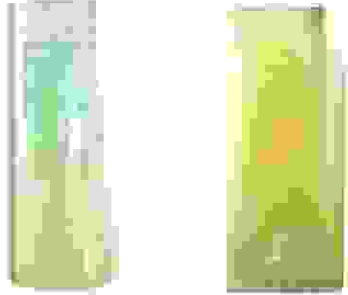

✚ La recherche pyocyanine et pyoverdine des pigments spécifiques :

▪ Principe :

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu, ce qui justifie l'utilisation de deux milieux différents : King A et King B. (Tableau N°19)

- la production de pyocyanine, due spécifiquement à *Pseudomonas aeruginosa*, est favorisée par la présence d'ions inorganiques et de certains acides aminés qui composent le milieu King A.
- la production de pyoverdine, caractéristique du groupe fluorescent, dépend de la nature des peptones, et favorisée par la teneur élevée en phosphate présents dans le milieu King B. [17]

Tableau N°19 : Les caractères de test King A et King B.

Techniques	Caractères recherchés	Résultats	La production de pigment est positive (+)	
			King A	King B
-A l'aide d'une anse de platine en ensemences les deux milieux King A et King B en faisant une strie médiane à la surface de la gélose. - Fermer les tubes sans serrer et incubé à 37°C pendant 24 h. [1]	- Les milieux de King A et B permettent de différencier entre les différences espèces du genre <i>Pseudomonas</i> .	La présence des pigments diffusibles se traduit par l'apparition d'une couleur qui peut diffuser sur toute la pente. -Sur le milieu King A : couleur bleu donc présence de pyocyanine. -Sur le milieu King B : couleur jaune-vert fluorescent sous UV donc présence de pyoverdine.		
			La production de pigment est négative (-)	

NB :

- Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle (il permet d'observer la mobilité des germes) et la coloration de Gram.

- Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.
- Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent (*P. fluorescens*) est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. [39]

❖ Levures et champignons :

Par manque de moyens, l'identification des levures et des champignons a été basée sur :
les caractères macroscopiques et microscopiques.

↓ Caractères macroscopiques

- Description du recto de la culture, aspect, couleur
- Description du verso de la culture, couleur, existence de crêtes, présence de pigment qui diffuse dans la gélose.
- Délai de culture.
- Aspect de la colonie: plate ou surélevée, plane, plissée ou cratériforme, glabre, plâtreuse, poudreuse, granuleuse, duveteuse ou floconneuse. [82]

↓ Caractères microscopiques: examen des organes fongiques:

- Noter la présence, l'abondance et la forme des filaments mycéliens, arthrospores, microspores (microconidies), macrospores (macroconidies), formations ornementales (vrilles, organes pectinés, organes nodulaires, chandeliers faviques). [82]
- Les organes et fructifications des champignons sont étudiés :
 - ✓ Le thalle lévuriforme ou filamenteux
 - ✓ L'appareil sporifère végétatif et leur mode de formation
 - ✓ L'appareil sexué périthèces et ascospores. [40]

Chapitre IV

Résultats et discussion

Produced by ScanTOPDF

1-Résultats de l'enrichissement :

Les résultats de l'enrichissement apparaissent après une culture de 24 heures, où on a constaté un trouble au niveau de tous les qui signifié une croissance bactérienne. (Figure N°13).

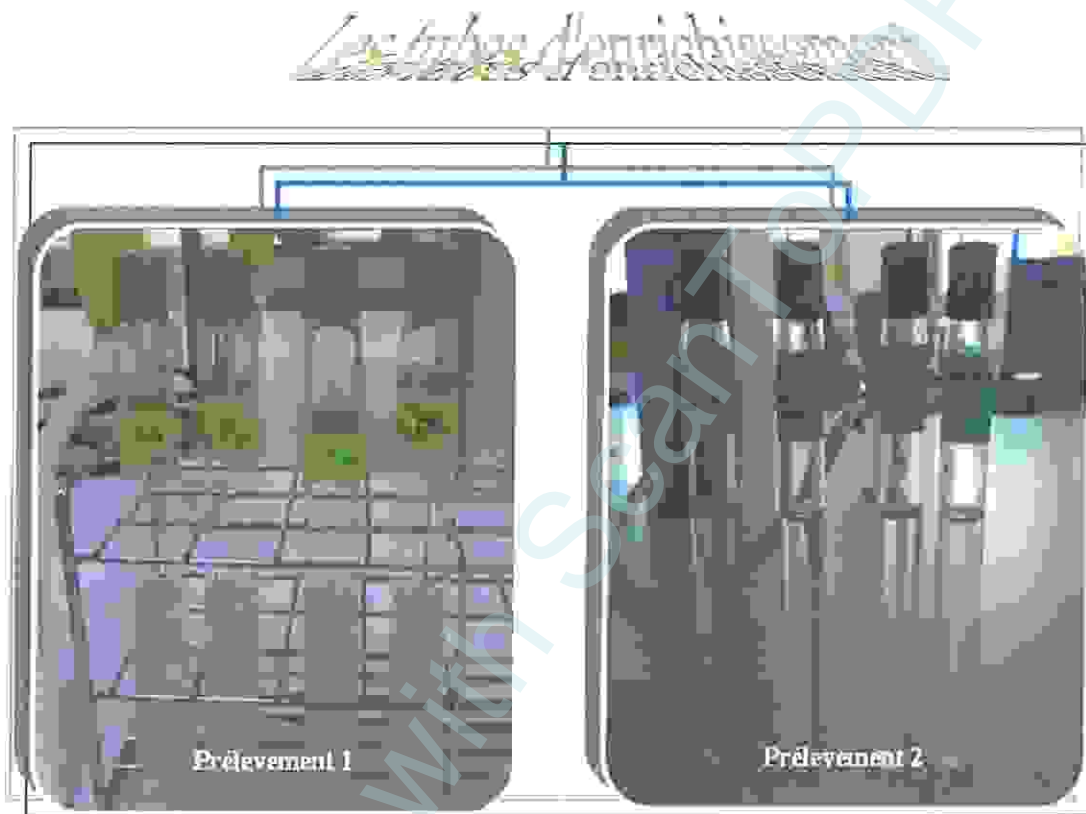


Figure N°13: Résultat de l'enrichissement.

2- Résultats d'isolement :**2-1-Aspect macroscopique des colonies après l'isolement :**

Après un temps d'incubation de 24 heures à 37°C, l'examen macroscopique des colonies poussées sur les milieux utilisés (Gélose Nutritive, Chapman, Hektoen, Sabouraud) est résumé dans les deux tableaux suivants :

Tableau N°20 : Résultats de l'isolement des prélèvements du douche (1).


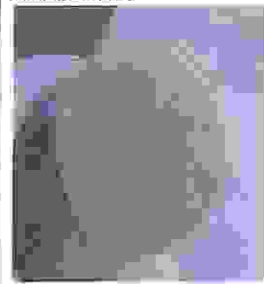




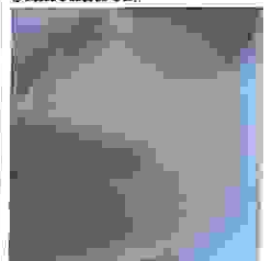

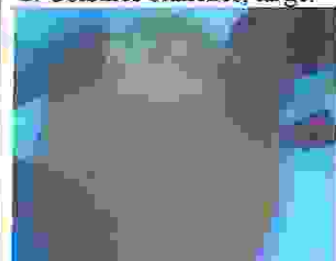


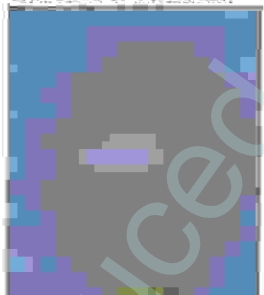
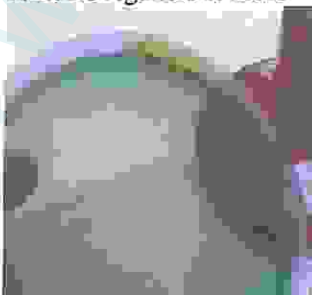
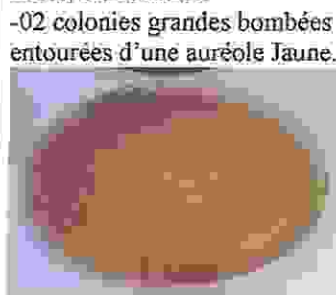








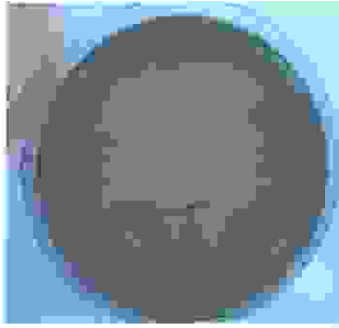



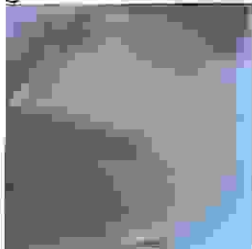





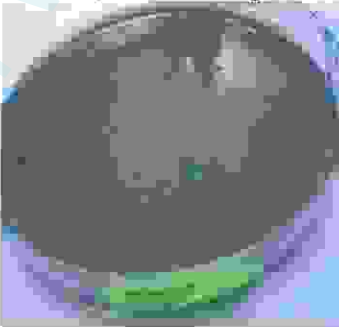



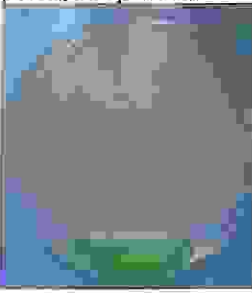
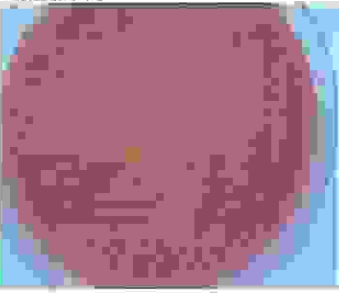
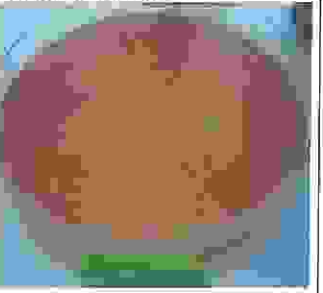

	GN	Héktoen	Chapman	Sabouraud
Pomme 	- Colonies moyennes blanchâtres. 	-Colonies : Vertes, saumon avec centre noir, à contours réguliers. 	-Colonies : Large, jaunes, bombées avec auréole jaune. 	-Colonies : Petites, plates et lisses. 
Mur 	- Colonies : larges à contour irrégulier. - Colonies moyennes, muqueuses bombées et blanchâtres. 	-Virage de couleur du milieu au rouge. 1. Colonies petites, jaunes, rondes et bombées. 2. Colonies Vertes, aplaties. 	- Virage de couleur du milieu aux jaunes. 1. Colonies : Petites, roses avec centre blanc. 2. Colonies blanches, large. 	-Colonies : Petites, bombées et blanches. 
Robinet 	- Colonies moyennes, blanchâtres et plates. - Colonies grandes, blanches et bombées. 	- Colonies : Vertes, saumon, petites, et moyennes avec centre foncés, bombés, à contours réguliers et lisses 	- Virage de couleur du milieu au jaune. - Colonies : Très petites, lisses, blanchâtres. -02 colonies grandes bombées entourées d'une auréole Jaune. 	- Colonies : Petites, blanchâtres et bombés. 
Banc 	-Grandes colonies blanchâtres. -Petites colonies blanches. Lisses, Plates, muqueuses. 	-Virage de couleur du milieu au rouge-orange. -Colonie: Jaune saumon, très petites colonies. 	-Virage de couleur du milieu au jaune. 1. Colonies blanches, moyenne, pigmentées en jaune-orangé entourées d'une auréole jaune. 2. Quelques colonies (7 colonies) roses avec centre blanc bombés. 	-Très petites colonies plates. 

Tableau N°21 : Résultats de l'isolement des prélèvements du douche (2).

	GN	Hektøen	Chapman	Sabouraud
Pomme 	-Colonies blanches, rondes, lisses, à contour régulier. 	-Colonies : Petites, vertes avec centre foncé. 	- Virage du milieu au jaune. -Colonies : moyennes, jaunes, entourées d'une auréole jaune, bombées, muqueuses. 	- Pas de culture 
Mur 	-Colonies : blanche, lisses, à contours irréguliers, de taille moyennes, petites et grandes. 	-Colonies : Très petites et moyennes, rondes, vertes avec centre foncé et noir, bombées et lisses. 	- Virage de couleur du milieu au jaune -Colonies : Jaunâtres, petites et moyennes, bombées. 	- Pas de culture 
Robinet 	-Colonies de tailles moyennes et grandes, blanchâtres et blanches et Bombées. 	- Colonies : Vertes saumon, Très petites à moyennes, lisse, rondes, avec centre foncé, bombées, à contours réguliers 	- Virage du milieu au jaune. - Colonies : Petites, lisses, Blanchâtres, blanches et bombées 	- Colonies : Très Petites et Plates. 
Tasse 	-Colonies : Grandes, petites et moyennes, blanchâtres, lisse, plates, muqueuses. 	-Virage de couleur du milieu au jaune-orange. -Colonies : Jaunés, Petites et Bombées. 	-Virage du milieu au jaune. - Quelques colonies (7 colonies) roses avec centre blanches bombées. 	-Très petites colonies plates. 

2-2-Examen microscopique :

Les résultats de l'état frais et de la coloration de Gram sont résumés dans les deux tableaux suivants :

Tableau N°22 : Résultats de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration des prélèvements du douche (1).

		Etat frais	Coloration de Gram
Pomme	GN	-Cocci mobiles et immobiles, cocci en chaînettes. -Bacilles immobiles, diplobacilles.	Bacilles à Gram +, en chaînette
	Chapman	-Cocci mobiles/immobiles isolées et diplocoques.	Cocci à Gram +
	Hektoen	- Coccobacilles mobiles -Bacilles mobiles	Coccobacilles à Gram - Bacilles Gram -
	Sabouraud	-Bacilles mobiles isolés - Coccobacilles mobiles.	/
Mur	GN	- Bacilles mobiles, Cocci mobiles et diplocoques, bâtonnets.	Bacilles à Gram + Cocci à Gram -
	Chapman	- Cocci isolées, mobiles.	Cocci grappe de raisin à Gram +
	Hektoen	-Bacilles mobiles et immobiles - Coccobacilles	Bacilles à Gram - Coccobacilles à Gram -
	Sabouraud	- Bacilles immobiles -Cocci mobiles	/
Robinet	GN	-Bacilles mobiles et immobiles -Bacilles en chaînette.	Bacilles à Gram -
	Chapman	-Cocci immobiles	Cocci grappe de raisin à Gram + Cocci à Gram +
	Hektoen	- Bacilles immobile, bâtonnets - coccobacilles mobiles	Bacilles à Gram - Coccobacilles à Gram -
	Sabouraud	- Bacilles immobiles.	/
Banc	GN	-Cocci et diplocoques mobiles	Cocci à Gram +
	Chapman	-Cocci en amas. - Diplocoque mobiles.	Cocci à Gram +
	Hektoen	-Bacilles mobiles.	Bacilles à Gram -
	Sabouraud	- Des filaments non cloisonnés	/

Tableau N°23: Résultat de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration des prélèvements du douche (2).

		État frais	Coloration de Gram
Pomme	GN	-Cocci mobiles et immobiles bâtonnets. -Cocci en chaînettes.	Cocci à Gram -
	Chapman	-Cocci mobiles/et immobiles -Diplococci mobile	Cocci à Gram +
	Hektoen	- Coccobacilles mobiles	Coccobacilles à Gram -
	Sabouraud	/	/
Mur	GN	-Bacilles mobiles.	Bacille à Gram +
	Chapman	- Cocci mobiles, diplocoques en amas	Cocci grappe de raisin à Gram +
	Hektoen	-Bacilles mobiles et immobiles	Bacille à Gram -
	Sabouraud	/	/
Robinet	GN	-Cocci mobiles	Cocci à Gram -
	Chapman	-Colonies roses : cocci et diplocoques mobiles -Colonies blanches: cocci et diplocoques immobiles en amas	-Cocci grappe de raisin à Gram + -Cocci à Gram +
	Hektoen	-Bacilles immobiles -Bacilles mobiles	bacilles à Gram -
	Sabouraud	- Cocci en chaînettes mobiles et diplocoques mobiles,	/
Tasse	GN	-Bacilles très mobiles -Cocci et diplocoques mobiles -Diplobacilles et coccobacilles mobiles	Cocci à Gram - Bacilles Gram -
	Chapman	-Cocci et diplocoques mobile et en amas.	Cocci à Gram +
	Hektoen	-Bacilles immobiles.	Bacille à Gram -
	Sabouraud	- Bacilles immobiles	/

(/) : Test n'est pas réalisé.

L'aspect microscopique des souches isolées est représentées dans les figures suivantes :
(Figure N°14, 15).

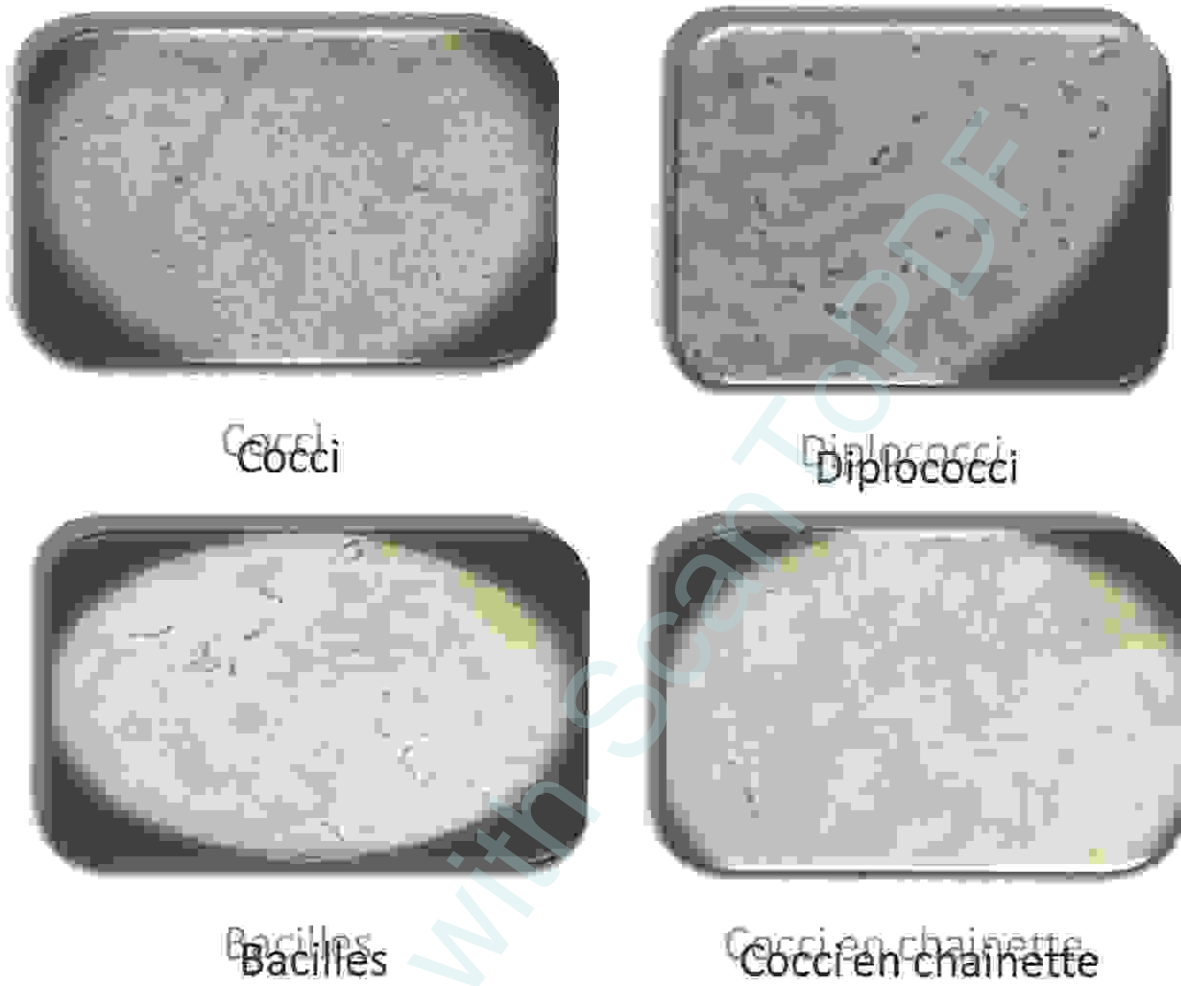


Figure N° 14 : Observation microscopique à l'état frais des Bacilles et des Cocci (x40)

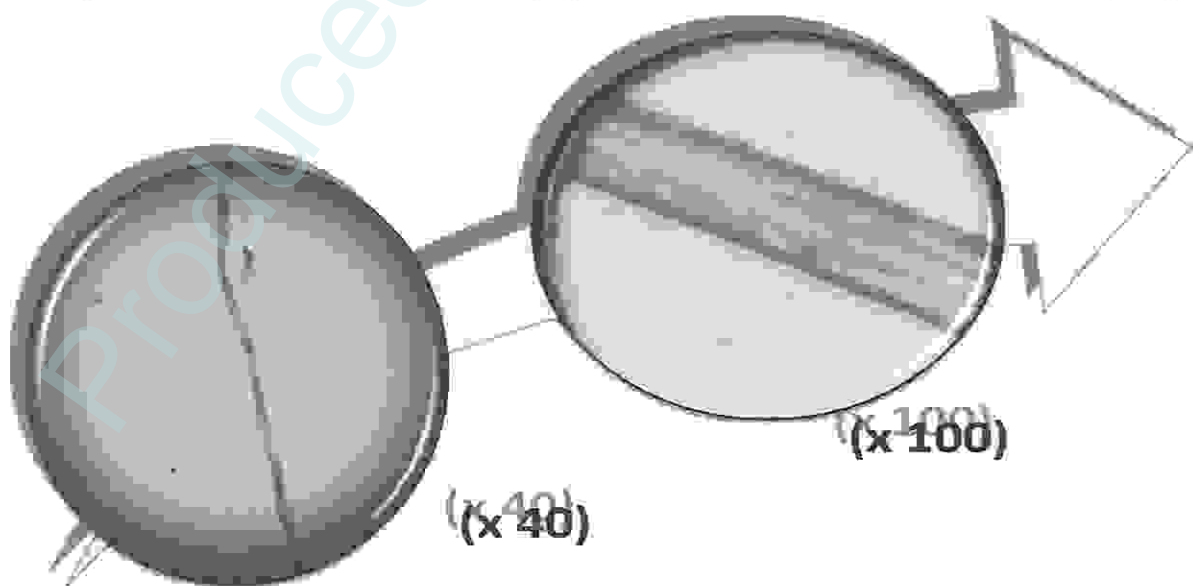
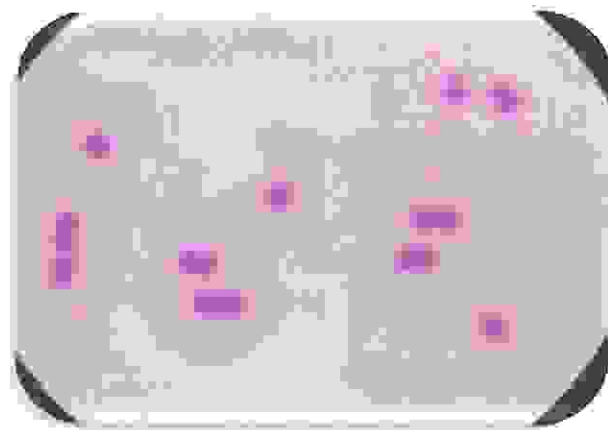
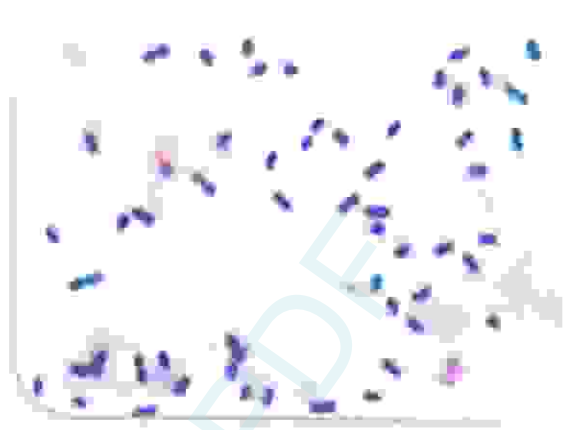


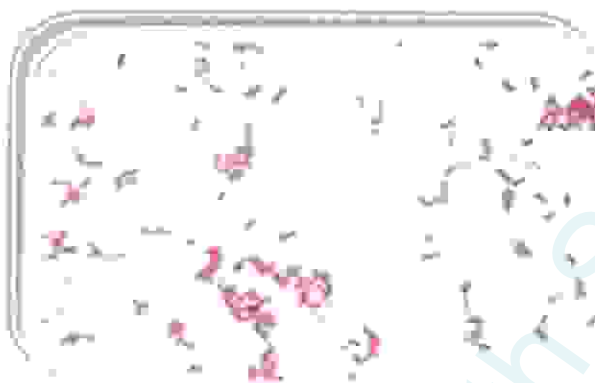
Figure N° 15 : Observation microscopique à l'état frais de filament non cloisonné.



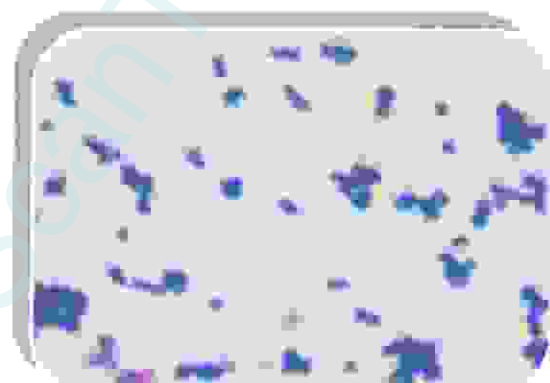
Cocci à Gram -



Cocci à Gram +



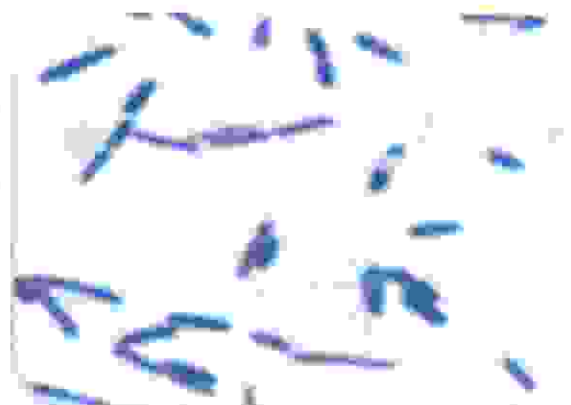
Bacilles à Gram (-)



diplococci à Gram (+)



Coccobacilles à Gram -



Bacilles Gram +

Figure N° 16: Observation microscopique après coloration de Gram (X100).

3-Résultats de l'identification biochimiques :

L'étude biochimique nous a permis d'identifier 16 espèces bactériennes dans les 8 prélèvements ; la présence de ces bactéries avec des concentrations assez importantes est synonyme de risque sanitaire potentiel, les résultats sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau N°24 : Les germes identifiés

Prélèvement	Sites de prélèvement	Les germes identifiés
Premier prélèvement	P (01)	- <i>Hafnia alvei</i> 1
	P (02)	- <i>Proteus penneri</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	P (03)	- <i>Enterobacter aerogenes</i> - <i>Yersinia enterocolitica</i> , - <i>Providencia rettgeri</i>
	P (04)	- <i>Staphylococcus epidermidis</i> - <i>Escherichia coli</i> 1
Deuxième prélèvement	P (01')	- <i>Klebsiella oxytoca</i> - <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
	P (02')	- <i>Plesiomonas shigelloides</i> , - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	P (03')	- <i>Aeromonas hydrophila</i> gr. I - <i>Chryseobacterium meningospticum</i>
	P (04')	- <i>Yersinia kristensenii</i> , - <i>Pasteurella multocida</i> 2.

Les tests préliminaires effectués répondent aux caractéristiques de chaque groupe bactérien, qui sont :

3-1- Pour les *Entérobactéries* :

- Bacilles colorés en rose c'est-à-dire ; des bactéries Gram (-)
- Catalase (+)
- Dépourvus de Cytochrome oxydase.

➤ **Résultat de la Galeries API 20E :**

Les résultats des galeries API 20E pour l'identification des différentes souches des *entérobactéries* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau N° 25: Résultat de la galerie API 20 E

Prélèvements	Code	Espèces
P (02)	0036020	- <i>Proteus penneri</i> (Fig.17)
P (03)	3046127	- <i>Aeromonas hydrophila gr.1</i> (Fig.18)

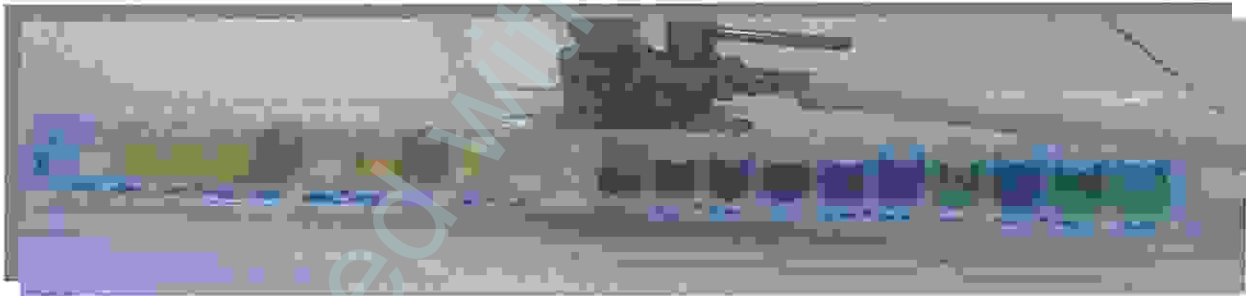


Figure N°17 : Les Galeries API 20E après l'incubation à partir de prélèvement (02) :

Proteus penneri.



Figure N°18 : Les Galeries API 20E après l'incubation à partir de prélèvement (03) :

Aeromonas hydrophila gr.1.

➤ Résultat de la Galeries biochimiques classiques :

Les résultats des galeries biochimiques classiques pour l'identification des différentes souches des *Entérobactéries* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau N°26: Les caractères biochimiques des espèces identifiées à partir des prélèvements des deux douches

Test Germe identifié	TSI			Citrate de Simmons	Mannitol-mobilité		Urée indol			Clark et Lubs		Acide aminé			ONP
	H ₂ S	Gaz	Suc		MAN	MOB	URE	IND	TDA	VP	RM	ADH	LDC	ODC	
P(03) (Fig.19) <i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+
P (01) (Fig.20) <i>Hafnia alvei 1</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+
P (03) (Fig.21) <i>Yersinia enterocolitica</i>	-			-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
P (03) (Fig.22) <i>Providencia rettgeri</i>	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
P(02')(Fig.23) <i>Plesiomonas shigelloides</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
P(04')(Fig.24) <i>Yersinia kristensenii</i>	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
P(01')(Fig.25) <i>Klebsiella oxytoca</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
P(04')(Fig.26) <i>Pasteurella multocida 2</i>	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-
P(03')(Fig.27) <i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
P (04) (Fig.28) <i>Escherichia coli 1</i>	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+

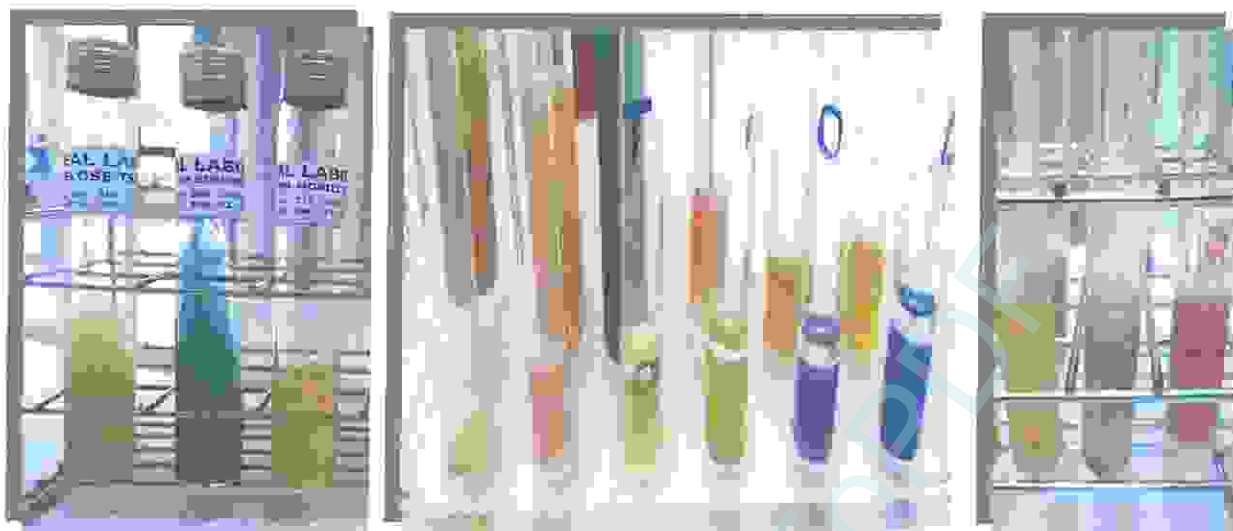


Figure N° 19 : Galerie biochimique classique de P(03), pour *Enterobacter aerogenes*.

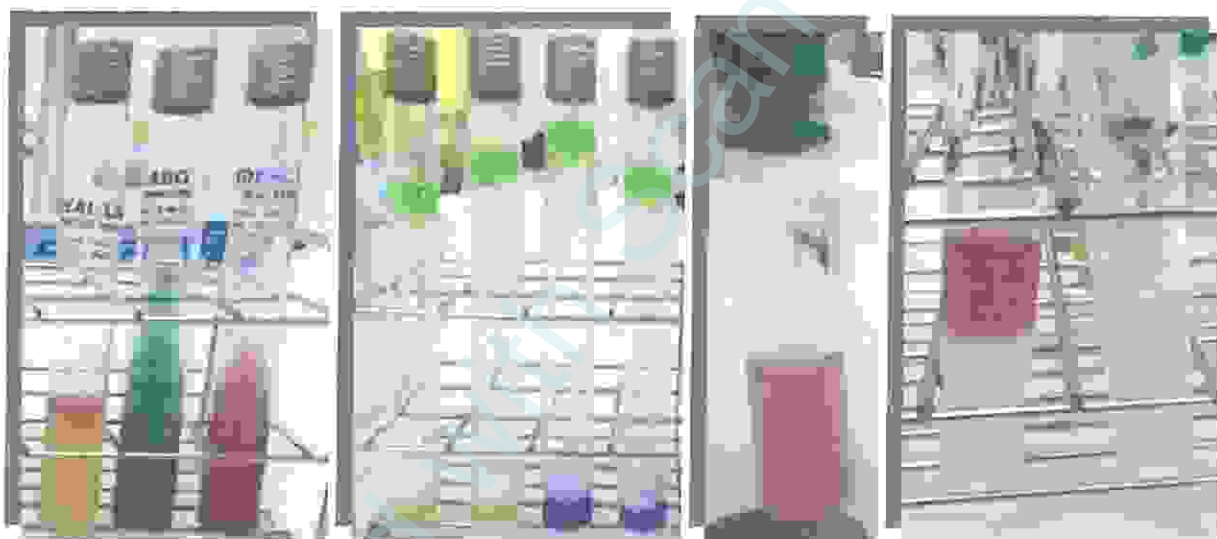


Figure N° 20 : Galerie biochimique classique de P(01), pour *Hafnia alvei* f.

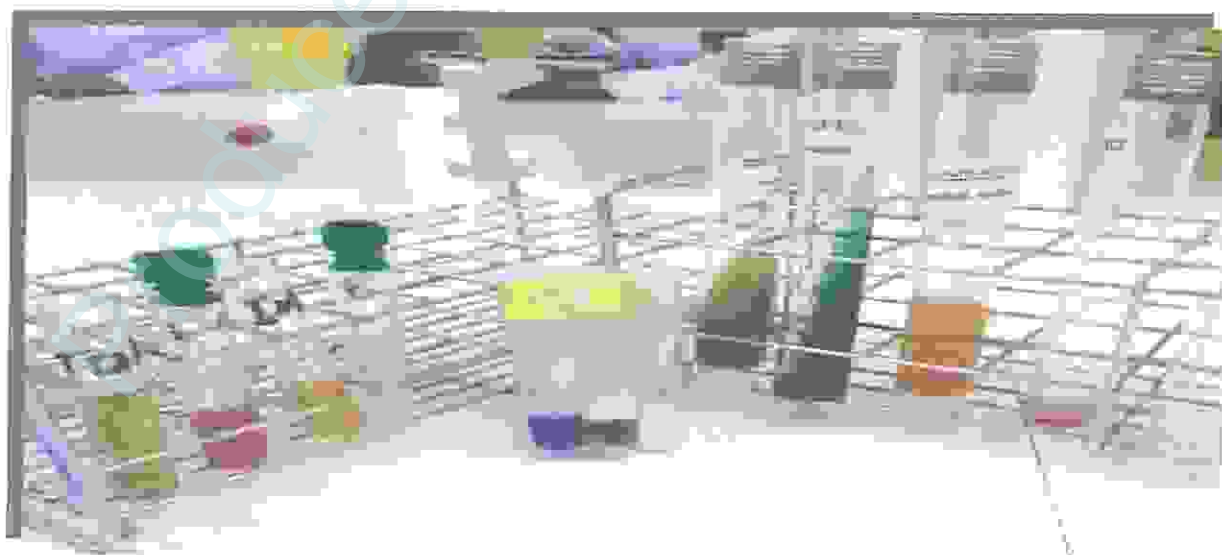


Figure N° 21 : Galerie biochimique classique de P(03), pour *Yersinia enterocolitica*.



Figure N° 22 : Galerie biochimique classique de P(03), pour *Providencia rehgeri*.

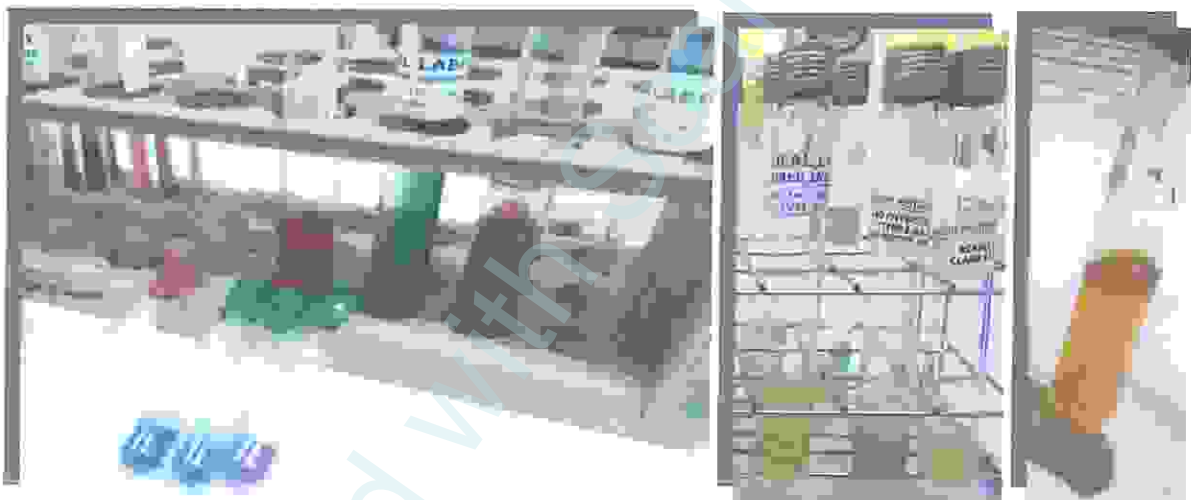


Figure N° 23: Galerie biochimique classique de P (02'), pour *Plesiomonas shigelloides*.



Figure N° 24 : Galerie biochimique classique de P (04') pour *Yersinia kristensenii*.



Figure N° 25 : Galerie biochimique classique de P (01'), pour *Klebsiella oxytoca*.

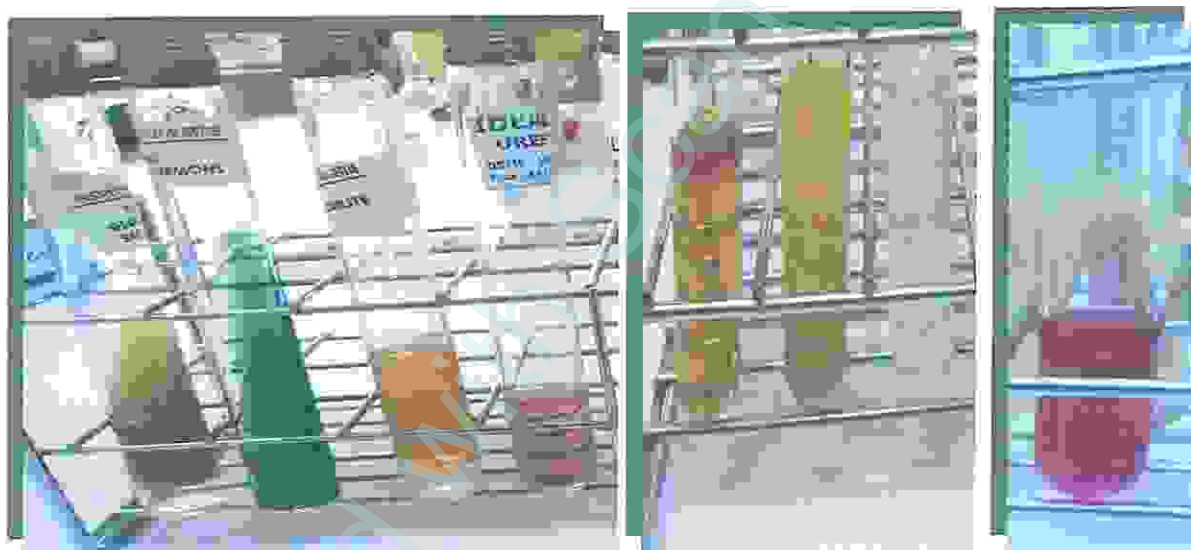


Figure N° 26 : Galerie biochimique classique de P (04'), pour *Pastenerella multocida 2*.

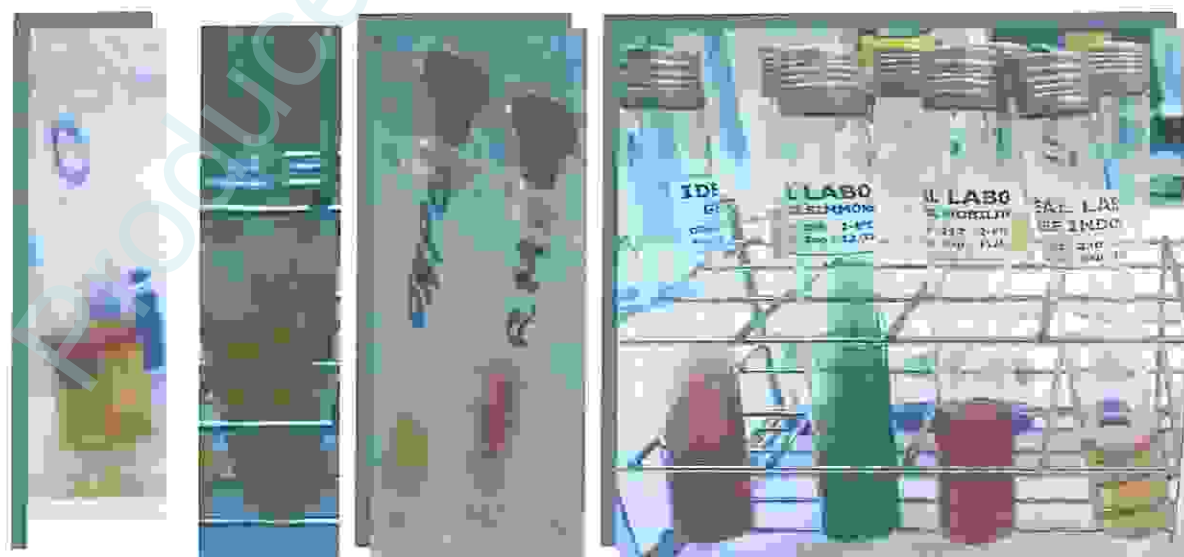


Figure N° 27 : Galerie biochimique classique de P (03'), pour *Chryseobacterium meningospticum*.

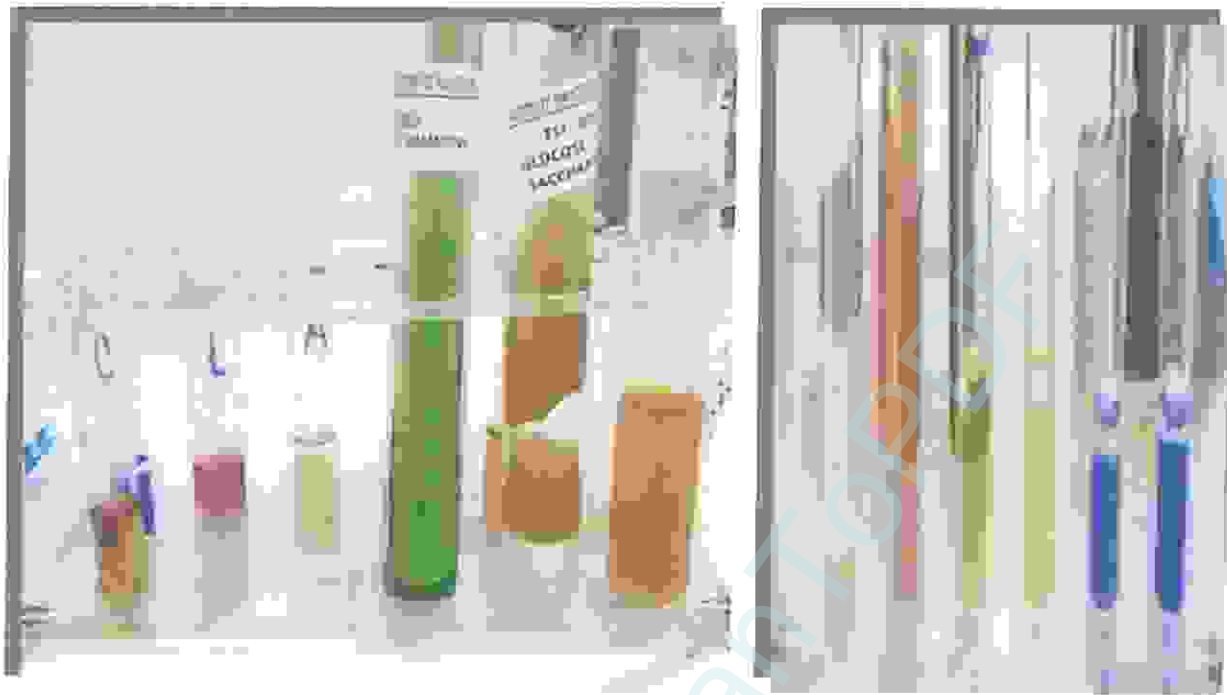


Figure N° 28 : Galerie biochimique classique de P (04), pour *Escherichia coli* I.

3-2- Pour les *Staphylocoques* :

- Cocci colorés en violet, c'est-à-dire ; des bactéries Gram (+).
- Catalase (+).
- Dépourvus de cytochrome oxydase.

Les résultats de ces tests sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau N°27 : Résultats d'identification des souches des *Staphylocoques*.

Test	Cat	Oxy	Glu	Sac	Man	VP	ADH	Urée	Espèces identifiées
P (02')	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>S.aureus</i> (Fig.29)
P (04)	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>S.epidermidis</i> (Fig.30)
P (01')	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>S.saprophyticus</i> (Fig.31)

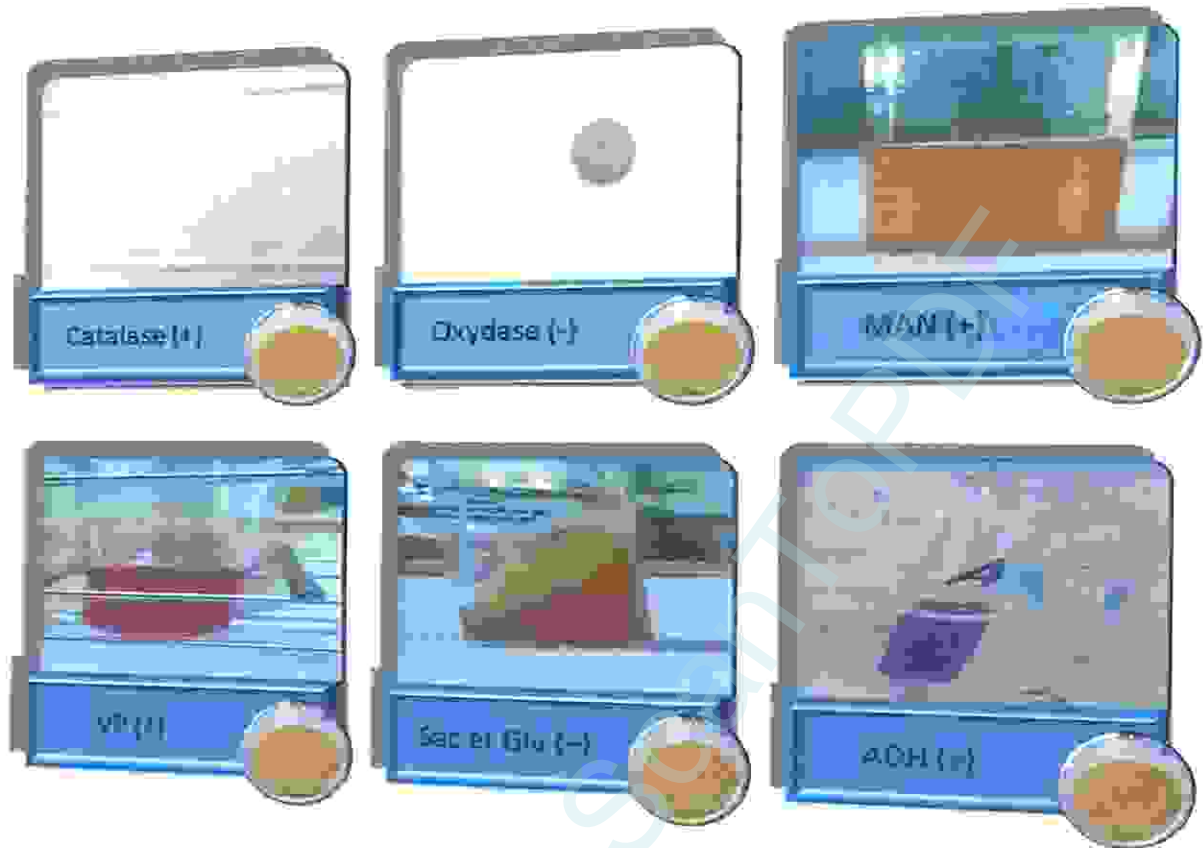


Figure N°29: Les tests de *Staphylococcus aureus*.

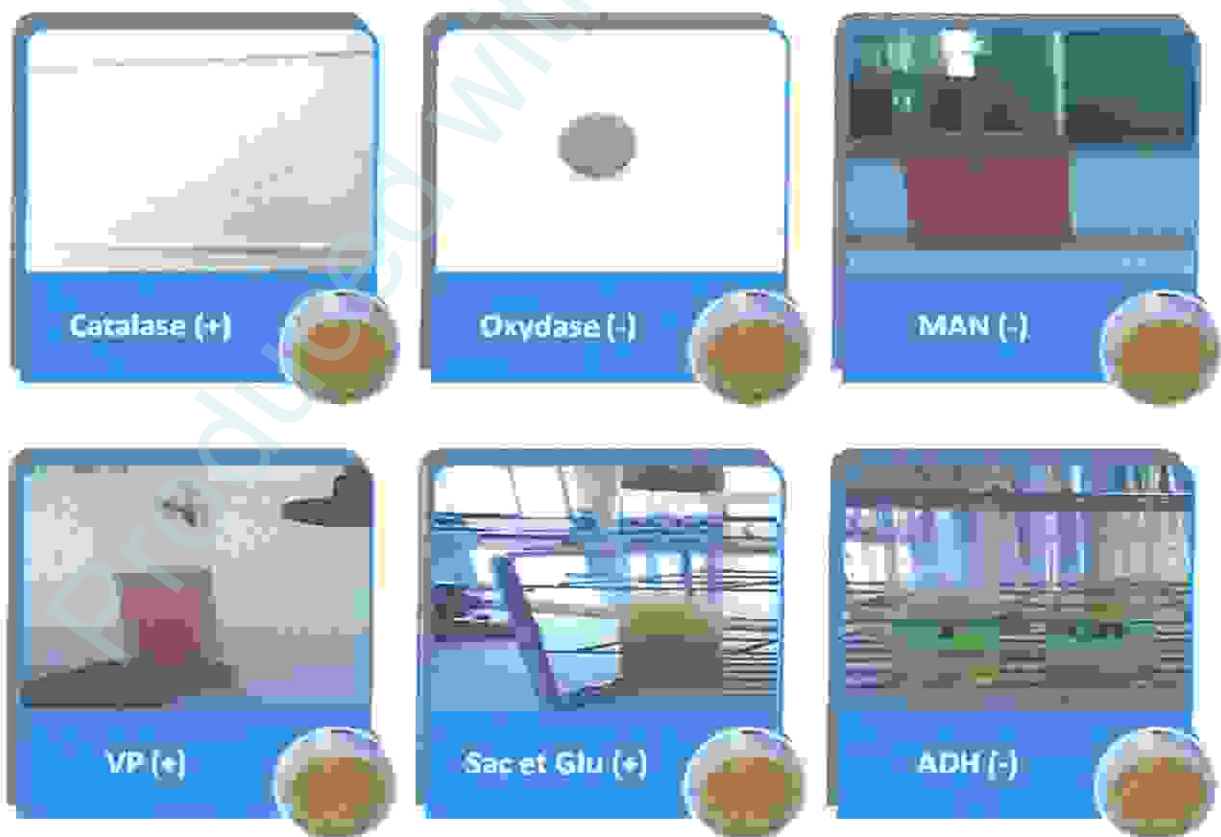


Figure N° 30 : Les tests de *Staphylococcus epidermidis*

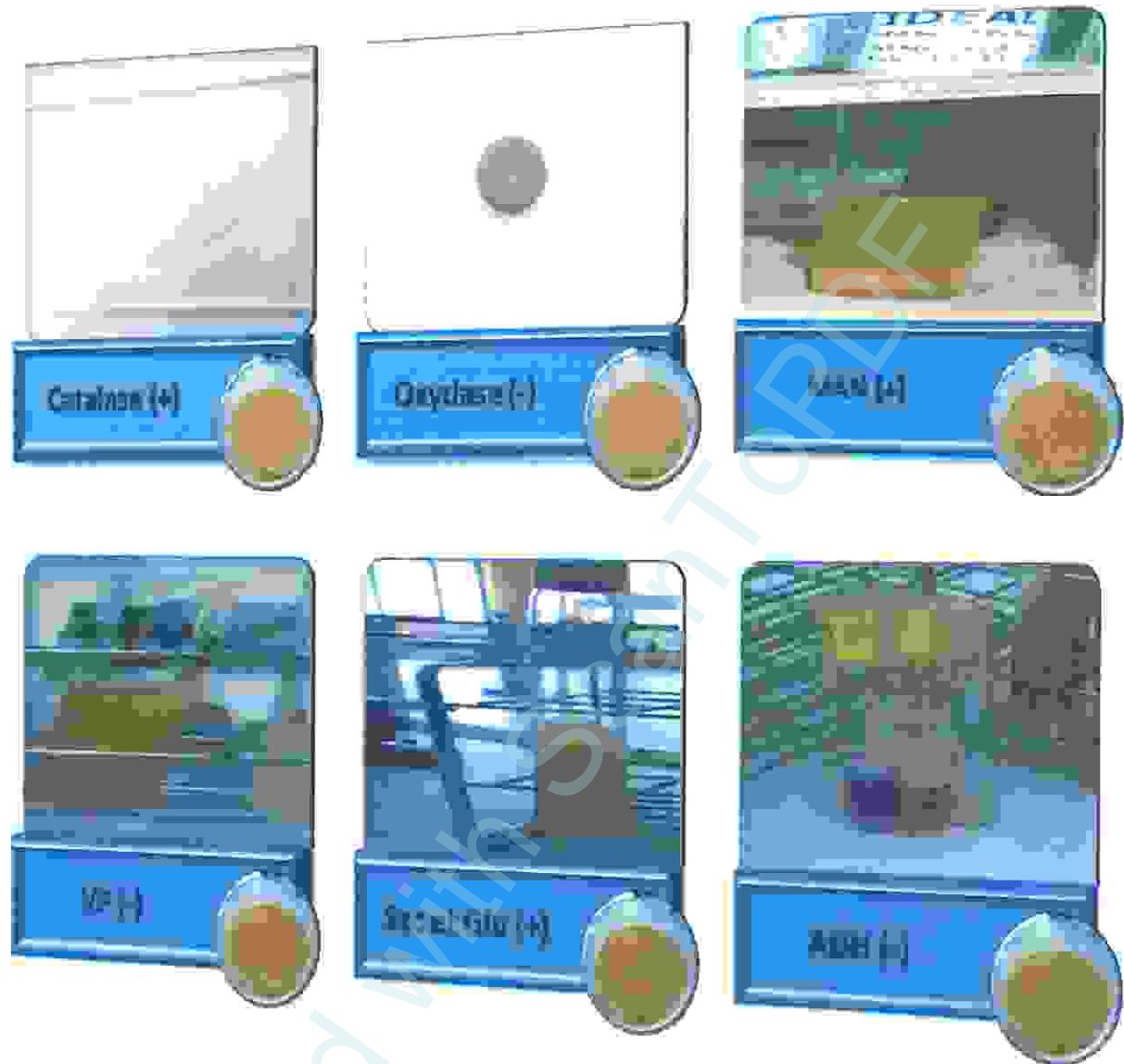


Figure N° 31 : Les tests de *Staphylococcus saprophyticus*.

3-3-Pour les *Pseudomonas* :

- Bacilles fins colorés en rose, c'est-à-dire ; des bactéries Gram (-).
- Catalase (+).
- Possédant un cytochrome oxydase.

➤ Résultat de la Galerie biochimique classique :

Les résultats de galerie biochimique classique pour l'identification des *Pseudomonas* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau N°28 : Les caractères biochimiques des *Pseudomonas*.

Test / Germe identifié	TSI			Citrate de Simmons	Mannitol-mobilité		Urée indole			Clark et lubs		Acide aminé			ONPG
	H ₂ S	Gaz	Sucre		MAN	MOB	URE	IND	TDA	VP	RM	ADI	LDC	ODC	
P (02) et P (02') <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Fig.32)	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-

➤ Résultats de l'oxydase et les milieux sélectifs :

Pour la caractérisation de l'espèce du genre *Pseudomonas*, la culture sur King A et King B.

Ainsi que le test de l'oxydase ont permis l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*.

(Figure N°32).

3-4-Pour les levures :

Dans l'observation macroscopique et microscopique des levures le développement des colonies dans le milieu de culture « Sabouraud » nous a mené à dire que ce sont des levures. Mais leur identification est incomplète à cause du manque des milieux spécifiques.

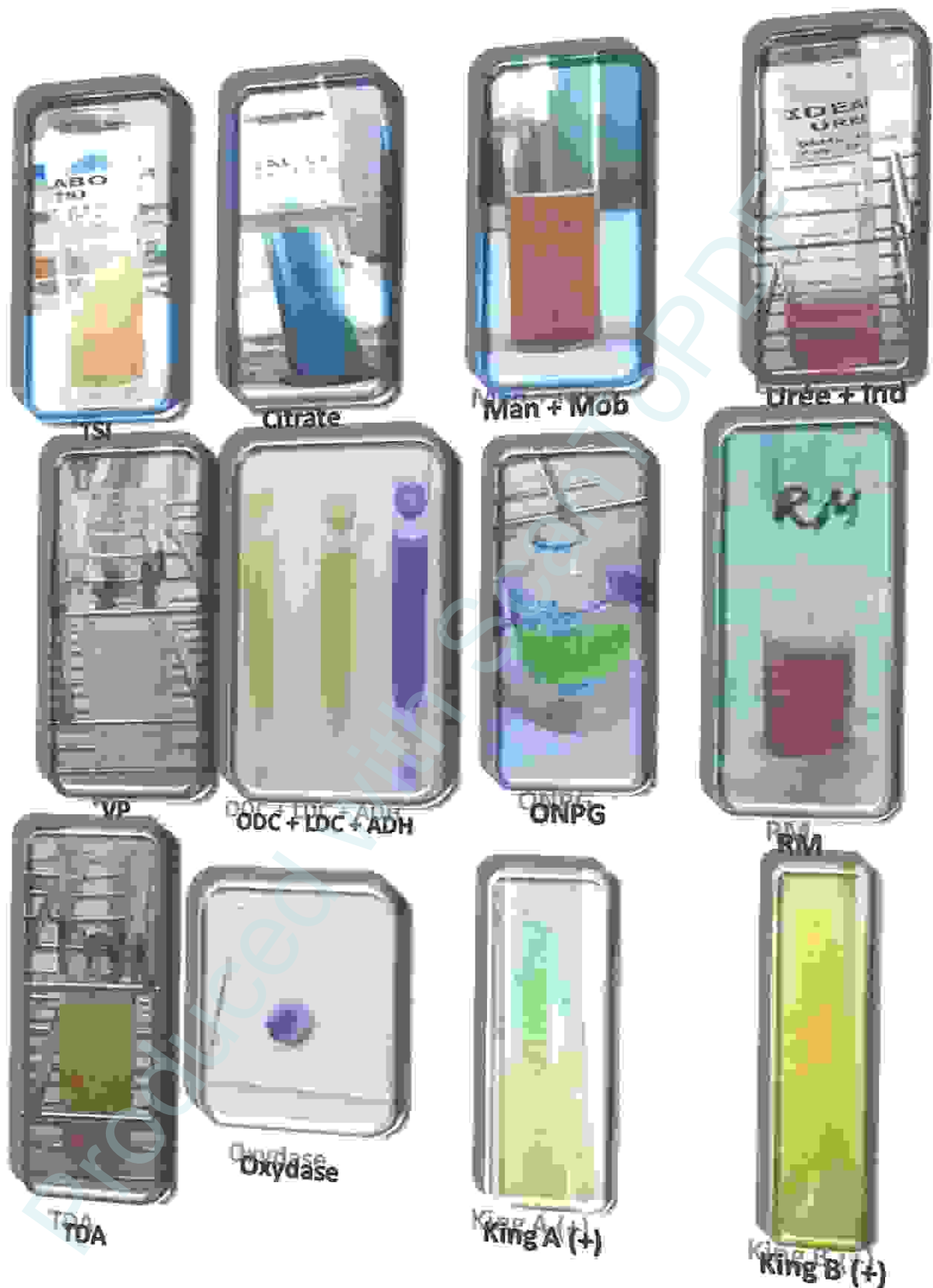


Figure N°32: Les caractères biochimiques et les tests complémentaires de *Pseudomonas aeruginosa*

Discussion :

Les analyses bactériologiques effectuées sur les échantillons prélevés à partir de 8 point au niveau des deux douches (Guelma et Ain makhoulouf), ont permis d'isoler et d'identifier 16 espèces appartenant aux 06 familles : *Enterobacteriaceae* (09 espèces), *Micrococcaceae* (03 espèces), *Pseudomonadaceae* (01 espèce), *Aeromonadaceae* (01 espèce), *Pasteurellaceae* (01 espèce) *Flavobacteriaceae* (01 espèce)

* Les espèces bactériennes identifiées sont soit pathogènes spécifiques tel que : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ou pathogènes opportunistes tel *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*.

La répartition des microorganismes dans les deux douches est comme suit :

Dans le premier douche on a remarqué que les staphylocoques sont presque absentes et uniquement observés sur le banc c'est le cas des *Staphylococcus epidermidis* par contre ils sont nombreux dans le deuxième douche et sont observés au niveau du robinet et du pomme c'est le cas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*.

La présence de ces espèces peut conduire à des infections cutanées, d'infections septicémiques redoutables, d'infections nosocomiales...etc. Ce qui constitue un risque sur la santé des utilisateurs.

Les Enterobactéries (*Hafnia alvei*, *Proteus penneri*, *Entérobacter aérogènes*, *Yersinia enterocolitica*, *Providencia rettgeri*, *Escherichia coli*, *Plesiomonas shigelloides*, *Yersinia kristeneni*, *Klebsiella oxytoca*) ont été isolés fréquemment dans les toutes les prélèvements, la présence de ces espèces notamment *E. coli* (bon indicateur de la contamination fécale) est un signe du manque d'hygiène au niveau de ces deux douches ceci confirme que les méthodes de nettoyage et de désinfection utilisées sont insuffisantes ; cette situation peut conduire à des risques sanitaires en provoquant des maladies infectieuses accidentelle (absorption accidentelle de l'eau).

Au niveau des deux robinets des deux douche nous avons isolé *Pseudomonas aeruginosa* :

La présence de cette espèce peut être expliquée par la formation d'un biofilm au niveau de la canalisation des eaux chaudes, ou il assure la protection de ces bactéries. En fait, *Pseudomonas aeruginosa* est une espèce responsable d'infections cutanées de septicémies, ce germe est aussi pathogène opportuniste et il constitue une cause majeure d'infection nosocomiale diverses chez les personnes fragilisées ou immunodéprimées.

La variation de la microflore au niveau des plusieurs points des deux douches plus ou moins en contact direct avec l'utilisateur, montre que le niveau d'hygiène de ces endroits est faible ce qui peut poser des problèmes sanitaires.

L'assainissement est essentiel pour maintenir les concentrations de ces microflores pathogènes à des niveaux sécuritaires.

Conclusion

Produced with Scantopdf

Conclusion :

Les douches, conçu pour mieux nettoyer le corps et généralement pratiqué pour des raisons d'hygiène ou dans un but thérapeutique, peut à tout moment les exposer à un danger fatal.

La présence d'eau et d'humidité dans les douches et le non respect des règles d'hygiène au niveau ces endroits créent un milieu idéal au développement des microorganismes vecteur des maladies qui causent notamment des infections pulmonaires, des gastro-entérites et des dermatites.

Les résultats obtenus durant notre étude permette de conclure qu'il existe une variété d'espèces microbiennes au niveau de plusieurs point des deux douches (Guelma et Ain mekhalouf) tel que les entérobactéries avec une prédominance, les différents espèces du genre *Staphylococcus* tel que *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus*, les *Pseudomonas* et quelque levure.

L'importance de cette étude sur les douches est permis de répondre à plusieurs questionnement reliés à la qualité de leur entourage, notamment au niveau microbiologique et de montrer le risque sanitaire qu'il peut l'engendrer, donc pour pallier à ce problème : la prévention, le respect des règles d'hygiène resteront les meilleurs moyens de maîtrise de la qualité microbiologique des douches.

Produced with Scan PDF

Résumé :

Les douches sont des milieux favorables pour la multiplication et le développement des microorganismes tel que les bactéries, les champignons et les virus ; ces microorganismes peuvent causer des infections que ce soit respiratoires, cutanées, gastro-entérites pour les utilisateurs de ces douches.

Notre étude a fait l'objet d'un isolement et d'identification des bactéries provenant des chambres des deux douches l'un au centre ville de Guelma et l'autre à Ain Makhlouf ,en analysant les prélèvements provenant de tasse, la pomme, le mur ,le robinet et le banc.

Les résultats obtenus montrent la présence des germes suivants : *Hafnia alvei* I, *Proteus penneri*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Staphylococcus epidermidis* ; *Escherichia coli* I, *Aeromonas hydrophila* gr.1, *Chryseobacterium meningospticum*, *Plesiomonas shigelloides*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia kristensenii*, *Pasteurella multocida* 2, *Klebsiella oxytoca* , et *Staphylococcus saprophyticus*, ces derniers exigent une prise de conscience vis-à-vis de leur risque , d'où la nécessité d' un système efficace de lutte et de prévention.

Les mots clés : maladies infectieuses, douches, isolement, identification, bactéries pathogènes.

Produced with Scantopdf

Summary:

Showers are supportive environments for the proliferation and the growth of microorganisms such as bacteria, fungi and viruses, these microorganisms can infections caused either respiratory, skin, gastro-enteritis for users of these showers.

Our study is subject to isolation and identification of bacteria from the chambers of two showers at one downtown and one in Guelma Ain Makhlouf, by analyzing samples from cup, apple, the wall, the tap and the bench

The results show the presence of germs include: *Hafnia alvei* 1, *Proteus penneri*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* 1, *gr.1 Aeromonas hydrophila*, *Chryseobacterium meningospiticum*, *Plesiomonas shigelloides*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia kristensenii*, 2 *moultoicida Pasteurella*, *Klebsiella oxytoca*, and *Staphylococcus saprophyticus*, they require an awareness vis-à-vis their risk, hence the need for an effective control and prevention.

Keywords: infectious diseases, showers, isolation, identification, pathogenic bacteria

Produced with Scantopdf

المخلص

الحمالين هي أوساط ملائمة لنمو و تكاثر الطائعات الدقيقة مثل البكتيريا، الفطريات و الفيروسات. هذه الطائعات الدقيقة يمكن أن تسبب لمستخدمي الحمامات التهابات سواء في الجوار التنفسي، الجيني أو المعدي

تهدف دراسة إلى عزل وتحديد البكتيريا الموجودة في غرف حمامين بالأول في وسط مدينة قاتمة والثاني في بلدية عين مطوفه، حيث قمنا بتحويل عينات مأخوذة من الحمام، الرضاقة، العائط، الحنوية والمقعد.

النتائج المتحصل عليها من خلال هذه الدراسة تبين تواجد هذه الأنواع : *Hafnia alvei* I, *Proteus penneri*,

Enterobacter aerogenes, *Yersinia enterocolitica*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* I, gr.1 *Aeromonas hydrophila*, *Chryseobacterium meningospticum*, *Plesiomonas shigelloides*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia kristinenii* , 2 *moultocida* *Pasteurella*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus saprophyticus*

هذه الأخيرة تتطلب الأخط بعين الاعتبار خطورة هذه التلوثات و ملحة ضرورة وضع نظم فعال للوقاية و الحد من هذه الظاهرة

الكلمات المفتاحية: الأمراض المعدية، الحمام، عزل، تشخيص النوع والبكتيريا المصيبة للأمراض.

Produced with Scantopdf

Références Bibliographiques

Produced with ScantOPDF

Les livres :

- [1] : **Astruc J, Beaucaire G, Choutet P, Ragnaud JM** ; (2003). *Maladies infectieuses - le Popi guide de traitement*.
- [2] : **Avril J.L, Dabernat H, Denis F, Montell H**; (1992). *Bactériologie clinique*, 2^{ème} édition, Page : 168, 291, 152, 32.
- [3] : **Avril J.L, Fauchère J.L** ;(2007). *Cours de bactériologie DCEM1, Faculté de médecine de Nantes* , page :36.
- [4]:**Bachelot R**; (2003). *Legionellose compléments d'information au plan gouvernemental de prévention des legionelloses, les services du MEDD (DPPR) avec ceux du ministère chargé de la santé (DGS)*; page : 02.
- [5] : **Benhamou D, Bru J.-P, Chidiac C** ; (2004). *Légionellose Définition, diagnostic et traitement*, page : 02, 03.
- [6] : **Boulanger S, Deschamps F** ;(2007).*Les 100 principales maladies professionnelles et environnementales* , © Ellipses Edition Marketing S.A, Paris, page : 117.
- [7] : **Bousseboua H** ; (2003). *Cours de microbiologie générale*, ed université mentouri constantine, page : 28.
- [8] : **Carbonnelle B, Dailloux M, Lebrun L** ;(2003). *Mycobactéries Mycobactérioses ; Cahier de formation biologie médicale, laboratoire d'analyse de biologie médicale ; France*, page : 113
- [9]: **Castillo C. B, Bruckner D.A**; (1984) .Comparative evaluation of the linkenand conventional methods for identification of members of the family *Enterobacteriaceae*.; *J.Clin. Microbiol.* **20**, page : 745,757
- [10] :**Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec** ; (2006). *Méthode d'analyse: Recherche des salmonelles : méthode présence/absence*, Édition : page : 05.
- [11] : **Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec** ;(2006). *Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* : Méthode par filtration sur membrane*, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Pares du Québec, page : 06
- [12] : **Délaras C** ;(2008) *surveillance sanitaire Et Microbiologique des eaux : Règlementation-Prélèvements-Analyses.TEC & DOC* ; page : 269
- [13]: **Dryden M,S** ;(1994) *key Worth N,Stein K : asymptomatic food handier as the source of nosocomial salmonellosis*.*J.Hosp.Infect* ;page:195,208.

[14] : **Gauthier F**; (2002). Biofilms et qualité biologique de l'eau potable au cours de sa distribution, Mémoire de DESS en Qualité et Gestion de l'Eau, Université de Picardie.

[15] : **Guillaume,P.Y.**(2004) . Les milieux de cultures

www.2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.

[16] : **Harold, C.N** ;(1992). The crisis in antibiotic resistance. Science ,page: 257,1064,1073.

[17] : Institut Pasteur, Production. Edition:Avril 1981.Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur.

[18] : **Jacques N** ;(2008). Légionelles et réseaux d'eau chaude sanitaire, Ancien gestionnaire des risques dans les réseaux sanitaires à l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris société Isagua CONCEPT; page : 01.

[19] : **Jacques N** ; (2008). Prévention et lutte contre les *Pseudomonas aeruginosa* dans les réseaux d'eau sanitaire à l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris société Isagua CONCEPT1; page : 29.

[20] : **Joffin J,N**. Microbiologie technique, dictionnaire des techniques.

[21] : **Joffin J, N et Leyrol G** ; (2001). Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3^{ième} éditions ; CRDP d'Aquitaine ; page : 320

[22] : **Joseph P,G**;(2003). Microbiologie alimentaire, dunob, paris, page : 33.

[23] : **Larpent J, P**. Microbiologie alimentaire, Technique de laboratoire, édition Lavoisier TEC-DOC.

[24] : **Leclerc H** ; (1979). Les bios indicateurs bactériens de santé publique en milieu aquatique. In : Dynamique des populations et qualité des eaux. Bordas, Paris, page : 17,50.

[25] : **Lesene J** ;(1998). Hygiène publique, microbiologie et gestion de l'eau, école nationale de la santé publique, Rennes, France, page: 7.

[26] : **Lévi Y, Becquevort P, Tissot O, Barrin C** ; Canalisations et qualité de l'eau sanitaire, les propriétés antibactériennes du cuivre; page : 02,03, 04.

[27] : **Marie-A, Jean-M, Norman K** ;(2002). les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur, direction des risques biologiques, environnementaux et occupationnels et laboratoire de santé publique du Québec, page: 4 ,12.

[28] : **Moustardier G** ; (1972) Bactériologie médicale ; 4^{ème} édition , librairie Maloine. S. A. éditeur, Paris.

[29] : **Murray P. V, Baron E.J, Pfaller M. A, Tenover F. C, Tenover R. H**; (1999) . Manual of clinical microbiology, 7th edition, Amer.Soc. Microbial; Washing, D.C.

[30] : **Orth G, Sansonetti P**; (2006). La maîtrise des maladies infectieuses; un défi de santé publique, une ambition médicoscientifique, Académie des sciences; page : 10 ,11.

[31] : **Pierrejean D, Chauvin G** ;(2001). Recommandations pour la prévention de la légionellose nosocomiale, CCLIN SUD-OUEST. Centre de coordination de lutte contre les infections nosocomiales, page : 12, 26,29 ,30.

[32] : **Prescott H,K** ; (1999).Microbiologie, (De boeck université.)

[33] : Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ; (2006).

Les bactéries pathogènes d'origine hydrique : micro-organismes préoccupants courants et émergents,santé Canada, page :17,18.

[34] : Recommandations relatives à la gestion du risque microbien lié à l'eau minérale dans les établissements thermaux ; (1999). DIRECTION GENERALE DE LA SANTE: conseil supérieur d'hygiène publique de France, page : 05.

[35] : **Singleton P** ; (1999). Bactériologie (cours 2^{ème} cycle); DUNOD; 4^{ème} édition, Paris.

Les sites web:

- [36] : www.legionella_et_legionelloses_cours_de_rsidanat_de_microbiol-ppt (Date de consultation: 12/03/2012)
- [37] : www.des-pneumo-idf.com/s/IMG/pdf. (Date de consultation: 12/03/2012)
- [38] : www.solabia.fr/solabia/produitsDiagnostic.nsf/FT_BK025_v7.pdf (Date de consultation : 20/03/2012)
- [39] : www.lekraya.com/attachments/File/para_TP4_Myco.pdf (Date de consultation : 12/03/2012)
- [40] : www.lycee-valin.fr/bgb/ftech/S1M.pdf (Date de consultation: 17/03/2012)
- [41] : www.biokar-diagnostics.fr/milieu_de_culture/jour-2007.pdf (Date de consultation : 22/03/2012)
- [42] : www.wikipedia.org/wiki/Douche#Pratique_de_la_douche (Date de consultation : 12/03/2012)
- [43] : www.jrscience.wcp.muohio.edu/nsfall02/FinalArticles/Final6HereistheFINALfinal.html (Date de consultation : 12/03/2012)
- [44] : www.translate.google.com/articles.cnn.com/showerhead.bacteria_1_germs-showerheads-bacteria%3F_s%3DPM.HEALTH (date de consultation: 12/03/2012)
- [45] : [www.abodereader.fr/Assainissement des piscines](http://www.abodereader.fr/Assainissement_des_piscines) (Date de consultation: 08/03/2012)
- [46] : www.perroquet-perroquets.com/chauffe-eau.php (Date de consultation: 08/03/2012)
- [47] : www.healthycleaning101.org/french/D+S_asthma-f.html (Date de consultation: 15/03/2012)
- [48] : www.cbs.wondershare.com/go.php?pid=509&m=db (Date de consultation : 13/03/2012)
- [49] : [www.wikipedia.org/wiki /les eaux chaudes sanitaires](http://www.wikipedia.org/wiki/les_eaux_chaudes_sanitaires). (Date de consultation : 08/03/2012)
- [50] : www.peelregion.ca/health/shp/germ-stop-manual/pdfs/break/resources.pdf (Date de consultation : 08/03/2012)
- [51] : <http://www.erudit.org/revue/rseau/2011/v24/n4/1007627ar.html?vue=resume&mode=restriction> (Date de consultation : 14/03/2012)

- [52] : www.respir.com/doc/abonne/base/MycobacteriesAtypiques.asp (Date de consultation: 12/03/2012)
- [53] : www.cdpq.ca/getmedia/0219a4c0-9eca-4dcf-8b6cebc1cd7706c7/mycotoxines_references_bibliographiques_pdf (Date de consultation: 12/03/2012)
- [54] : www.msss.gouv.qc.ca > ... > Environnement intérieur (date de consultation : 14/03/2012)
- [55] : www.wikipedia.org/wiki/Biofilm (date : 20/03/2012)
- [56] : www.maitrise-des-risques-microbiologiques-dans-les-reseaux-d-eaux-sanitaires.pdf (Date de consultation : 21/03/2012)
- [57] : www.realco.be/biofilm.html (Date de consultation : 20/03/2012)
- [58] : www.sisyphes.upmc.fr/piren/webfm_send. (Date de consultation: 14/03/2012)
- [59] : www.respir.com/doc/abonne/base/Coqueluche.asp (Date de consultation : 12/03/2012)
- [60] : www.wikipedia.org/wiki/Maladie_infectieuse (Date de consultation: 21/03/2012)
- [61] : www.ecosociosystemes.fr/epidemiologie.html (Date de consultation: 14/03/2012)
- [62] : www.bacterio.cict.fr/m/mycobacterium.html (Date de consultation: 12/03/2012)
- [63] : www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub (Date de consultation: 20/03/2012)
- [64] : www.hepatoweb.com/anatomobase/images/Amibiase.jpg (Date de consultation: 14/03/2012)
- [65] : www.cve.saude.sp.gov.br/.../image002.gif (Date de consultation: 12/03/2012)
- [66] : www.ehow.com/how_5873288_clean-moen-shower-head.html#ixzz1mq8q5V8j (Date de consultation: 14/03/2012)
- [67] : www.bbc.co.uk/2206.stm (Date : 12/03/2012)
- [68] : www.goaskalice.columbia.edu/shower-water-and-bacteria (Date : 12/03/2012)
- [69] : www.detoxification.fr/germes-bacteries/ (Date : 14/03/2012)
- [70] : www.manuelagherghel.com/2009/11/11/dangers-invisibles-les-bacteries-autour-de-nous (Date : 14/03/2012)
- [71] : www.pourquoi.com/corps_humain/pourquoi-fait-on-asthme.html (Date : 12/03/2012)
- [72] : www.bienchezsoi.net/articles/la-salle-de-bain-3-9-79.pb (Date : 20/03/2012)
- [73] : www.surdemoi.com/.../nettoyage_joints_douche.jpg (Date : 14/03/2012)

- [74] : www.jcm.asm.org/content/49/6/2296.full.pdf (Date :12/03/2012)
- [75] : [www.google.dz/imgres?q=www.hepatoweb.com/anatomobase/images/Amibiase parasitose](http://www.google.dz/imgres?q=www.hepatoweb.com/anatomobase/images/Amibiase+parasitose) (Date : 20/03/2012)
- [76] : www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Giardiase&lang (Date :12/03/2012)
- [77] : <http://www.google.dz/imgres?q=nettoyage+des+douche.jpg> (Date :20/03/2012)
- [78] : www.2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm(date :12/03/2012)
- [79] : www.membres.multimania.fr/ggirafemicrobio/FICHES%20TECH (Date :14/03/2012)
- [80] : www.microbe-edu.org/glossaire/detail.cfm?cle=235 (Date :20/03/2012)
- [81] : www.arnobio2.com/techniques/20 (Date :20/03/2012)
- [82] : www.microbiologiemedicale.fr/mycologie/identificationchampignons.htm (Date de consultation :12/03/2012)

Produced with Scantopdf

Annexe 01 :

➤ Les milieux de cultures :

◆ Milieu de Chapman:

Composition:

- Peptone tryptique de caséine	10 g
- Extrait de viande	1 g
- Chlorure de sodium	75 g
- Mannitol	10 g
- Rouge de phénol	0.025 g
- Agar	15 g
- Eau distillée	1000 ml

Préparation :

Après dissolution tous les ingrédients dans l'eau distillée ajuster le PH à 7.5 et stériliser à 121°C pendant 20 mn.

◆ Gélose nutritive :

Composition:

- extrait de viande de l'œuf	1 g
- Agar	15 g
- peptone	5 g
- chlorure de sodium	15 g
- extrait de levure	2 g

➤ Préparation :

Verser 28 g dans un litre d'eau distillée. Ajuster le PH à 7.4. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

◆ Gélose Hektoen :

- Protasepeptone	2 g
- Extrait de levure	3 g
- Chlorure de sodium	5 g
- Thiosulfate de sodium	5 g
- Sels biliaires	9 g
- Citrate de ferammoniacale	1.5 g
- Salicine	2 g
- Saccharose	12 g
- Lactose	2 g
- Fuchsine acide	0.1 g
- Bleu de brothynol	0.06 g
- Agar	1.4 g
- Eau distillée	1000 ml

PH =7.5

◆ **Le milieu de Sabouraud :**

- Glucose.....	20 g
- Peptone.....	10 g
- Agar.....	15 g
- Eau distillé.....	1000 ml

◆ **Milieu King A :**

- Bacto-peptone.....	20 g
- Agar.....	15 g
- Glycérol C.P.....	10 g
- K ₂ HSO ₄ anhydre.....	15 g
- MgCl 2 anhydre.....	1.4 g
- Eau distillé.....	1000 ml

◆ **Milieu King B :**

- Protéose peptone (Difco).....	20 g
- Agar.....	15 g
- Glycérol C.P.....	10 g
- K ₂ HSO ₄ anhydre.....	15 g
- MgCl 2 anhydre.....	1.4 g
- Eau distillé.....	1000 ml

◆ **Milieu TSI:**

- Agar.....	12 g/L
- Extrait de l'œuf.....	3 g/L
- Extrait de levure.....	3 g/L
- Peptone.....	20 g/L
- Lactose.....	10 g/L
- Saccharose.....	10 g/L
- NaCl.....	5 g/L
- Glucose.....	1 g/L
- Citrate ferrique.....	3 g/L
- Thiosulfate de sodium.....	3 g/L
- Rouge de phénol.....	0,025 g/L
- Eau distillée.....	1000 ml

Ajuster le PH à 7.4

◆ **Milieu citrate de Simmons:**

- Chlorure de sodium.....	5 g
- Sulfate de magnésium.....	0,2 g
- Phosphate d'ammonium POH.....	1 g
- Phosphate di potassique POHK.....	2 g
- Citrate trisodique.....	2 g
- Solution de bleu bromothymol 1%.....	8 ml
- Agar.....	15 g
- Eau distillée.....	1000 ml

Annexes

Produced with ScanTOPDF

Ajuster le PH à 7-7.2

◆ **Milieu mannitol- mobilité:**

- Peptone pancréatique de viande.....	20 g/L
- Agar-agar.....	4 g/L
- Mannitol.....	2 g/L
- Nitrate de potassium.....	1 g/L
- Rouge de phénol solution à 1%.....	4 ml
- Eau distillée.....	1000 ml

Ajuster le PH à 7.2

◆ **Milieu Clark et lubs :**

- Peptone trypsique de casein.....	5 g/L
- Phosphate bi potassique.....	5 g/L
- Glucose.....	5 g/L
- Eau distillée.....	1000 ml

◆ **Milieu urée indole:**

- L-tryptophane.....	3 g
- Phosphate monopotassique.....	1 g
- Phosphate di potassique.....	1 g
- Chlorure de sodium.....	5 g
- Urée.....	20 g
- Solution rouge de phénol à 1%.....	2,5 ml
- Alcool à 95°.....	10 ml
- Eau distillée.....	1000 ml

➤ **Réactifs :**

◆ **Réactif TDA :** pour la recherche de tryptophane désaminase :

Perchlorure de fer.....	3.4 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Réactif IND :** pour la recherche de l'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....	5.0 g
Alcool isoamylique.....	75 ml
HCL.....	37 %

◆ **Réactif de Voges Proskauer (VP) :** pour la recherche de l'acétone :

✓ **VP 1 :**

Hydroxyde de potassium.....	40 g
Eau distillée.....	100 ml

✓ **VP 2 :**

Alpha naphтол.....	6 g
Ethanol.....	100 ml

♦ **Réactif Kowacks** : pour la recherche de l'indole.

- Paracéthylamino benzaldéhyde.....5 g
- Alcool amylique.....75 ml
- HCl pur.....25 ml

♦ **Rouge de méthyle** :

- Rouge de méthyle.....0,5 g
- Alcool éthylique à 60°100 ml

Colorants:

♦ **Lugol** : Elle est utilisée sur la coloration de Gram pour fixer le colorant

- Iode.....1 g.
- Iodure de potassium.....2 g.
- Eau distillée.....3 g.

♦ **Violet de gentiane** : Elle est utilisée pour colorer les bactéries.

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

♦ **fuchsine de ziehl** :

- Fuchsine basique.....1 g
- Alcool éthylique.....100 ml
- Phénol.....5 g
- Eau distille.....100 ml

Produced with Scantopdf

Annexe 02 :

Tableau d'orientation rapide de l'identification des *Enterobacteries*.

Uréase	Indole	ONPG	H ₂ S	Citrate	Genre	Espèce		
-	-	-	-		Nombreux genres possibles dont :			
					<i>Shigella</i>	<i>spp</i>		
						<i>Salmonella</i>	<i>spp</i>	
				+	+	<i>Salmonella</i>	<i>spp</i>	
					-	<i>Salmonella</i>	<i>cholerae suis</i>	
					+ ou -	<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>	
		+	-		+	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>	
				+	<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>		
			+	+	<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i>		
					-	<i>Salmonella</i>	<i>arizonae</i>	
		+	-	+	-	<i>Edwardsiella</i>		
					-	+	<i>Providencia</i>	
					-	<i>Shigella</i>	<i>spp</i>	
			+	-	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>		
				+	<i>Citrobacter</i>	<i>diversus</i>		
+	-	-	+	+	<i>Proteus</i>	<i>mirabilis (TDA⁺, VP⁺)</i>		
		+	-	+	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>		
			-	-	<i>Yersinia</i>			
	+	-				<i>TDA⁺ Providencia, Morganella</i>		
							<i>TDA⁺ Yersinia</i>	
						-	<i>Morganella</i>	<i>morganii (TDA⁺)</i>
				+		+/-	<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>
			+				<i>Yersinia (citrate -)</i>	
			-	+	<i>Yersinia</i>			
					<i>Klebsiella</i>	<i>oxytoca</i>		

- (+) : Positif (-) : Négatif (+/-) : Variable

Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20^E

Test	Groupements active	Réactions/ Enzymes	Résultats	
ONPG	Ortho-nitro-phényle-B-D- Galactopyranoside	Beta-galactosidase	Positive (-)	Négative (+)
			incoloré	Jaune
ADH	Arginine	Arginine désahydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
ICIT1	Sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	Bleu-ver/orange
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production de H ₂ S	incoloré	Noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Marron
IND	Tryptophane	Production d'indole	incoloré	Rose
VP1	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP1+ VP2	
			Incolore	Rose/rouge
IGEL1	Gélatine emprisonnant de charbon	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/vert jaune
MAN	Mannitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Sucrose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
NO ₃ -NO ₂	GLU tube	Production de NO ₂ réduction N ₂ gaz	NIT 1+NIT 2, 2-3 min	
			Jaune	Rouge