

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

**Université Abbès Laghrour Khenchela**  
Institut des Sciences de la Nature Et de la Vie  
Département de biologie

N° d'ordre :.....  
N° de Série :.....

**Mémoire**

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère**

**Option: Microbiologie des écosystèmes aquatiques**

**Par**

**CHORFI Keltoum**

*Thème*

**Etude microbiologique des effluents hospitaliers de la  
wilaya de Khenchela**

**(Cas de l'établissement hospitalier 120 lits)**

*Soutenu le : 27 / 11 /2012*

**Devant le jury**

Président :	<b>M. DARBOUCHE A. (Prof)</b>	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
Encadreur :	<b>M<sup>me</sup> BENDJEMANA K. (MCA)</b>	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
Examineurs :	<b>M. HOUHAMDI M. (Prof)</b>	Univ. 08 Mai 1945 – Guelma
	<b>M. BOUDEMAGH A. (MCA)</b>	Univ. Mentouri - Constantine

**2011-2012**

## *Remerciements*

*A l'heure de mettre un point final au travail de mémoire, reste toujours la terrible épreuve des remerciements. Terrible non pas qu'il me soit difficile de remercier, mais parce que les rencontres, les soutiens et les apports furent si nombreux et variés au cours de cette année qu'en établir une liste exhaustive et hiérarchisée est une entreprise illusoire.*

*Alors, un grand merci global et général à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ces travaux. Qu'ils ne s'offusquent pas de ne pas être nommément cités ici, mais soit assurés de ma sincère reconnaissance.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude au Pr. DARBOUCHE Abdelhak professeur à l'université de Khenchela pour avoir accepté de présider le jury de thèse. Je suis particulièrement honorée de bénéficier de ses critiques.*

*Merci également aux deux rapporteurs du jury de thèse, Pr HOUHAMDI M., Professeur à l'Université de Guelma et Dr BOUDEMAGH A. Maître de Conférences à l'Université de Constantine pour leurs lectures attentives du manuscrit et leurs remarques constructives.*

*Lorsque je pense aux personnes qui ont œuvré dès l'origine, en continu, à la réussite de cette thèse me vient naturellement à l'esprit Dr. BENDJEMANA Katia mon promoteur de thèse. Merci pour votre soutien, votre optimisme, vos conseils, vos remarques et corrections et naturellement votre patience sans lesquels l'objectif n'aurait certainement pas été atteint.*

*Merci également à mes professeurs de l'Université de Khenchela, Dr. HOUHA Belgacem, Pr. DARBOUCHE Nadia, Dr BOUANANI Samia, et Mr GHERS Azzedine, pour leur attention, leur dévouement et leur disponibilité.*

*Naturellement, un grand merci aux responsables de la station d'épuration, pour avoir mis à ma disposition sans trop de réticence mais quelques fois avec beaucoup de questions et d'amusement quelques litres ou kilos d'effluents urbains ou de boues de station. Ils ont également permis la réalisation des tests physicochimiques des échantillons au sein de leur laboratoire, merci pour leur patience et disponibilité.*

*Les tests microbiologiques ont été réalisés au sein des laboratoires de l'Université de Khenchela. Merci à M<sup>me</sup> CHORFI Rafika responsable des laboratoires pour son accueil et son aide dans le déroulement de ces expérimentations. Je remercie sincèrement tous les ingénieurs pour leur accueil, leur convivialité et leur bonne humeur, elles m'ont permises de travailler dans une ambiance très agréable.*

*Un grand merci à Mr GHOUAIZI Slimane, responsable du laboratoire de prévention de KAIS pour son aide et sa disponibilité.*

*Enfin, un immense merci à mes proches, ma famille, mes camarades de promotion, mes amies et mes collègues de travail pour les encouragements et soutiens inaltérables, sans qui cette aventure de thèse n'aurait pas été possible, ni aussi pleine.*

## *Dédicaces*

*À mes chers Parents,*

*À mes chères Sœurs, ainsi qu'à leurs maris,*

*À mes chers frères, ainsi qu'à leurs épouses,*

*À mes adorables neveux et nièces :*

*Khaled, Férial et Nada.*

*Rihab (rahouba) et Meriem (mimi)*

*Adam (didou)*

*À la mémoire de mes Grands-parents*

*À toutes les personnes que je porte dans mon cœur et qui se reconnaîtront car elles en*

*font autant*

*Je vous dédie cette thèse en guise de reconnaissance car vous m'êtes si chères que je*

*ne peux que vous offrir ce que j'ai appris de mieux dans ma vie*

# Table des matières

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Liste des photographies.....	vi
Liste des annexes.....	vii

## Revue bibliographique

Introduction Générale .....	02
-----------------------------	----

## Chapitre 1. Les eaux usées

I. Les eaux usées .....	05
I.1. Définition .....	05
I.2. Origine des eaux usées .....	05
I.2.1. Les eaux usées domestiques .....	05
I.2.2. Les eaux industrielles .....	05
I.2.3. Les eaux de ruissellement agricole .....	06
I.2.4. Les eaux pluviales .....	06
I.3. La collecte des eaux usées .....	06
II. Caractéristiques des eaux usées .....	06
II.1. Principaux paramètres physico-chimiques mesurables.....	06
II.1.1. Température .....	06
II.1.2. l'oxygène dissous .....	07
II.1.3. Potentiel hydrogène (pH).....	07
II.1.4. Conductivité électrique (EC) .....	07
II.1.5. Taux des solides dissous .....	07
II.1.6. Pollution organique .....	08
II.1.7. Pollution azotée .....	08
II.1.8. Pollution phosphorée .....	09
II.2. Principaux paramètres microbiologiques .....	09
II.2.1. Composition microbiologique des eaux usées .....	09
II.2.1.1. Les bactéries .....	09
II.2.1.2. Les parasites .....	09
II.2.1.3. Les virus .....	11
II.2.1.3. Les bactériophages .....	12
II.2.2. Indicateurs de contamination microbiologique .....	12
II.2.2.1. Les coliformes totaux .....	13
II.2.2.2. Les coliformes thermotolérants .....	13
II.2.2.3. Entérocoques fécaux .....	14
II.2.2.4. Anaérobies sulfitoréducteurs .....	14
II.2.2.5. Indicateurs émergents .....	15
III. Les traitements d'épuration .....	15
III.1. Les prétraitements .....	16

III.2. Traitement primaire .....	17
III.3. Traitement secondaire ou Traitement biologique .....	17
III.4. Les traitements tertiaires .....	18
IV. Boues d'épuration .....	18
IV.1. La filière de traitement de boues .....	18
IV.2. Voies d'élimination des boues couramment utilisées.....	19
IV.2.1. L'incinération.....	19
IV.2.2. La mise en décharge .....	19
IV.2.3. L'épandage.....	19

## **Chapitre 2. Les effluents hospitaliers**

I. Généralités sur les effluents hospitaliers .....	21
II. Typologie des effluents liquides hospitaliers .....	22
II.1. Les rejets d'origine domestique .....	22
II.2. Les rejets assimilables à des effluents industriels .....	22
II.3. Les rejets des activités de soins .....	23
II.3.1. Rejets de désinfectants et d'antiseptiques .....	23
II.3.2. Rejets de liquides biologiques .....	24
II.3.3. Rejets de médicaments .....	24
II.3.4. Rejets de métaux lourds .....	24
II.3.5. Rejets de laboratoires .....	25
II.3.6. Rejets de la médecine nucléaire .....	26
II.3.7. Rejets des toxines d'hémodialyse .....	26
II.3.8. Les effluents des services de radiologie .....	26
III. Paramètres généraux des effluents hospitaliers .....	26
III.1. Paramètres physico-chimiques .....	27
III.2. Paramètres radiologiques .....	27
III.3. Paramètres microbiologiques .....	28
III.3.1. Bactériologie des effluents hospitaliers .....	28
III.3.2. Virologie des effluents hospitaliers .....	29
IV. Les risques présentés par les effluents hospitaliers .....	29
IV.1. Le risque infectieux .....	29
IV.2. Le risque radioactif .....	30
IV.3. Le risque toxique .....	31
IV.3.1. Détergents et des désinfectants .....	31
IV.3.2. Les micropolluants médicamenteux.....	31
IV.3.3. Les agents de contraste iodés.....	34
IV.3.4. Les rejets de mercure .....	34
IV.4. Risque sur la station d'épuration .....	35
IV.5. Risque pour la sante publique.....	36

## **Matériels et méthodes**

I. Caractéristiques générales des sites d'étude .....	38
II. Echantillonnage .....	40

<b>III. Détermination des caractéristiques Physicochimiques .....</b>	<b>41</b>
<b>III.1. Mesure des paramètres in situ .....</b>	<b>41</b>
<b>III.2. Mesure des matières en suspension (méthode spectrométrique) .....</b>	<b>41</b>
<b>III.3. Mesure de la DCO (Demande chimique en Oxygène) ST-DCO .....</b>	<b>41</b>
<b>III.4. Mesure de la DBO (Demande biochimique en Oxygène) NF EN 1899 -1 .....</b>	<b>42</b>
<b>III.5. Dosage du phosphore par mode spectrophotométrique NF EN 1189/ jan 1997 .....</b>	<b>43</b>
<b>III.6. Dosage des nitrates NF T 90-045 et ISO 7890-3 .....</b>	<b>43</b>
<b>IV. Les paramètres microbiologiques .....</b>	<b>43</b>
<b>IV.1. Recherche et dénombrements des indicateurs de contamination fécale .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.1.1. Réalisation des dilutions en série .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.1.2.1. Biodiversité morphologique des isolats .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.1.2.2. Biodiversité métabolique des isolats .....</b>	<b>45</b>
<b>IV.1.2.2.1. Recherche de l'oxydase .....</b>	<b>45</b>
<b>IV.1.2.2.2. Identification biochimique par galerie API 20 E .....</b>	<b>45</b>
<b>IV.1.3. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux .....</b>	<b>46</b>
<b>IV.1.3.1. Biodiversité morphologique des isolats .....</b>	<b>46</b>
<b>IV.1.3.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide .....</b>	<b>46</b>
<b>IV.1.3.1.2. Purification et identification des souches .....</b>	<b>46</b>
<b>IV.1.4. Recherche et dénombrement des entérocoques fécaux .....</b>	<b>47</b>
<b>IV.1.4.1. Biodiversité morphologique des isolats .....</b>	<b>47</b>
<b>IV.1.4.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide .....</b>	<b>47</b>
<b>IV.1.4.1.2. Tests de confirmation.....</b>	<b>47</b>
<b>IV.1.5. Recherche d'<i>Enterococcus</i> .....</b>	<b>47</b>
<b>IV.1.5.1. Biodiversité morphologique des isolats .....</b>	<b>48</b>
<b>IV.1.5.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide .....</b>	<b>48</b>
<b>IV.1.5.1.2. Coloration de Gram .....</b>	<b>48</b>
<b>IV.1.5.2. Biodiversité métabolique des isolats .....</b>	<b>48</b>
<b>IV.1.5.2.1. Recherche de la catalase .....</b>	<b>48</b>
<b>IV.1.6. Dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfitoréducteurs NFT 90-415 .....</b>	<b>49</b>
<b>IV.1.6.1. Biodiversité morphologique des isolats .....</b>	<b>49</b>
<b>IV.1.6.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide .....</b>	<b>49</b>
<b>IV.2. Recherche des bactéries pathogènes .....</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.1. Recherche des Salmonelles ISO 6340 .....</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.2. Recherche de Pseudomonas .....</b>	<b>52</b>
<b>IV.2.2.1. Biodiversité morphologique des isolats .....</b>	<b>52</b>
<b>IV.2.2.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide .....</b>	<b>52</b>
<b>IV.2.3. Recherche des Staphylocoques .....</b>	<b>53</b>
<b>IV.2.3.1. Biodiversité morphologique et métabolique des isolats .....</b>	<b>53</b>
<b>V. Abondance et antibiorésistance des bactéries fécales dans des boues d'épuration .....</b>	<b>53</b>
<b>VI. Détermination des profils de résistance aux antibiotiques .....</b>	<b>54</b>
<b>VI.1. L'antibiogramme .....</b>	<b>54</b>

## **Résultats et discussions**

<b>I. Résultats des enquêtes et questionnaires .....</b>	<b>57</b>
<b>II. Caractéristiques physicochimiques .....</b>	<b>58</b>

<b>III. Caractéristiques microbiologiques .....</b>	<b>59</b>
<b>III.1. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale .....</b>	<b>59</b>
<b>III.2. Identification biochimique des isolats .....</b>	<b>62</b>
<b>III.3. Antibiorésistance des coliformes totaux et fécaux sur les sites 1 et 3 .....</b>	<b>64</b>
<b>III.3.1. Multirésistance .....</b>	<b>67</b>
<b>III.4. Antibiorésistance d'Enterococcus dans les effluents hospitaliers et les eaux usées traitées .....</b>	<b>69</b>
<b>III.4.1. Multirésistance .....</b>	<b>70</b>
<b>III.5. Recherche des germes pathogènes .....</b>	<b>71</b>
<b>III.6. Abondance et antibiorésistance des bactéries fécales dans les boues d'épuration .....</b>	<b>73</b>
<b>Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>77</b>
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>80</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>Résumé Arabe</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Virus pathogènes pour l'homme susceptibles d'être rencontrés dans le milieu hydrique.....	10
<b>Tableau II</b> : critères requis pour les indicateurs de micro-organismes.....	12
<b>Tableau III</b> : Rejets d'origine domestique et industrielle.....	21
<b>Tableau IV</b> : Les rejets liquides spécifiques aux activités médicales.....	22
<b>Tableau V</b> : Caractéristiques des effluents de laboratoire et risques associés.....	24
<b>Tableau VI</b> : Constituants des rejets et polluants potentiels existants à l'établissement étudié .....	57
<b>Tableau VII</b> : Paramètres physicochimique des échantillons d'eaux des sites étudiés.....	58
<b>Tableau VIII</b> : Dénombrement des indicateurs de contamination fécale aux différents sites de prélèvements.....	61
<b>Tableau IX</b> : Résultats d'identification des espèces bactériennes par galerie API 20 E.....	62
<b>Tableau X</b> : Recherche des germes pathogènes aux différents sites d'étude .....	71

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Origine des eaux usées .....	04
<b>Figure 02</b> : photographies montrant les œufs de parasites helminthes rencontrés dans les eaux usées.....	09
<b>Figure 03</b> : Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à boues activées.....	15
<b>Figure 04</b> : Prétraitement des eaux usées .....	15
<b>Figure 05</b> : Principe d'un bassin de décantation .....	16
<b>Figure 06</b> : La problématique des effluents hospitaliers .....	20
<b>Figure 07</b> : Mécanismes de la résistance .....	27
<b>Figure 08</b> : Principales voies de contamination du milieu aquatique par les médicaments usage humain .....	31
<b>Figure 09</b> : Le cycle infernal des déchets de médicaments anticancéreux a la sortie de l'hôpital .....	33
<b>Figure 10</b> : la formation de mousses dans les bassins des stations d'épuration .....	34
<b>Figure 11</b> : Protocole de réalisation d'un antibiogramme .....	55
<b>Figure 12</b> : Espèces bactériennes identifiées à partir des coliformes totaux et coliformes fécaux des effluents hospitaliers (site 1) .....	63
<b>Figure 13</b> : Espèces bactériennes identifiées à partir des coliformes totaux et coliformes fécaux des eaux usées brutes (site 2).....	63
<b>Figure 14</b> : Espèces bactériennes identifiées à partir des coliformes totaux et coliformes fécaux des eaux usées traitées (site 3) .....	64
<b>Figure 15</b> : Pourcentage d'isolats de coliformes totaux et thermotolérants résistants à divers antibiotiques dans les différents milieux étudiés.....	65
<b>Figure 16</b> : Pourcentage d'isolats de coliformes totaux et thermotolérants résistants à au moins 1, 2 et 5 antibiotiques dans les différents milieux étudiés.....	68
<b>Figure 17</b> : Pourcentage d'isolats d' <i>Enterococcus</i> résistants à divers antibiotiques dans les différents milieux étudiés.....	69
<b>Figure 18</b> : Pourcentage d'isolats d' <i>Enterococcus</i> résistants à au moins 1, 2 et 4 antibiotiques dans les différents milieux étudiés.....	70
<b>Figure 19</b> : Pourcentage d'isolats d' <i>Escherichia coli</i> résistantes à divers antibiotiques dans les boues d'épuration .....	74
<b>Figure 20</b> : Pourcentage d'isolats d' <i>Enterococcus</i> résistants à divers antibiotiques dans les boues d'épuration. ....	74

## Liste des abréviations

°C : Degré Celsius  
µm : Micromètre  
µg : Microgramme  
µS : Micro siemens  
ADH : Arginine dehydrolase  
ADN : Acide désoxyribonucléique  
AFNOR : Agence Française de normalisation  
AM : Ampicilline  
AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique  
AN : Amikacine  
API 20 E : Appareillage et Procédés d'Identification des Entérobactéries  
ARA: Arabinose  
ARN : Acide ribonucléique.  
ASR : Anaérobies sulfitoréducteurs  
ATCC: American Type Culture Collection  
BLSE : bêtalactamases à spectre étendu  
Bq : becquerel  
BMR : Bactéries multi restantes.  
C1G : Céphalosporine de première génération.  
C2G : Céphalosporine de deuxième génération.  
C3G : Céphalosporine de troisième génération.  
CAZ : Ceftazidime  
CEN : Comité Européen de Normalisation  
CF : Céfazoline  
CIP : Ciprofloxacine  
CIT : Citrate de sodium  
CMI : Concentration minimale inhibitrice.  
CTX : Céfotaxime  
DBO<sub>5</sub>: Demande Biologique en Oxygène pendant 5 jours.  
D/C : Double concentration.  
DCO: Demande Chimique en Oxygène  
DO : Densité optique  
E : Érythromycine  
E.H : Equivalent Habitant  
EC : Conductivité électrique  
FOX : Cefoxitine  
g : Gramme  
G: Grossissement  
GEL : Gélatine de Kohn  
GLU: Glucose

**GM : Gentamicine**  
**GN : Gélose nutritive**  
**h : Heure**  
**H<sub>2</sub>S : Thiosulfate de sodium**  
**HN : Haut niveau**  
**IMP : Imipenème**  
**IND : Indole**  
**INO: Inositol**  
**ISO : International Organization of Standardization.**  
**I : Intermédiaire**  
**Lac : Lactose.**  
**LDC : Lysine décarboxylase**  
**MAN: Mannitol**  
**MEL: Melibiose**  
**MES : les matières en suspension**  
**min : Minute**  
**ml : Millilitre**  
**mm : Millimètre**  
**MRI : Intégrons de multirésistance.**  
**MRSA ou SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline**  
**mSv : Millisievert**  
**Na Cl : Chlorure de sodium**  
**NA : Acide nalidixique**  
**NF EN : Normes européenne et française.**  
**NPP : Nombre le plus probable.**  
**ODC : Ornithine décarboxylase**  
**OFX : Ofloxacin**  
**ONPG: Ortho-nitro-phenyl β-D- galactopyranoside**  
**Ox : Oxydase**  
**P: Phosphore**  
**PCR : Polymérase Chain Réaction**  
**pH : Potentiel hydrogène**  
**R : Résistante**  
**RHA: Rhamnose**  
**RM: Rouge de Méthyle**  
**S : Sensible**  
**S : Streptomycine**  
**SAC: Saccharose**  
**SI : Super-intégrons.**  
**SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise.**  
**SOR: Sorbitol**  
**sp: Espèce**  
**STEP: Station d'épuration**

**SXT : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)**

**SS : Salmonella-Shigella.**

**T : Température**

**t : Temps**

**TDA: Tryptophane Désaminase**

**TDS : Taux des solides dissous**

**TE : Tétracycline**

**TOB : Tobramycine**

**TSA : Trypticase soja agar**

**TSI : Triple Sugar Iron.**

**TTC : Chlorure de 2-3-5-triphényl-2H-tétrazolium**

**UFC : Unité Formant une Colonie**

**UREE : Urée**

**UV : Ultraviolets**

**VA : Vancomycine**

**VP : Voges-Proskauer.**

**VRE : Entérocoques résistants à la vancomycine**

**VIH: Virus de l'immunodéficience humaine**

## Liste des photographies

<b>Photographie 01</b> : Vue générale de l'hôpital 120 lits .....	38
<b>Photographie 02</b> : Vue générale de la station d'épuration de la ville de kenchela .....	38
<b>Photographie 03</b> : Collecteur principal de l'établissement hospitalier.....	39
<b>Photographie 04</b> : Recherche et dénombrement des Coliformes totaux.....	60
<b>Photographie 05</b> : Recherche et dénombrement des Entérocoques fécaux.....	60
<b>Photographie 06</b> : Recherche du genre <i>Enterococcus</i> .....	61
<b>Photographie 07</b> : Escherichia coli multirésistante productrice d'une Beta Lactamase à Spectre Etendu.....	68
<b>Photographie 08</b> : Isolement des Pseudomonas sur gélose Au Cetrimide .....	72

## Liste des annexes

**Annexe 01.** Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 E.

**Annexe 02.** Technique de la coloration de Gram

**Annexe 03.** Résistances naturelles aux  $\beta$  lactamines des espèces de bacilles non exigeants

**Annexe 04.** Liste des antibiotiques testés sur les entérobactéries charge des disques et classification.

**Annexe 05.** Liste des antibiotiques testés sur *Enterococcus* sp charge des disques et classification.

**Annexe 06.** Liste des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa* charge des disques et classification.

**Annexe 07.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries..

**Annexe 08.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* sp.

**Annexe 09.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

**Annexe 10.** Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

**Annexe 11.** Résultats détaillés des paramètres physicochimiques des échantillons des trois sites d'étude.

**Annexe 12.** Dénombrement des indicateurs de contamination fécale aux différents sites d'étude.

**Annexe 13.** Identification des indicateurs de contamination fécale dans les effluents hospitaliers.

**Annexe 14.** Identification des indicateurs de contamination fécale à l'entrée de la STEP.

**Annexe 15.** Identification des indicateurs de contamination fécale à la sortie de la STEP.

**Annexe 16.** Composition des milieux de culture.

# *Introduction*

## **Introduction**

Les établissements de santé dans leurs diversités et quelque soit leurs capacité litières et la nature des soins fourni aux patients, consomment une énorme quantité d'eau essentielle au bon fonctionnement du centre médical mais capitale pour l'hygiène du malade.

Cette importante consommation en eau donne naissance à de grands volumes de rejets liquides très diverses et hybrides, à la fois domestiques et industriels, mais aussi très spécifiques des activités de soins et de recherches médicales (**Deloffre-Bonnamour, 1995**).

Ces effluents sont évacués par la suite vers des stations d'épuration dont la potentialité du traitement spécifique visant à éliminer certains micro-organismes pathogènes et germes multi résistants aux antibiotiques ainsi que des substances chimiques multiples est faible, à cause d'une gestion des déchets soumise à des contraintes institutionnelles, financières et techniques. Ces agents vont donc se retrouver déverser dans le réseau d'assainissement urbain ou dans le milieu naturel sans traitement préalable. En effet, le dosage des polluants d'origine hospitalière montre que certaines substances, particulièrement des résidus médicamenteux, quittent le plus souvent les stations d'épuration presque inchangés.

L'évolution physique, chimique et biologique que connaissent les effluents hospitaliers, amènent à se poser plusieurs questions sur leur risque potentiel pour l'homme et l'ensemble des espèces vivantes exposés aux substances dangereuses contenues dans ces effluents. Mais aussi le risque sur l'environnement et particulièrement les écosystèmes aquatiques puisque d'une façon générale, les hôpitaux agissent à deux niveaux sur ces derniers :

- Ils ont une demande en eau potable très importante afin de répondre aux nombreux besoins du centre médical

- Et parallèlement, ils produisent des effluents liquides pollués dont certaines peuvent avoir un caractère peu biodégradable. Ces substances difficilement dégradables libérés par la station d'épuration peuvent provoquer la pollution du milieu naturel ce qui entraînera un déséquilibre biologique. Si les conditions écologiques permettant la croissance des organismes capables de dégrader ces substances ne sont pas réunies, ces substances peuvent avoir une grande pérennité dans le milieu naturel.

D'autant plus qu'une grande quantité d'eau polluée est rejetée dans la nature et se trouve réutilisée principalement en agriculture. La réutilisation de ces eaux usées en

agriculture a pris de l'ampleur et avec elle les conséquences néfastes qu'elle peut engendrer sur l'environnement, la santé publique et la santé animale.

En effet, dans plusieurs pays, les analyses des eaux usées des centres hospitaliers montre une contamination par des bactéries, des organismes parasitaires ainsi que des métaux lourds. Cependant, à côté de ces contaminants néfastes, ces eaux peuvent aussi renfermer des constituants bénéfiques qui enrichissent les sols en matière organique et en éléments fertilisants. Devant ce dilemme, il serait difficile de trancher sur le danger d'utilisation des eaux usées. Seule, l'évaluation du risque que portent ces eaux pour l'homme et sur l'environnement pourra donner une réponse claire.

### **Objectifs du travail :**

L'objectif de notre travail est de contribuer à caractériser de manière approfondie sur les plans physicochimique et microbiologique les risques associés aux effluents de l'établissement hospitalier 120 lits de kenchela.

Pour cela nous avons d'abord effectué un état des lieux des différents polluants présent au sein de la structure hospitalière grâce à une enquête établie au niveau des différents services de l'établissement.

Ensuite nous nous sommes intéressés aux déchets liquides de l'établissement hospitalier 120 lits en étudiant plusieurs paramètres microbiologiques nous permettant la détermination de la concentration en germes indicateurs de contamination fécale et en germes pathogènes ainsi que la détermination des profils de résistance aux antibiotiques des souches identifiées.

les résultats obtenues à partir des prélèvements effectués directement à la sortie du centre hospitalier seront comparés aux effluents urbains. Ce deuxième site est choisi pour suivre le devenir des déchets hospitaliers, l'élimination ou la persistance des germes identifiées après passage par la station d'épuration urbaine de la wilaya de kenchela.

À l'issue de cette étude nous pourrions évaluer les risques biologiques infectieux dus à la contamination du milieu récepteur par des bactéries pathogènes présents dans les effluents hospitaliers.

Nous pourrions aussi proposer une stratégie adaptée pour améliorer la qualité des rejets et éviter ainsi les dangers sur la santé publique et l'environnement.

***Chapitre 1***  
***Les eaux usées***

## I. Les eaux usées

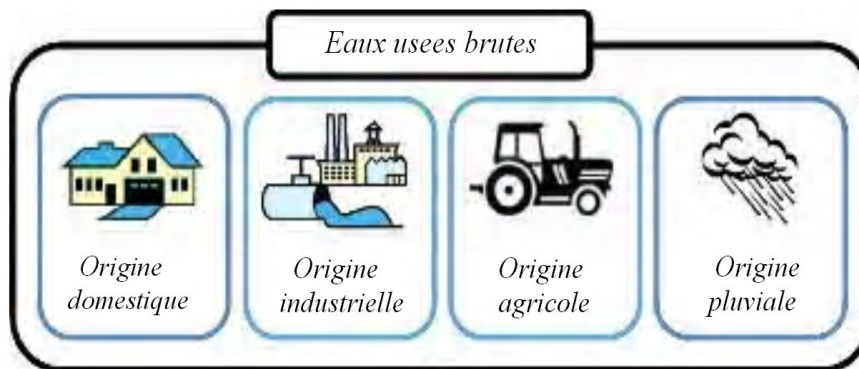
### I.1. Définition

Les eaux usées (résiduaire ou effluents) sont toutes les eaux chargées de différents éléments polluants, suite à des activités domestiques, industrielles, agricoles ou autres.

L'aspect des eaux résiduaire fraîche est celui d'un liquide brun gris avec une odeur faible mais typique. Durant leur transport, ces eaux se modifient d'autant plus vite que la température est élevée ; elles deviennent noires et dégagent une odeur plus forte, signe de la présence d'hydrogène sulfureux ( $H_2S$ ), dangereux et corrosif. Environ un tiers des matières contenues dans ces eaux est en suspension, le reste est en solution. (**Moussa Moumouni Djermakoye, 2005**).

### I.2. Origine des eaux usées

Les eaux usées proviennent de quatre sources principales comme l'illustre la figure 01 :



**Figure 01** : Origine des eaux usées

#### I.2.1. Les eaux usées domestiques

Elles proviennent des différents usages domestiques de l'eau et sont essentiellement porteuses de pollution organique. Elles se répartissent en eaux ménagères, chargées de détergents, de graisses, de solvants, de débris organiques. Et en eaux "vannes" regroupant les rejets des toilettes chargés de matières organiques azotées et de germes fécaux. (**Baumont et al., 2005**).

#### I.2.2. Les eaux industrielles

Ces eaux sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus des matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques et des hydrocarbures. Certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte. (**Edeline, 1979**).

### **I.2.3. Les eaux de ruissellement agricole**

Il s'agit de rejets liquides agricoles issus du ruissellement d'eau d'irrigation qui entraîne des engrais, des pesticides, des herbicides ou des rejets organiques d'élevage important.

### **I.2.4. Les eaux pluviales**

Elles peuvent, elles aussi, constituer la cause de pollutions importantes des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. L'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles), puis, en ruisselant, des résidus déposés sur les toits et les chaussées des villes (huiles de vidange, carburants, résidus de pneus et métaux lourds...). (Bontoux, 1983).

## **I.3. La collecte des eaux usées**

Le réseau d'assainissement des eaux usées d'une agglomération a pour fonction de collecter ces eaux pour les conduire à une station d'épuration. (Bontoux, 1983).

La collecte s'effectue par l'évacuation de l'ensemble des eaux usées dans les canalisations d'un réseau d'assainissement appelé collecteur.

Le transport des eaux usées dans les collecteurs se fait par gravité, si la configuration du terrain ne permet pas un écoulement satisfaisant, différents procédés tel que le pompage et les stations de relèvement vont faciliter leur acheminement.

## **II. Caractéristiques des eaux usées**

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leur origine. Elles peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes. (Baumont *et al.*, 2005).

Le control et le suivi de la qualité des eaux usées nécessitent de nombreuses analyses, incluant le dosage de multiples paramètres physico-chimiques et bactériologiques. Ces analyses sont réalisées par des méthodes dont les protocoles sont bien définis.

Seules les caractéristiques physiques, chimiques et bactériologiques testées au cours de notre travail seront citées dans la partie bibliographique.

### **II.1. Principaux paramètres physico-chimiques mesurables**

#### **II.1.1. Température (T)**

La température de l'eau joue un rôle important dans la solubilité des sels et des gaz dont, l'oxygène, nécessaire à l'équilibre de la vie aquatique. Par ailleurs, elle accroît les vitesses des réactions chimiques et biochimiques d'un facteur 2 à 3 pour une augmentation de température de 10 °C. La valeur de ce paramètre est influencée par la température ambiante

mais également par d'éventuels rejets d'eaux résiduaire chaudes. Des changements brusques de température de plus de 3° C s'avèrent souvent néfastes. (Boeglin, 2000).

### II.1.2. l'oxygène dissous

La solubilité de l'oxygène dans l'eau varie en fonction de la température, de la pression partielle dans l'atmosphère et de la salinité. L'oxygène dissous conserve ses propriétés oxydantes, soit par une réaction purement chimique, soit par des phénomènes électrochimiques d'où son importance dans le phénomène de corrosion. La teneur de l'oxygène dans l'eau usée domestique varie de 2 à 8 mg/L.

### II.1.3. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est une des caractéristiques fondamentales de l'eau. Il donne une indication de l'acidité d'une substance. Il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogène ( $H^+$ ) ou d'ions hydroxyde ( $OH^-$ ) contenus dans la substance.

La valeur du pH est à prendre en considération lors de la majorité des opérations de traitement de l'eau, surtout lorsque celles-ci font appel à une réaction chimique nécessitant un pH spécifique pour être efficaces. (Rejsek, 2002).

### II.1.4. Conductivité électrique (EC)

La conductivité électrique d'une eau traduit son aptitude à laisser passer le courant électrique. Le transport des charges se faisant par l'intermédiaire des ions contenus dans l'eau, il est logique d'admettre que la conductivité d'une eau sera d'autant plus importante que sa minéralisation sera élevée. Cette mesure, quasi instantanée, permet donc de connaître la minéralisation d'une eau. L'unité de conductivité utilisée en chimie des eaux est le micro Siemens  $\mu S/cm$ . (Moussa Moumouni Djermakoye, 2005).

### II.1.5. Taux des solides dissous (TDS)

Dans les eaux, les solides totaux sont constitués par les matières dissoutes et les matières en suspension.

Les solides dissous sont constitués principalement des substances inorganiques dissoutes telles que les chlorures, les sulfates, les bicarbonates, le calcium, le magnésium et le sodium. Les mesures des solides totaux et dissous permettent d'évaluer la qualité de l'eau, sachant que les concentrations élevées en solides totaux et dissous seront liées à des problèmes esthétiques tels que l'odeur, la couleur ou le goût.

L'unité du taux des solides dissous utilisé en chimie des eaux est le mg/l. (Moussa Moumouni Djermakoye, 2005).

### II.1.6. Pollution organique

La charge polluante biodégradable est quantifiée par quatre principaux paramètres:

**DBO<sub>5</sub> : Demande Biologique en Oxygène** : Elle représente la quantité d'oxygène nécessaire aux micro-organismes pour oxyder la matière organique biodégradable présente dans l'eau grâce aux phénomènes d'oxydation par voie aérobie. Le résultat est exprimé en mg/l d'oxygène consommé pendant 5 jours.

**DCO : Demande Chimique en Oxygène** : exprimée en mg d'oxygène par litre, elle représente la consommation d'oxygène nécessaire à l'oxydation non biologique de l'ensemble des matières organiques présentes dans l'effluent, qu'elles soient ou non biodégradables. Généralement la DCO est 1,5 à 2 fois la DBO<sub>5</sub> pour les eaux usées urbaines et de 1 à 10 pour tout l'ensemble des eaux résiduaires industrielles.

**MES : les matières en suspension** : exprimées en mg par litre. Ce sont les matières non dissoutes contenues dans l'eau. Elles comportent à la fois des éléments minéraux et organiques. Les matières solides non dissoutes et en suspension dans les eaux usées sont mesurées en général par filtration ou centrifugation

**E.H : Equivalent Habitant** : Pour quantifier globalement les matières polluantes contenues dans les eaux usées domestiques (et assimilées), on utilise comme unité de mesure l'équivalent-habitant. La notion d'équivalent-habitant est utilisée pour quantifier la pollution émise par une agglomération à partir de la population qui y réside et des autres activités non domestiques. Un équivalent-habitant exprime la charge polluante contenue dans 180 litres d'eau usée c'est-à-dire la production d'un habitant et pour un jour. Il correspond à 60g de **D.B.O<sub>5</sub>**, 135 g de **D.C.O**, 9,9 g d'azote, 3,5 g de phosphore.

L'Equivalent Habitant permet de déterminer le dimensionnement des stations d'épuration en fonction de la charge polluante. ([Anonyme, 1993](#))

### II.1.7. Pollution azotée

L'azote rencontré dans les eaux usées peut avoir un caractère organique ou minéral, il se présente sous quatre formes :

- L'azote organique qui se transforme en azote ammoniacal.
- L'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub>) qui traduit un processus d'ammonification de la matière organique azotée. Les ions ammoniums subissent une nitrification par les bactéries nitrifiantes.
- L'azote nitreux (NO<sup>2-</sup>) provient d'une oxydation incomplète de l'azote ammoniacal ou par une réduction des nitrates par dénitrification. Les nitrites sont instables et sont rapidement transformés en nitrates.

• L'azote nitrique ( $\text{NO}_3^-$ ) qui est produit par nitrification de l'azote ammoniacal. Il joue un rôle important dans le développement des algues et participe au phénomène d'eutrophisation. (Martin, 1979).

### II.1.8. Pollution phosphorée

Les composés phosphorés ont deux origines possibles : le métabolisme humain et les détergents. (Asmlal, 1996). Dans les eaux usées, le phosphore se trouve soit sous forme d'ions orthophosphates isolés  $\text{PO}_4^{3-}$ , soit sous forme d'ions phosphates condensés avec des molécules organiques. (Rejsek, 2002).

Les orthophosphates sont facilement fixés par le sol, leur présence est souvent liée à la nature des terrains traversés, à la décomposition de la matière organique et aux engrais phosphatés industriels entraînés par lessivage ou par infiltration.

Les polyphosphates sont utilisés comme agents de peptisation, d'émulsification, de dispersion, d'inhibition et sont utilisés dans des domaines aussi divers que les industries des lessives en poudres, l'agroalimentaire et les industries pharmaceutiques.

## II.2. Principaux paramètres microbiologiques

### II.2.1. Composition microbiologique des eaux usées

Les eaux usées contiennent tous les micro-organismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. L'ensemble de ces organismes peut être classé dans les grands groupes suivants :

#### II.2.1.1. Les bactéries

Ce sont les microorganismes les plus communément rencontrés dans les eaux usées puisqu'on retrouve en moyenne  $10^7$  à  $10^8$  bactéries/l. La concentration en bactéries pathogènes est de l'ordre de  $10^4$ /l, parmi les plus détectées sont retrouvées, les *salmonelles*, dont celles responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux (Faby et Brissaud, 1997 ; Toze, 1999).

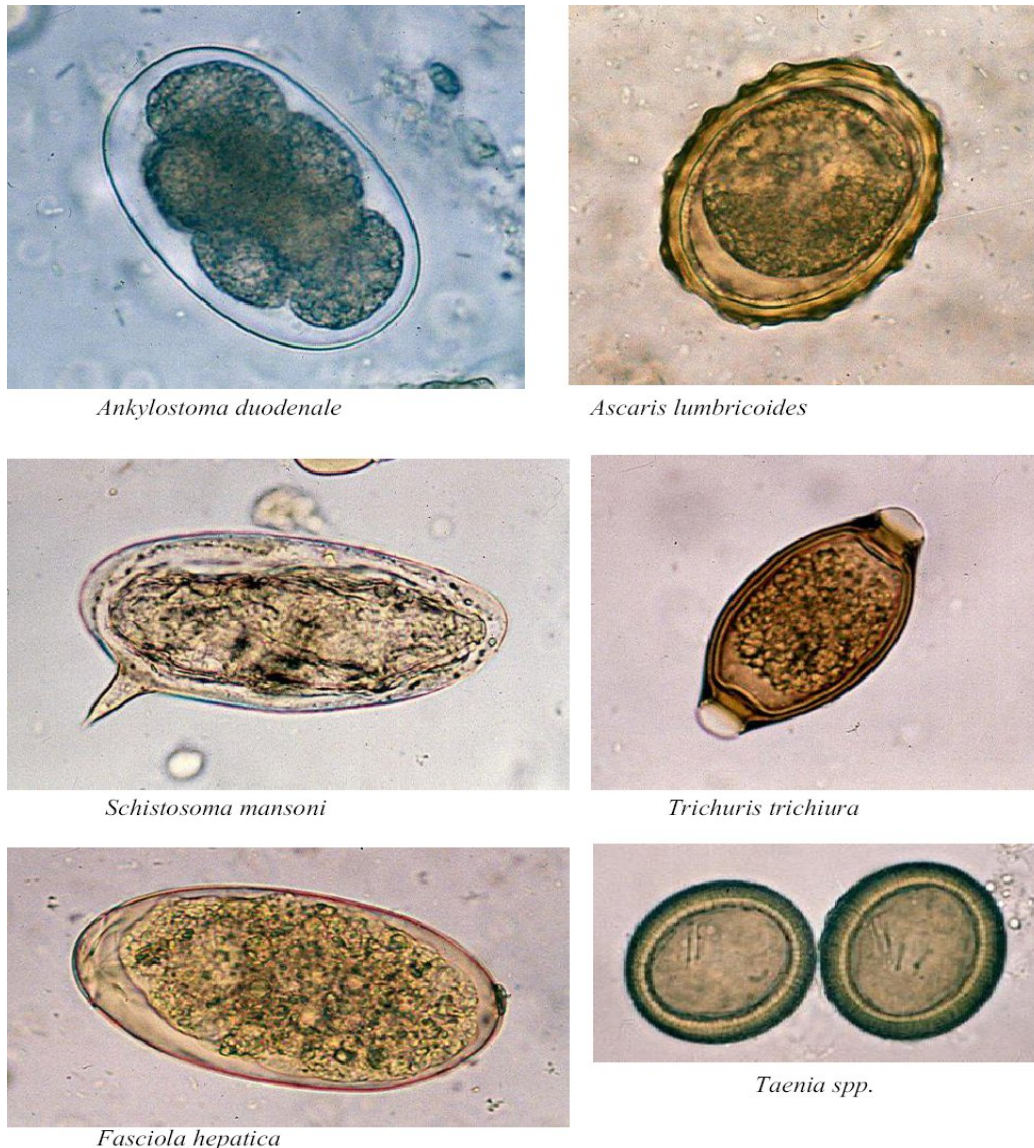
#### II.2.1.2. Les parasites

Il existe deux formes de parasites présents dans le milieu hydrique : les protozoaires et les métazoaires

**Les protozoaires** : sont des organismes unicellulaires eucaryotes à origine humaine et/ou animale et sont souvent rencontrés dans les eaux où ils se nourrissent de matière organique ou de bactéries. Ils possèdent des propriétés de résistance aux désinfectants habituellement utilisés pour le traitement de l'eau. Parmi les principaux parasites présents

dans le milieu hydrique, se trouvent les protozoaires rhizopodes (*Entamoeba*) les protozoaires flagellés (*Giardia*), les protozoaires sporozoaires (*Cryptosporidium* et *Toxoplasma*), les protozoaires rhizopodes ou amibes (*Naegleria* et *Acanthamoeba*) et les microsporidies (*Enterocytozoon* et *Encephalitozoon*). (Banas, 2003).

Parmi ces protozoaires, la majorité provoque des affections intestinales émergentes transmises par les eaux de surface, d'irrigation, les eaux destinées à la consommation, et par les aliments irrigués par des eaux usées brutes non traitées.



**Figure 02** : photographies montrant les œufs de parasites helminthes rencontrés dans les eaux usées (WHO, 1994).

**Les métazoaires helminthes** sont des vers multicellulaires plats (plathelminthes) ou ronds (némathelminthes) et sont majoritairement des organismes parasites. Ce sont pour la plupart, des vers intestinaux, souvent rejetés avec les matières fécales sous forme d'œufs très

résistants. Ces œufs sont la forme de résistance et de dissémination dans l'environnement et ils sont donc retrouvés dans les eaux usées brutes et les boues résiduaires (Schwartzbrod, et Capizzi-Banas, 2003).

### II.2.1.3. Les virus

Ce sont des parasites obligatoires vu qu'ils ne possèdent ni noyau ni capacité de synthèse, ils détournent à leur profit, tout les systèmes vitaux de leurs hôtes.

Les virus sont très abondants dans le milieu aquatique. Plus de 140 virus pathogènes peuvent être éliminés dans les fèces humaines (Tableau I). On estime leur concentration dans les eaux usées urbaines comprise entre  $10^3$  et  $10^4$  particules par litre.

**Tableau I** : Virus pathogènes pour l'homme susceptibles d'être rencontrés dans le milieu hydrique. (Schwartzbrod, 2000)

Familles	Genre	Espèces	Maladies provoquées
Picornaviridae	Entérovirus	Virus Poliomyélitique Virus Coxsackie A	Paralysie, méningite, fièvre, poliomyélite. Méningite, infection respiratoire, herpangine
		Virus Coxsackie B	Myocardite, éruption cutanée, fièvre, méningite, infection respiratoire, pleurodynie.
		Echovirus	Méningite, infection respiratoire, éruption cutanée, fièvre, diarrhée.
		Entérovirus 68 à 71	Méningite, encéphalite, atteinte des voies respiratoires, conjonctivite hémorragique.
	Hépatovirus	Virus de l'hépatite A	Hépatite infectieuse.
Reoviridae	Réovirus Rotavirus	Réovirus humains Rotavirus humains	Non établie. Gastro-entérite
Caliciviridae	Norwalk-like virus (NLV) Sapporo-like virus (SLV)	Genogroupes I et II	Gastro-entérite.
		Genogroupe III	Gastro-entérite.
Astroviridae	Astrovirus	Astrovirus humains	Gastro-entérite.
Coronaviridae	Coronavirus	Coronavirus humains	Entérocolite.
	Torovirus	Torovirus	Gastro-entérite
Adenoviridae	Mastadénovirus	Adénovirus humains	Infection respiratoire, conjonctivite et gastro-entérite.
?	?	Virus de l'hépatite E	Hépatite infectieuse.

Il semble que les virus soient plus résistants que les bactéries, puisque des études montrent qu'au cours du processus de traitement des eaux usées, les virus sont plus difficiles à éliminer que les bactéries classiques couramment utilisées comme indicateurs de la qualité bactériologique des eaux (Aulicino *et al.*, 1996).

La concentration virale des eaux usées est sujette à des variations en fonction de nombreux facteurs géographiques, socio-économiques, saisonniers mais surtout sanitaires. Ainsi, plus le niveau d'hygiène est faible plus la quantité de virus retrouvée dans les eaux usées est importante (Dahling *et al.*, 1989). Par ailleurs, les stéréotypes de virus isolés sont dans certains cas très nombreux (Tableau I).

#### II.2.1.4. Les bactériophages

Les bactériophages susceptibles d'être excrétés dans les selles et d'être retrouvés dans le milieu hydrique sont très nombreux et parmi eux certains peuvent être utilisés au titre d'indicateurs de contamination virale en raison de leur similarité avec les entérovirus humains et de leur facilité de détection dans l'eau. Ils sont regroupés classiquement en 3 catégories : Les coliphages somatiques, les Phages à ARN F-spécifiques et Les Phages de *Bactéroides fragilis*. (Skraber, 2003)

#### II.2.2. Indicateurs de contamination microbiologique

Dans la pratique, il est techniquement et financièrement impossible de contrôler tous les microorganismes pathogènes susceptibles d'engendrer des infections d'origine hydrique. Devant cette impossibilité et compte tenu de leur origine fécale prédominante, on fait appel à des indicateurs de contamination fécale pour révéler la présence possible de germes pathogènes et évaluer la contamination microbiologique des eaux.

Ces indicateurs sont des germes témoins ou germes test. Leur présence indique la probabilité, mais non la certitude, d'une contamination de pathogènes d'origine fécale. En revanche, leur absence ne signifie pas l'absence de risque sanitaire. Le choix de ces indicateurs est crucial et doivent répondre à des critères repris dans le tableau II.

L'utilisation des indicateurs de contamination fécale diffère selon le type d'eau (Mara, 2004). Dans le domaine des eaux de consommation par exemple, une eau est déclarée exempte de microorganismes pathogènes, si elle ne contient aucun indicateur fécal.

Par contre, avec les eaux usées, la situation est différente : les eaux usées contiennent de la matière fécale et des microorganismes entériques. Les indicateurs sont utilisés, non pour attester la présence d'une contamination fécale, mais pour évaluer l'efficacité d'élimination

des pathogènes dans les procédés de traitement des eaux usées, ou les risques liés à la réutilisation des effluents. (Maiga, 2010).

Traditionnellement, les germes test utilisés sont : les coliformes totaux, les coliformes thermotolérants, streptocoques fécaux et les anaérobies Sulfite réducteurs.

**Tableau II** : critères requis pour les indicateurs de micro-organismes (Vandermeersch, 2006)

Concernant l'écologie les indicateurs doivent :	Concernant la faisabilité analytique les indicateurs doivent :
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Etre présents en même temps que les germes pathogènes</li> <li>- Apparaître en plus grand nombre que les pathogènes</li> <li>- Se comporter vis-à-vis du traitement envisagé de façon aussi proche que possible des pathogènes</li> <li>- Se développer largement, indépendamment des autres organismes présents (ils ne doivent pas être inhibés par la présence d'autres bactéries)</li> <li>- Ne pas se multiplier après les traitements.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se développer rapidement sur/dans des milieux simples et spécifiques</li> <li>- Produire des réactions simples et caractéristiques, permettant une identification sans ambiguïté du groupe</li> <li>- Etre distribués au hasard dans l'échantillon à examiner</li> <li>- Etre faciles à identifier et à dénombrer.</li> </ul>

### II.2.2.1. Les coliformes totaux

Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries gram négatif en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35 °C c'est à dire une réaction positive au test de l'ONPG (ortho-nitrophényl- $\beta$ -D-galactopyranoside). De plus, tous les coliformes totaux doivent produire une réaction négative à l'épreuve de la cytochrome oxydase (Archibald, 2000; CEAEQ, 2000; Edberg *et al.*, 2000). Les principaux genres inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* (CEAEQ, 2000).

La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé (Edberg *et al.*, 2000; OMS, 2000), à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes.

### II.2.2.2. Les coliformes thermotolérants

Il s'agit d'un sous-ensemble du groupe des coliformes totaux, auparavant appelés coliformes fécaux. Ces coliformes sont les plus représentatifs d'une contamination fécale car ils sont hôtes du tube digestif de l'homme ou de l'animal. Ils constituent des indicateurs relativement fiables de présence, de survie ou de résistance au traitement. Ils sont en grande majorité représentés par *Escherichia Coli* (entre 95 et 98%). (Vansteelant, 2004). Cette

bactérie a l'avantage d'être fortement spécifique d'un habitat normal intestinal et de ne pas se multiplier dans l'environnement.

Par définition, les coliformes thermotolérants comprennent les coliformes totaux capables de produire du gaz dans les 24 heures à 44,5 °C (APHA *et al.*, 1998). Ce groupe comprend des membres des genres *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter*.

### II.2.2.3. Entérocoques fécaux

Ce terme désigne les entérocoques généralement présents dans les fèces de l'homme et des animaux. Tous possèdent l'antigène du groupe D de Lancefield. Du point de vue taxonomique, ils appartiennent aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus*. La classification générale des streptocoques fécaux a été modifiée dans les années 80 par la création d'un nouveau genre, *Enterococcus*. Dans ce contexte, plusieurs espèces appartenant antérieurement au genre *Streptococcus* ont été transférées vers le genre *Enterococcus*. *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain (Gleson et Gray, 1997). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains à des concentrations variant de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries/g. (Gleson et Gray, 1997; Edberg *et al.*, 2000; Hancock et Gilmore, 2000).

La plupart de ces espèces peuvent généralement être considérées en pratique comme des indicateurs spécifiques d'une pollution fécale humaine. Ils sont également utilisés en raison de leur meilleure résistance dans le milieu. Ce sont des bactéries à gram positif qui se présentent sous forme de coques en courtes chaînes. Ils ont la capacité de croître à une température entre 10 et 45 °C, à un pH alcalin de 9,6, dans une solution contenant 6,5 % de Na Cl (Facklam *et al.*, 1999; Hancock et Gilmore, 2000 ; CEAEQ, 2000).

La culture est généralement favorisée par une incubation dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone, ces caractéristiques sont utilisées pour leur identification.

### II.2.2.4. Anaérobies sulfitoréducteurs

Les germes anaérobies sulfitoréducteurs (généralement les *Clostridium*s) sont des hôtes normaux de l'intestin ; mais ils peuvent aussi se rencontrer dans le sol et dans les matières organiques en voie de putréfaction. Leur résistance est beaucoup plus importante que celles des autres germes indicateurs car ils sont sporulés. Ils sont parfois seuls survivants d'une contamination fécale ancienne. Il est difficile lorsqu'ils sont seuls présents de conclure à une contamination fécale ; lorsqu'ils sont présents aux cotés d'*Escherichia coli* ou des coliformes et Streptocoques D, ils confirment l'origine fécale d'une contamination.

Les germes anaérobies sulfitoréducteurs sont des bacilles Gram positif souvent de grande taille, isolés ou en chainettes. Ces bactéries sont généralement mobiles, elles sont capables de sporuler. Elles sont catalase négatif et anaérobies strictes. Cependant quelques espèces sont aérotoles. (Lebers, 2008)

#### **II.2.2.5. Indicateurs émergents**

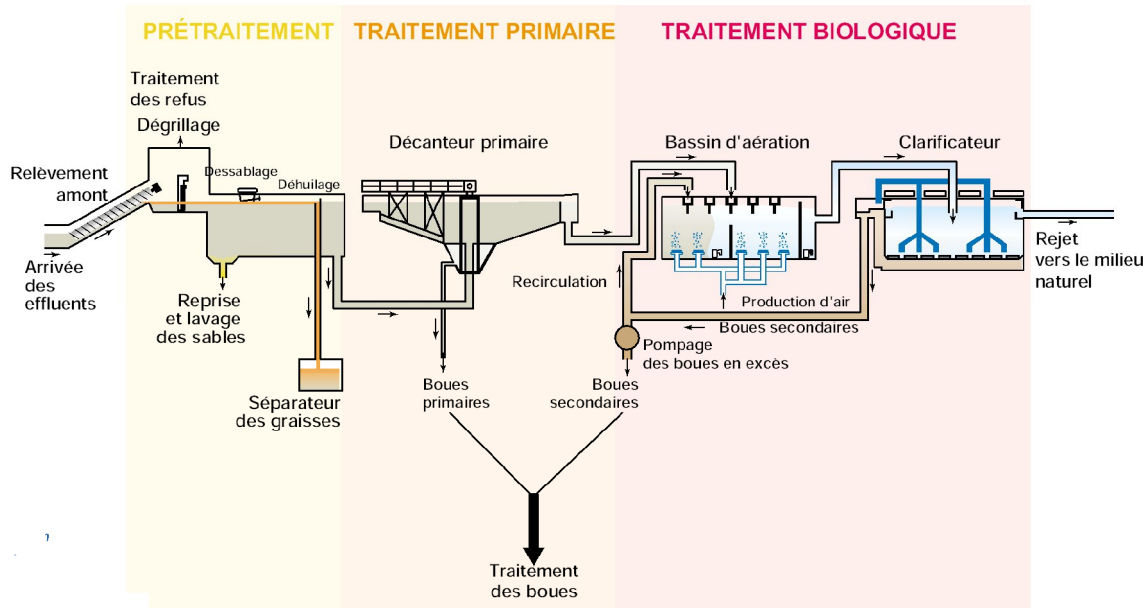
De nombreuses épidémies d'origine hydrique ont été recensées alors qu'aucun dépassement de norme bactérienne n'avait été enregistré. En effet, ces épisodes ont été provoqués par des germes pathogènes ne disposant pas d'indicateurs traditionnels satisfaisants. C'est le cas notamment de *Cryptosporidium*, de *Giardia* et des virus. Ainsi, aux Etats-Unis, entre 1984 et 1992, toutes les épidémies de cryptosporidiose liées à l'eau de boisson ont eu lieu par des eaux dont les indicateurs de suivi de la qualité de l'eau étaient en faible concentration. (Banas S, 2003).

On s'est alors rendu compte que la surveillance de la qualité microbiologique des eaux par les seuls germes témoins, ne permet pas toujours de repérer les risques viraux et parasitaires, d'où l'importance d'indicateurs émergents.

### **III. Les traitements d'épuration**

Le traitement ou l'épuration des eaux usées a pour objectif de réduire la charge polluante qu'elles véhiculent. Par conséquent elles devraient être dirigées vers des stations d'épuration dont le rôle est de concentrer la pollution contenue dans les eaux usées sous la forme d'un petit volume de résidu, les boues, et de rejeter une eau épurée répondant à des normes bien précises. (Adler E, 2005).

Une station d'épuration peut s'apparenter à une usine de dépollution des eaux usées avant leur rejet en milieu naturel, généralement en rivière. Par sa fonction, elle est installée à l'extrémité d'un réseau de collecte des égouts et en amont du milieu naturel. Elle rassemble une succession de dispositifs, empruntés tour à tour par les eaux usées, chacun étant conçu pour extraire au fur et à mesure les différents polluants contenus dans les eaux.

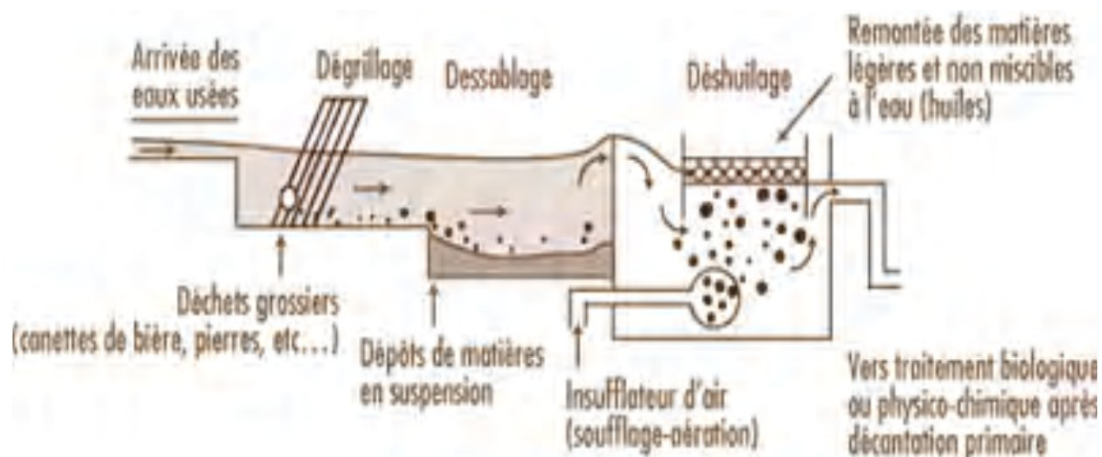


**Figure 03** : Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à boues activées (**Picard, 2006**)

### III.1. Les pré-traitements

Les collecteurs des eaux usées charrient des matières très hétérogènes, et souvent grossières. Arrivant à la station d'épuration, les eaux vont subir en premier lieu des traitements de dégrossissage nommés pré-traitements. Ceux-ci vont permettre d'extraire la plus grande quantité des éléments dont la taille (détritus grossiers), le pouvoir abrasif (sables, argiles) et la masse spécifique (graisses flottantes) risquent de perturber le fonctionnement des étapes ultérieures.

Après pré-traitement, caractérisé par un dégrillage, un dessablage et un déshuilage (figure 04), les eaux ne contiennent plus qu'une charge polluante dissoute et des matières en suspension. (**Le Hyaric, 2009**)



**Figure 04** : Prétraitement des eaux usées. (**Canler et Perret, 2004**).

### III.2. Traitement primaire

Le traitement primaire consiste en la décantation des matières en suspension (MES) dans un bassin de sédimentation traversé par de l'eau à faible vitesse (figure 05). En éliminant une fraction de ces solides en suspension (jusqu'à 90 %), on allège les traitements biologiques ultérieurs. L'efficacité du traitement dépend du temps de séjour des eaux dans le bassin et de la vitesse de chute des MES. Leur décantation entraîne également avec elle des micro-polluants et micro-organismes. La pollution dissoute n'est, par contre, que très partiellement traitée.

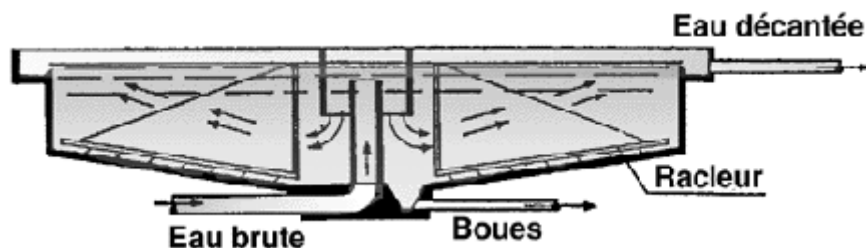


Figure 05 : Principe d'un bassin de décantation (Jardé, 2002).

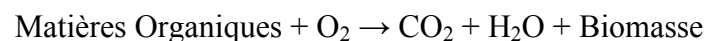
Les eaux usées rejoignent le traitement secondaire par débordement tandis que les boues ainsi formées sont extraites pour être mises en décharge ou revalorisées en agriculture.

### III.3. Traitement secondaire ou Traitement biologique

Les traitements biologiques s'apparentent aux procédés de dégradation naturelle mais de façon plus intensive. Ils ne s'attaquent qu'à la fraction biodégradable de la pollution organique qui comprend :

- Des protides (protéines en général),
- Des glucides (sucres, amidons, cellulose),
- Des lipides et des graisses (esters d'acides gras et d'alcools assez complexes et insolubles dans l'eau et capables de former des émulsions très stables).

Ces procédés aérobies mettent en œuvre des bactéries hétérotrophes qui ont besoin de matière organique pour vivre et qui consomment de l'oxygène. La réaction de respiration bactérienne peut être résumée ci-après :



Ces bactéries s'activent donc avec la température et transforment la matière organique soluble en énergie et en matière organique de synthèse en consommant  $\text{O}_2$ . (Adler, 2005).

Le procédé de traitement biologique le plus utilisé pour des stations de taille moyenne (+ de 2000 équivalents habitants) est le traitement par **les boues activées**. Dans ce procédé,

les bactéries se trouvent en suspension dans l'eau du bassin par un brassage continu, elles sont donc en contact permanent avec les matières organiques dont elles se nourrissent, et avec l'oxygène nécessaire à leur assimilation.

A l'aval de ce traitement, un clarificateur (ou décanteur secondaire) permet l'isolation des boues. Afin de conserver un stock constant et suffisant de bactéries pour assurer le niveau d'épuration recherché, une grande partie des boues extraites du décanteur est réintroduite dans le bassin d'aération ; on parle alors de recirculation des boues. La fraction restante est évacuée du circuit et dirigée vers les unités de traitement des boues, elle constitue les "boues en excès". (Degremont, 2005).

### III.4. Les traitements tertiaires

Les traitements tertiaires regroupent tous les traitements complémentaires visant à affiner la qualité de l'effluent ayant subi les traitements physiques, physico-chimiques et biologiques (Franck, 2002). Les traitements tertiaires englobent, principalement :

- l'élimination de l'azote grâce à des traitements biologiques de "nitrification-dénitrification".
- l'élimination du phosphore par des voies physico-chimiques ou biologiques.
- la désinfection qui permet de détruire ou d'éliminer les micro-organismes susceptibles de transmettre des maladies en ajoutant à l'eau un produit chimique germicide. ou par des procédés physiques comme: ébullition, ultrasons, ultraviolets (UV) ou rayon gamma.
- le traitement des odeurs afin de limiter leur émission par des installations de désodorisation chimique ou biologique. Leur couverture est aussi une manière d'atténuer les émissions malodorantes.

## IV. Boues d'épuration

Les boues sont définies par le **Comité Européen de Normalisation (CEN)** comme "un mélange d'eau et de matières solides, séparé par des procédés naturels ou artificiels des divers types d'eau qui le contiennent". Les boues sont le résidu principal issu du traitement des eaux usées domestiques ou industrielles. (Jardé, 2002). Elles se présentent sous forme liquide avec 95% d'eau en moyenne et avec une forte charge en matière organique hautement fermentescible ainsi que des matières minérales.

### IV.1. La filière de traitement des boues

Les caractéristiques des boues sont problématiques, elles imposent la mise en place d'une filière de traitement dont les procédés peuvent varier suivant la nature des boues et la taille de la station d'épuration. Trois grands types de traitement sont à distinguer :

- des traitements de stabilisation, dont l'objectif est de réduire le pouvoir fermentescible des boues afin de limiter ou d'annuler les nuisances olfactives,
- des traitements de réduction de la teneur en eau des boues, visant à diminuer le volume de boues à stocker ou à épandre et/ou à améliorer leurs caractéristiques physiques.
- des traitements d'hygiénisation qui visent à éliminer la charge en micro-organismes pathogènes.

## **IV.2. Voies d'élimination des boues couramment utilisées**

Il existe trois voies principales d'élimination de ces déchets ([Jardé, 2002](#)) :

### **IV.2.1. L'incinération**

Les déchets sont brûlés dans une chambre à très haute température (de préférence à 1200°C) avec une fourniture suffisante en oxygène pour oxyder tous les matériaux organiques. Elle peut ainsi détruire 99,9 % des déchets organiques (y compris les composés organiques chlorés).

### **IV.2.2. La mise en décharge**

Or les boues ne correspondent pas à des déchets ultimes puisqu'elles sont valorisables (source nutritive, énergie...).

### **IV.2.3. L'épandage**

Il s'agit de la voie privilégiée pour le recyclage des boues d'épuration en raison de leur intérêt agronomique. Cette pratique ne concerne pas que les boues d'épuration, mais plusieurs centaines de millions de tonnes ou de mètres cubes de matières diverses.

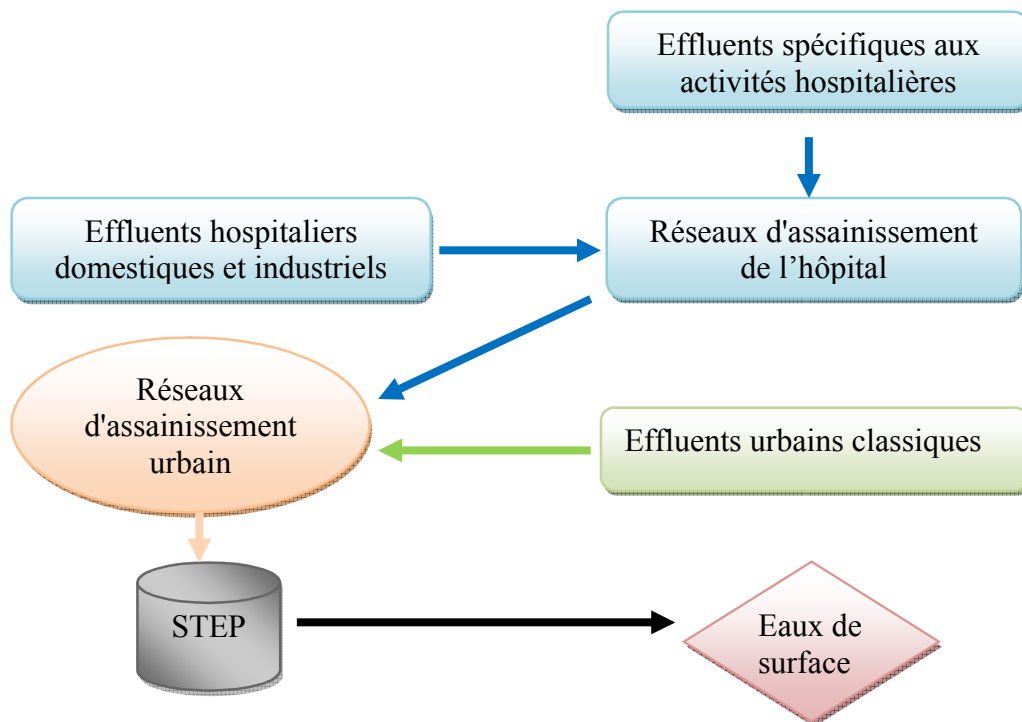
Ces matières entretiennent la fertilité des sols quand elles sont correctement appliquées, diminuant alors les besoins d'engrais commerciaux. En agriculture, les boues sont utilisées comme un engrais. Compte tenu des multiples procédés épuratoires utilisés dans les différentes stations, les boues sont susceptibles de présenter une diversité de composition selon le type de traitement utilisé, le type d'effluent entrant ou encore la taille de la station.

## *Chapitre 2*

# *Les effluents hospitaliers*

Les effluents générés par l'activité hospitalière présentent un danger potentiel pour l'homme et son environnement compte tenu de la nature et de l'importance des substances spécifiques qu'ils contiennent (résidus médicamenteux, réactifs chimiques, antiseptiques et bactéries multi-résistantes...) et en raison de leur évacuation au même titre que les rejets urbains classiques vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable.

Le dosage des polluants d'origine hospitalière montre que certaines substances tel que les composés organohalogénés et les résidus de médicaments, quittent le plus souvent les stations d'épuration avec peu de dégradation (Emmanuel, 2004a, 2004b).



**Figure 06** : La problématique des effluents hospitaliers

### I. Généralités sur les effluents hospitaliers

Les établissements de santé sont généralement classés selon leur capacité litière et le type de soins fournis à la population (AHA, 1986). Cependant quelque soit sa capacité ou la nature des soins fournis, un hôpital consomme une énorme quantité d'eau essentielle au bon fonctionnement du centre médical mais capital pour l'hygiène du malade. Pour chaque malade, l'hôpital consomme chaque jour environ un mètre cube d'eau, soit autant que quatre individus dans la vie courante. Cette importante consommation en eau donne naissance à de grands volumes de rejets liquides chargés de substances chimiques toxiques, des radio-isotopes et de micro-organismes pathogènes, dont certains sont multi résistants aux antibiotiques. (Leprat, 1998)

Bien que la consommation élevée en eau des centres hospitaliers puisse assurer une dilution importante des charges organiques et inorganiques des effluents des différents services, leur rejet dans le réseau d'assainissement communal ou dans le milieu naturel n'est pas exempté de risques pour les espèces vivantes qui seront exposés aux substances dangereuses contenues dans ces effluents.

Les sources d'eaux usées dans les hôpitaux sont diverses et donnent finalement naissance à des rejets liquides hybrides, à la fois domestiques, industriels et très spécifiques des activités de soins et de recherches médicales (**Deloffre Bonnamour, 1995**) et marqués par une importante dilution (**Leprat, 1998; EPA, 1989**).

## II. Typologie des effluents liquides hospitaliers

D'un point de vu qualitatif, les effluents liquides hospitaliers peuvent être classés en trois grandes catégories (**Emmanuel, 2004a, 2004b**).

### II.1. Les rejets d'origine domestique

Ces rejets regroupent les eaux provenant des cuisines et les eaux de toilettes. Les eaux grasses des cuisines ne posent pas de risque sanitaire direct, mais peuvent provoquer un colmatage des réseaux et engendrer un développement bactérien.

### II.2. Les rejets assimilables à des effluents industriels

Ces rejets sont générés par certaines annexes spécifiques telles que les blanchisseries, chaufferies, climatisations, ateliers, zones techniques, groupe électrogène et espaces verts.

La consommation de produits d'entretien dans un hôpital est considérable, les risques de pollution par ces rejets sont surtout liés à leur nature chimique et à leur utilisation intensive.

**Tableau III** : Rejets d'origine domestique et industrielle.

Types de rejets	Produits rejetés	
Rejets de cuisine	Matières organiques	Huiles et graisses
Rejets de garages et d'ateliers	Huiles usagées	Hydrocarbures
	solvants	Lubrifiants
	Particules métalliques	.....
Rejets de blanchisseries	Lessives	Bactériostatiques
	Hypochlorite de sodium	Décontaminant
	Bisulfite de sodium	Assouplissant
	Eau oxygénée	Acide acétique

### II.3. Les rejets des activités de soins

Cette dernière catégorie est responsable de la singularité des effluents hospitaliers et nécessite à ce titre, d'être détaillée (tableau IV).

**Tableau IV** : Les rejets liquides spécifiques aux activités médicales.

Types de rejets	Produits rejetés	
Rejets de désinfectants et d'antiseptiques	Halogènes chlorés et iodés	Aldéhydes: formol, glutaraldéhyde
	Ammoniums quaternaires	Oxydants
	Alcools	Dérivés phénol
	Oxydants	Colorants
Rejets de liquides biologiques	Bactéries multi résistantes	Virus, parasites, champignons et levures
Rejets de médicaments	Hormones sexuelles	Analgésiques
	Antipyrétiques, anti-inflammatoires	Bêtabloquants
	Hypolipémiants	Broncholytiques, Secretolytiques
	Antiépileptiques	Cytostatiques (anticancéreux)
	Vasodilatateurs	Produits de contraste aux rayons X
	Tranquillisants	Antibiotiques
Rejets de métaux lourds	Tensiomètre à mercure	Produit de développement des clichés radiologiques
Rejets des laboratoires	Effluents d'automates	Colorants
	Acides	Formol
	Bases	Rejets de laboratoire d'anatomopathologie
	Solvants	Rejets de liquides biologiques
Autres rejets	Radioactivité	Toxines d'hémodialyse

Les rejets spécifiques aux activités médicales comprennent principalement :

#### II.3.1. Rejets de désinfectants et d'antiseptiques

L'hôpital est un grand consommateur de produits désinfectants et antiseptiques, compte tenu des problèmes d'hygiène qu'on y rencontre. Les principaux produits sont utilisés pour la désinfection des sols et des surfaces ou encore pour la désinfection des instruments et des matériaux. (C. CLIN Paris-Nord, 2000).

Dans ces rejets on retrouve également les détergents qui peuvent avoir des propriétés antimicrobiennes et bactéricides avec une mauvaise biodégradabilité. Les risques de pollution par ces rejets sont surtout liés à leur nature chimique et à leur utilisation intensive. (Boillot, 2004)

### II.3.2. Rejets de liquides biologiques :

Il s'agit de liquides tels que les urines, le sang, le liquide gastrique et céphalo-rachidien et qui peuvent contenir des germes pathogènes. Ces agents infectieux peuvent être :

a) Des agents infectieux strictement pathogènes qui sont responsables d'infections contagieuses. Leur réservoir est constitué par les patients atteints de maladies infectieuses soit bactériennes, virales ou parasitaires telles que : la tuberculose, la varicelle, les infections à méningocoque, les salmonelloses ou le sida (VIH)..... (Jehannin, 1999)

b) Des agents commensaux qui existent "naturellement" chez tous les individus et sont responsables d'infections opportunistes, communautaires ou nosocomiales, non contagieuses mais transmissibles, notamment par les mains et le matériel. Cette flore est soumise à une certaine variabilité notamment par l'acquisition de résistance vis à vis des antibiotiques, ce sont principalement :

- *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA ou SARM),
- Bactéries bacille Gram négatif productrices de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE),
- Entérocoques résistants à la vancomycine (VRE),
- *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime : ou Pyo résistant
- *Acinetobacter baumannii* résistant à la Ticarcilline (Emmanuel, 2004a, 2004b).

c) Des agents saprophytes qui vivent sur un hôte sans y provoquer de maladie tel que les bactéries et les champignons responsables d'infections opportunistes presque uniquement nosocomiales. Ces agents sont non contagieux mais transmissibles: (*Aspergillus*, *Streptococcus faecalis*.)

### II.3.3. Rejets de médicaments

Certains médicaments ne subissent pas de biotransformations dans l'organisme et sont éliminés tels quels. Ils sont alors retrouvés, essentiellement dans l'urine selon les processus physiologiques classiques. C'est grâce aux progrès des méthodes d'analyse que la présence de médicaments et de leurs métabolites a pu être mise en évidence à des concentrations aussi basses que le ng/l, y compris pour les antibiotiques

Les eaux usées des établissements de soins vont donc causer ponctuellement une contamination significative du réseau d'assainissement collectif par les résidus médicamenteux et pour certains d'entre eux des substances à haute toxicité.

### II.3.4. Rejets de métaux lourds :

On parle essentiellement de deux métaux :

- L'argent souvent utilisé en radiologie, les films radiologiques sont composés d'une ou deux couches de gélatino-bromure d'argent. Les étapes du développement des films génèrent des rejets liquides toxiques riches en résidus argentiques.
- Le mercure (Hg) qui est le métal lourd le seul à être liquide à température ambiante et possède une courbe de dilatation régulière. On le retrouve suite à la casse des thermomètres ou alors dans certaines sondes gastriques et certains antiseptiques. Cependant ce type de rejet est de moins en moins retrouvé. (C. CLIN Paris-Nord, 1999).

Le service de chirurgie dentaire peut également générer des effluents liquides chargés en métaux lourds présents dans l'amalgame dentaire et les produits de plombages.

### II.3.5. Rejets des laboratoires :

Différents types de laboratoires existent dans un établissement de santé, on retrouve alors les laboratoires d'analyses mais aussi les laboratoires anatomo-pathologiques et de recherches qui donnent naissance à différents types d'effluents pouvant être biologiques, chimiques, chimico-biologiques et d'autres recueillis lors des préparations sur pièces anatomiques et tissus analysés pouvant provenir de patients infectés. Les caractéristiques de ces effluents et les risques associés sont résumées dans le tableau V (Jehannin, 1999)

**Tableau V :** Caractéristiques des effluents de laboratoire et risques associés

Laboratoires	Activités	Rejets polluants	Nature du risque
Microbiologie et immunologie)	Recherche et identification des bactéries, virus et parasites	présence de germes pathogènes	à dominante infectieux
Hématologie	mesure des caractéristiques physiques et chimiques du sang	peu de substances réactives (les principaux paramètres étudiés étant les caractéristiques physiques)	essentiellement infectieux
Anatomie pathologique	observation microscopique de tissus ou d'organes	présence de colorants et solvants, éventuellement de germes	toxique et infectieux
Cytogénétique	réalisation de caryotypes	équivalents à ceux d'un laboratoire de développement photographique	essentiellement toxique
Biochimie	Dosage de substances contenues dans le sang, le LCR ou l'urine (parfois les selles)	présence de nombreux réactifs dont des solvants	à dominante toxique

### II.3.6. Rejets de la médecine nucléaire

Puisque ce service regroupe l'ensemble des applications médicales mettant en œuvre des substances radioactives à des fins de diagnostic (xénon 133, chrome 51, thallium 201) ou thérapeutiques (l'iode 131, le phosphore 32 et le strontium 89), ces activités conduisent nécessairement à la production d'effluents radioactifs liquides, parfois gazeux et solides. (Chareyron, 2008).

### II.3.7. Rejets des toxines d'hémodialyse

Les rejets de ce service sont de deux types d'une part le rejet consécutif au traitement du malade et d'autre part les rejets de désinfection des appareils.

Des rejets liquides seront donc générés et qui dans la majorité des cas sont chargés en produits chimiques, de médicaments et d'agents infectieux. (C. CLIN Paris-Nord, 1999).

### II.3.8. Les effluents des services de radiologie

Les révélateurs et les fixateurs utilisés pour le développement des films radiologiques, présentent par leurs principes actifs et leur pH des risques de toxicité pour l'homme et de pollution pour l'environnement. (Dremont et Hadjali, 1997)

Les agents de contraste représentent aussi une des catégories de molécules les plus utilisées dans les hôpitaux et sont administrés aux patients afin d'opacifier certaines régions de l'organisme de manière à améliorer le contraste des radiographies. (Haiss et Kümmerer, 2006). Ces composés organiques halogénés s'éliminent inchangés par l'intermédiaire des urines et se mesurent en forte concentration à la sortie des stations d'épuration.

Très stables dans l'eau, ces produits iodés ont la capacité de s'accumuler dans le milieu aquatique et sont susceptibles de provoquer des effets indésirables sur la faune et la flore aquatique, ainsi que sur l'homme.

## III. Paramètres généraux des effluents hospitaliers

Peu d'études se sont intéressées à la caractérisation des effluents hospitaliers, ils sont le plus souvent considérés par les gestionnaires comme similaires aux effluents domestiques. La biodégradabilité est légèrement plus faible et la toxicité sensiblement plus élevée mais sans commune mesure avec les effluents industriels.

Les volumes utilisés étant très importants, il y a un effet de dilution non négligeable qui assure la sécurité et le bon fonctionnement de la flore en station d'épuration.

D'autres auteurs ne sont pas de cet avis. (Mansotte, 2000) note que les effluents hospitaliers présentent des caractéristiques physico-chimiques globales tout à fait semblables

à la moyenne de celles d'eaux résiduaires urbaines à l'exception des détergents qui sont présents à une concentration significativement plus élevée. (Leprat, 1998) indique un niveau de pollution globale plus faible que les effluents domestiques, associé à la présence systématique de germes ayant acquis des caractères de résistance aux antibiotiques et à la présence ponctuelle de souches typiquement hospitalières

Pour (Hartemann *et al.*, 2005), les campagnes d'analyses des paramètres physico-chimiques globaux révèlent en général un niveau de pollution plus faible que celui des effluents urbains classiques. Mais ces résultats restent trompeurs car ils ne tiennent compte ni du volume rejeté ni de la composante toxique des effluents.

### III.1. Paramètres physico-chimiques

Les études bibliographiques montrent une très forte fluctuation des paramètres physico-chimiques en fonction des hôpitaux (Boillot, 2004; Hartemann *et al.*, 2005), et une variabilité au sein d'un même établissement qui peut être en fonction de l'heure et du lieu du prélèvement (Leprat *et al.*, 1996).

Par ailleurs, la présence ponctuelle de métaux lourds (argent, cuivre, zinc, plomb, mercure, chrome et nickel) et d'arsenic dans les effluents hospitaliers a aussi été démontrée, selon Kummerer (2001), leur concentration serait du même ordre de grandeur dans les effluents domestiques sauf pour le platine, le mercure et le gadolinium qui seraient en concentrations plus importantes.

### III.2. Paramètres radiologiques

Des sources radioactives sont utilisées en médecine à des fins thérapeutiques et de diagnostics. Certains de ces éléments sont utilisés en sources non-scellées et sont donc susceptibles de dispersion. Entre 60 et 70% de la dose administrée de l'iode 131 par voie orale est rejetée dans les urines. (Dremont et Hadjali, 1997).

L'IRSN (Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire) est régulièrement amené à intervenir sur des problèmes liés à la présence de radioactivité artificielle d'origine médicale dans les stations d'épuration. Dans ce cadre, Adam *et al.*, (2006) ont identifié et quantifié les radio-isotopes représentatifs de la classe des radio-pharmaceutiques au sein des réseaux d'assainissement et dans les stations d'épuration. L'iode 131 et le technétium 99m ont été détectés en entrée de stations d'épuration, à des quantités pouvant dépasser 10 Bq/l dans le cas de l'iode 131 et allant jusqu'à 75 Bq/l dans le cas du technétium 99m.

### III.3. Paramètres microbiologiques

#### III.3.1. Bactériologie des effluents hospitaliers

Le premier objectif des études qualitatives et quantitatives de la flore microbiologique des effluents hospitaliers est de dénombrer les marqueurs de pollution fécale des eaux : les coliformes totaux et thermotolérants, les streptocoques fécaux et les anaérobies sulfitoréducteurs.

Le deuxième objectif est d'arriver à identifier la présence ou non de bactéries multi résistantes aux antibiotiques, sachant que les déjections et les excréments des patients porteurs de microorganismes multi résistants et du VIH sont rejetés sans aucun prétraitement dans le réseau d'assainissement hospitalier (Bernet et Fines, 2000).

En vérité l'utilisation répétée et souvent abusive d'antibiotiques favorise l'émergence et la sélection de bactéries résistantes qui ont développé, tant sur le plan biochimique que génétique, de nombreux mécanismes de résistance intrinsèque à ces molécules. (Remi, 2007)

Cette résistance acquise par des mécanismes moléculaires différents révèlent la grande plasticité des génomes bactériens et l'adaptation rapide à de nouvelles conditions stringentes. (Bonot, 2010). (Figure 06).

Certaines bactéries vont donc devenir multi résistantes aux antibiotiques (BMR), par l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques et ne seront sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisés en médecine thérapeutique entraînant ainsi une impasse thérapeutique.

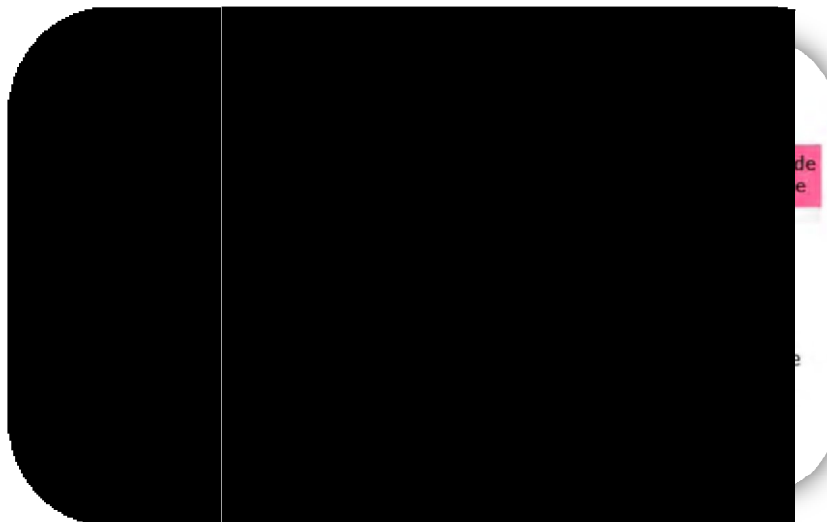


Figure 07 : Mécanismes de la résistance (Anonyme, 2000)

D'un point de vue quantitatif, les travaux de caractérisation, effectués sur la microbiologie des effluents hospitaliers, révèlent des faibles concentrations de la flore bactérienne, soit une flore totale constante de  $3.10^5$  pour 100 ml pour ces rejets (Bernet et

Fines, 2000), si on les compare à celle de  $10^8$  pour 100 ml (Metcalf et Eddy, 1991) généralement présente dans les rejets liquides communaux (Leprat, 1998 ; Mansotte et Justin, 2000 ; Bernet et Fines, 2000). Cette observation est probablement due à la présence en concentrations élevées de substances chlorées et autres substances toxiques (Leprat, 1998 ; Mansotte et Justin, 2000).

Certaines bactéries ont été identifiées comme étant plus concentrées dans les eaux hospitalières telles que *Pseudomonas aeruginosa* (plus de 10 fois supérieur dans les effluents hospitaliers) et des staphylocoques pathogènes (Drasy et al., 2002).

Des concentrations de  $2,05.10^7$ ,  $1,92.10^7$  et  $9,10.10^5$  colonies pour 100 ml ont été respectivement décomptées dans les effluents hospitaliers pour les coliformes totaux, l'*Escherichia coli* et les streptocoques fécaux (Laber et al., 1999).

#### III.4. Virologie des effluents hospitaliers

Des marqueurs de pollution virale des eaux de surface tels les entérovirus et les adénovirus ont été identifiés dans les effluents hospitaliers (Mansotte et Justin, 2000). Leur présence, dans ces effluents est à corrélérer avec celle d'autres virus, tel que le VIH.

### IV. Les risques présentés par les effluents hospitaliers

Les effluents générés par l'activité hospitalière peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement compte tenu de la nature et de l'importance des substances spécifiques qu'ils contiennent, et en raison de leur évacuation, au même titre que les rejets urbains classiques, vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable.

#### IV.1. Le risque infectieux

La flore microbienne hospitalière est composée de germes de natures différentes que l'on peut trouver dans le réseau d'eaux usées hospitaliers.

Certaines bactéries ont été identifiées comme étant plus concentrées dans les eaux usées hospitaliers (Schlosser, 1999) comme *Pseudomonas aeruginosa* (plus de 10 fois supérieur dans les effluents hospitaliers) et des staphylocoques pathogènes (Drasy et al., 2002).

Les marqueurs de pollution fécale ne sont pas les seuls à détecter, il est également nécessaire de regarder de plus près le risque dû aux bactéries multi résistantes (BMR), aux entérovirus et au VIH. Le VIH, agent causal du SIDA, isolé des liquides biologiques et excrétiens des personnes infectées est directement déversés dans le réseau d'assainissement

des hôpitaux et des laboratoires de recherche et peut constituer un risque sanitaire pour les égoutiers et les opérateurs des stations d'épuration. (Johnson *et al.*, 1994)

L'utilisation de marqueurs à BMR a permis de mettre en évidence la présence de bactéries résistantes à la tétracycline, l'érythromycine ou encore à la vancomycine (Emmanuel, 2004a, 2004b).

Ces microorganismes, une fois rejetés dans le réseau d'assainissement, ont la possibilité de survivre au traitement d'une station d'épuration. Les stations d'épuration ont l'obligation de faire des analyses en amont et en aval de la structure afin de contrôler la qualité des eaux et d'évaluer l'efficacité du processus. En effet tout n'est pas détruit et le temps de survie des microorganismes est intéressant pour évaluer le risque pour l'environnement. (Monfort, 2003).

Très peu de données sont disponibles sur le devenir à long terme des gènes de résistance dans l'environnement, sur les conditions de la réversibilité de la résistance acquise, et sur les conséquences de la résistance aux antibiotiques pour l'écologie du milieu incluant les organismes supérieurs. Néanmoins, des études récentes ont montré que les bactéries résistantes continuent à évoluer pour améliorer leurs performances et compenser leur désavantage initial.

#### IV.2. Le risque radioactif

La médecine nucléaire est génératrice de déchets radioactifs. Les stations d'épuration ne disposent pas de procédés spécifiques pour le traitement des ces déchets. Cependant, les procédés habituellement utilisés dans ces installations peuvent conduire à fixer préférentiellement l'iode 131 dans les boues d'épuration. Malgré cela, une proportion d'iode 131 est susceptible de se retrouver dans la rivière, en aval de la station d'épuration.

Des études effectuées sur la pollution radioactive des écosystèmes aquatiques montrent la manifestation du phénomène de bioamplification de certains radioéléments sur la biocénose aquatique. En effet, il a été prouvé aux Etats-Unis que les saumons de la rivière Columbia, exposés aux rejets de  $^{32}\text{P}$  présentaient une contamination moyenne de 1.5 Bq/g susceptible de déterminer, chez les individus "isolés" qui auraient consommé 40 kg de saumon par an, une irradiation au niveau des os - l'organe " critique " - de 0,3 mSv par an, soit 20% de la dose admissible (Ramade, 1998).

### IV.3. Le risque toxique

Plusieurs travaux effectués ont pu confirmer la toxicité élevée des effluents hospitaliers en émettant différentes hypothèses sur l'origine de cette toxicité ([Deloffre Bonnamour, 1995](#); [Jolibois \*et al.\*, 2002](#); [Emmanuel, 2004a, 2004b](#)).

#### IV.3.1. Détergents et des désinfectants

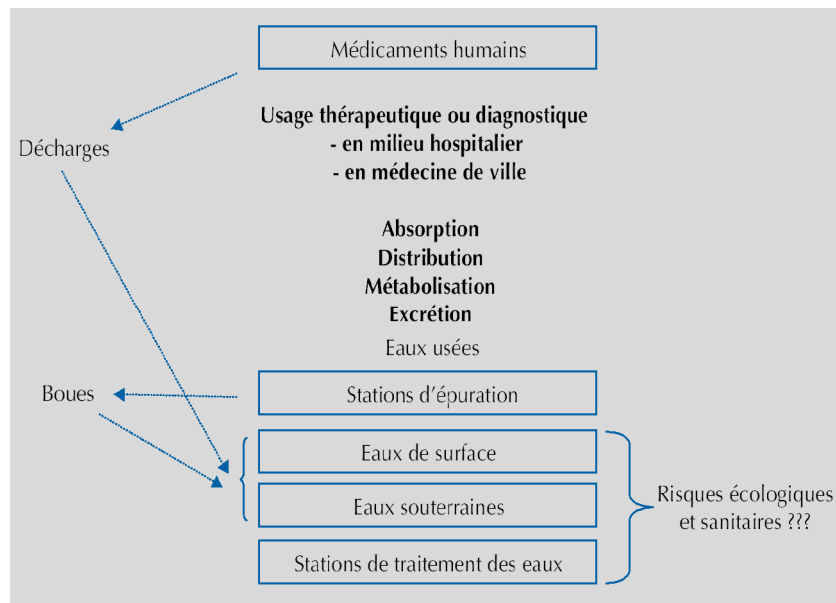
La plus forte de ces hypothèses porte sur la présence des produits **détergents et des désinfectants**, majoritaire au niveau quantitatif. Ces produits par leurs propriétés physico-chimiques sont très souvent utilisés en tant que matière active des produits biocides ([Massi \*et al.\*, 2003](#)). L'utilisation des biocides génère des effluents dangereux pour les écosystèmes car ces molécules sont capables de détruire les membranes biologiques. En fonction de leur concentration et de la longueur de leur chaîne d'alkyl, ces substances peuvent aussi inhiber ou activer des enzymes.

D'autre part, leur utilisations très diversifiée fait d'eux des agents toxiques très puissants et à effet écologique néfaste et impact biologique non négligeable, soit en générant des radicaux libres provoquant un stress oxydatif pour les organismes aquatiques ([Durand \*et al.\*, 2002](#); [Elia \*et al.\*, 2006](#)), ou alors en réagissent avec la matière organique du milieu pour produire une variété de composés organohalogénés, à forte concentration chlorés ([Emmanuel, 2004a, 2004b](#)) ayant la capacité de se bioaccumuler et de passer les barrières cellulaires.

#### IV.3.2. Les micropolluants médicamenteux

La deuxième hypothèse, sur la provenance de l'écotoxicité des effluents des établissements de santé met en corrélation la toxicité due à la présence **des micropolluants médicamenteux** dans l'eau ([Clevers, 2003](#); [Ferrari \*et al.\*, 2003](#)). Le devenir des médicaments au cours de leur usage thérapeutique et après rejet dans l'environnement est très variable.

La figure 08 illustre d'une manière simplifiée le devenir possible d'un médicament après usage thérapeutique ou diagnostique.



**Figure 08** : Principales voies de contamination du milieu aquatique par les médicaments à usage humain (Fenet *et al.*, 2006).

Parmi les différents médicaments qui ont fait l'objet d'études écotoxicologique, nous avons retenu trois grands groupes :

#### a. Les hormones sexuelles

Les médicaments hormonaux stéroïdiens présentent des activités biologiques à très faibles doses. Ils sont parmi les principaux perturbateurs endocriniens transférés vers les milieux naturels via les eaux usées ; ils sont susceptibles de provoquer, à des concentrations de l'ordre du ng/L des altérations de la croissance, du comportement et de la reproduction (Parrott, 2004 ; Aravindakshan *et al.*, 2004)

#### b. Les antibiotiques

Leur introduction dans l'environnement est due à leur forte utilisation en médecine humaine et vétérinaire. De nombreux antibiotiques comme la doxycycline, l'oxytétracycline, la lévofloxacine ou l'erythromycine (Louvet *et al.*, 2009) sont excrétés de l'organisme sous forme inchangée et peuvent donc rester actifs et présenter des risques pour l'environnement et les chaînes environnementales.

Dans l'environnement, les antibiotiques sont présents en des quantités bien inférieures à celles utilisées en médecine si bien que leurs effets éventuels ont suscité peu d'intérêt jusqu'à tout récemment. La communauté scientifique s'est penchée sur leurs effets en concentrations sub-inhibitrices. Il est apparu que de nombreuses molécules antibiotiques présentaient un effet hormétique, à savoir un effet inhibiteur à concentration thérapeutique et

un effet stimulateur pour des concentrations plus basses et inférieures à la CMI. (Bonot, 2010).

L'évaluation des risques de ce type de médicaments doit porter sur leurs effets toxiques ou allergisants lorsqu'ils se trouvent à l'état de traces au sein de mélanges complexes de polluants dans les eaux d'égouts et les eaux superficielles (Levi, 2006). De plus les antibiotiques peuvent induire des effets liés à leurs cibles spécifiques, c'est à dire influencer les biomasses bactériennes de l'environnement que ce soit dans les sols (Kemper, 2008), les eaux superficielles, les stations d'assainissement de traitement des eaux ou les réseaux de distribution d'eau potable.

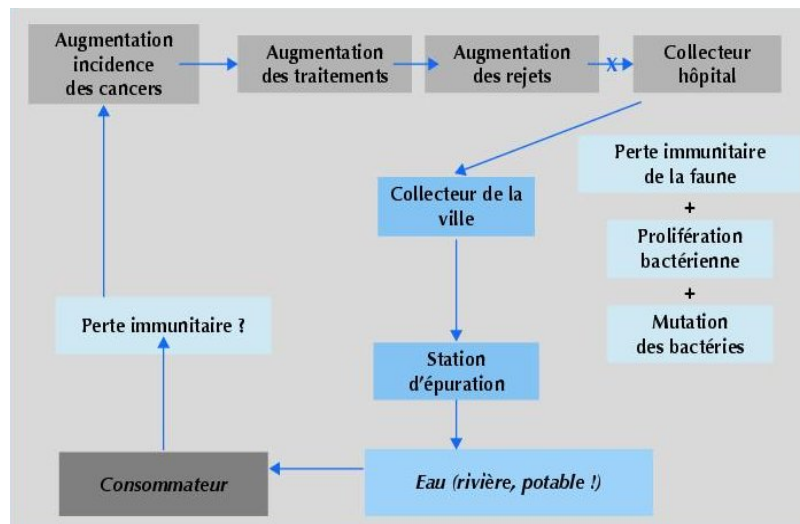
D'autres part, les antibiotiques contribuent au développement de la multi résistance des bactéries (Levy, 1998; Levy et Marshall, 2004; Salmond et Welch, 2008; Martinez, 2009). Les concentrations en antibiotiques atteintes dans les effluents hospitaliers sont compatibles avec le maintien d'une pression de sélection qui tend à favoriser les mutations et échanges plasmidiques responsables d'acquisition de résistances aux antibiotiques, et les rejets de ces effluents contribuent à disséminer dans l'environnement des bactéries fécales avec un niveau de multi-résistance nettement plus élevé qu'avec les effluents domestiques. (Oppliger, 2009 ; Passerat *et al.*, 2010).

Il a aussi été montré les effets génotoxiques non négligeable des antibiotiques pouvant dépasser parfois la génotoxicité des antinéoplasiques (Hartmann *et al.*, 1998 ; Jolibois *et al.*, 2009)

### c. Les anticancéreux

Les médicaments anticancéreux sont des molécules essentielles dans l'arsenal thérapeutique et sont caractérisés par des propriétés cytotoxiques et génotoxiques pour les cellules (Kümmerer *et al.*, 2000) et peuvent malheureusement même à faible dose (inférieures au  $\mu\text{g/l}$ ) échapper à l'ensemble des filières de traitement généralement utilisées (Catastini *et al.*, 2008).

Les rejets hospitaliers de ces médicaments peuvent être considérés comme générateurs de risques pour les animaux mais aussi pour l'homme. On les retrouve de façon sporadique dans les effluents des STEP hospitalières et urbaines (Figure 09) car leur demi-vie d'élimination corporelle est assez longue (Castegnaro *et al.*, 2006). Ces médicaments sont, de plus, très persistants dans l'environnement car très peu biodégradables (Kümmerer *et al.*, 2000).



**Figure 09** : Le cycle infernal des déchets de médicaments anticancéreux au sortir de l'hôpital (Castegnaro *et al.*, 2006)

### IV.3.3. Les agents de contraste iodés

La troisième hypothèse découle de l'utilisation d'agents de contraste iodés qui persistent dans l'environnement (Fent *et al.*, 2006; Besse et Garric, 2008).

Les établissements hospitaliers, ainsi que les centres d'imagerie médicale administrent des produits de contraste iodés en quantité importante. Les patients les rejettent, chargeant alors l'environnement de molécules non dégradables. Il devient fondamental d'agir sur ces composés afin d'en diminuer l'empreinte écologique et d'en anticiper les éventuelles conséquences à long terme, vu leur persistance dans le milieu.

### IV.3.4. Les rejets de mercure

La quatrième hypothèse concerne les rejets de mercure qui est un immunosuppresseur, un néphrotoxique et un hématotoxique. Ces rejets contribuent à la contamination diffuse de l'atmosphère et du milieu aquatique.

Dans les sédiments des rivières où il est stocké, le mercure métal est transformé en mercure organique par des bactéries. Sous sa forme organique (méthylmercure) il est absorbé par le plancton puis s'accumule dans les poissons. Ce phénomène de bioaccumulation dans la chaîne alimentaire est considérable. Cette contamination de la chaîne alimentaire est surtout connue depuis la catastrophe de Minamata au Japon entre 1960 et 1990 où des centaines de personnes sont décédées et plusieurs milliers ont été atteints de malformations congénitales et de désordres neurologiques graves à cause de la consommation régulière de poissons contaminés par le méthylmercure. (C. CLIN Paris-Nord, 1999).

#### IV.4. Risque sur la station d'épuration

La problématique des effluents liquides hospitaliers et de tous les effluents liquides en général vient du fait de l'inefficacité des structures qui les traitent. En effet, les stations d'épuration sont indispensables pour éliminer une part importante des pollutions humaines cependant elle n'arrive pas toujours à dégrader l'ensemble molécules qu'elles reçoivent, notamment les médicaments.

Au-delà de l'inefficacité d'une station d'épuration par rapport aux traitements de certaines molécules, ces substances et notamment celles contenues dans les effluents hospitaliers ont un impact direct sur son fonctionnement ([Drasy et al., 2002](#)) :

- La charge organique diluée et les antiseptiques ralentissent la croissance bactérienne dans le bassin biologique
- l'utilisation des détergents va permettre l'apparition de goût de savon, la formation de mousses freinant le processus d'épuration naturelle ou artificielle, la concentration des impuretés qui sont susceptibles de disséminer bactéries et virus et de ralentir le transfert et de la dissolution de l'oxygène dans l'eau par création d'un film interfacial. ([Nouvelot, 2007](#)),



**Figure 10** : la formation de mousses dans les bassins des stations d'épuration

- Les métaux lourds réduisent le rendement d'épuration, entraînant une qualité inacceptable de rejet et interdisant la valorisation agricole des boues
- Les bactéries multirésistantes disséminées dans l'environnement peuvent entraîner des risques sanitaires.

On peut donc se poser à juste titre le problème de la mise en place ou non de prétraitements spécifiques sur les effluents hospitaliers ainsi que celle d'une meilleure gestion des déchets à l'amont, c'est-à-dire au niveau même des hôpitaux.

**IV.5. Risque pour la santé publique**

L'homme a différentes occasions d'entrer en contact avec des réservoirs hydriques de bactéries résistantes d'origine fécale ou aquatique à risque préjudiciable :

- \* Soit par consommation de denrées alimentaires d'origine hydrique (coquillages, crustacés, poissons),
- \* Soit par la consommation de végétaux irrigués par de l'eau non traitée contaminée par des bactéries résistantes pathogènes ou saprophytes
- \* Soit par consommation d'eau de distribution publique contenant des bactéries hydriques résistantes ou de puits dont l'eau est non traitée.

Il est essentiel de tenir compte des capacités immunitaires de l'homme qui conduit à avoir des personnes plus sensibles que d'autres au sein de la population exposée.

# *Matériel et méthodes*

Cette étude ayant porté sur les effluents liquides de l'établissement hospitalier 120 lits de la wilaya de khenchela vise à déterminer les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques de ces rejets, ainsi que ceux de la station d'épuration de khenchela et cela afin de connaître, en plus de leurs typologies quantitatives, le degré de pollution et les risques que ces effluents peuvent générer.

Dans cette optique, nous avons établi un état des lieux des différents polluants physiques, chimiques, biologiques et leur danger; nous avons évalué ensuite le degré de pollution de cet hôpital en se basant sur des analyses physicochimiques et bactériologiques des effluents au niveau du collecteur principal avant leur rejet dans le réseau d'assainissement communal et au niveau de la station d'épuration urbaine avant et après traitement par boues activées.

## **I. Caractéristiques générales des sites d'études**

Notre travail a été effectué au niveau de deux sites d'études différents

**Le premier site** sélectionné pour cette étude est un établissement hospitalier qui dispose actuellement d'une capacité litière de 120 lits. C'est un hôpital de classe 4 (AHA, 1986), à prédominance chirurgicale dont l'activité recouvre des disciplines et des services médicaux et médicotechniques variés ainsi que la prise en charge de pathologies très diverses. Il rejette un volume important de déchets solides dont la gestion est confiée au personnel d'entretien et d'hygiène, et liquides dont la traçabilité n'a jamais été suivie.

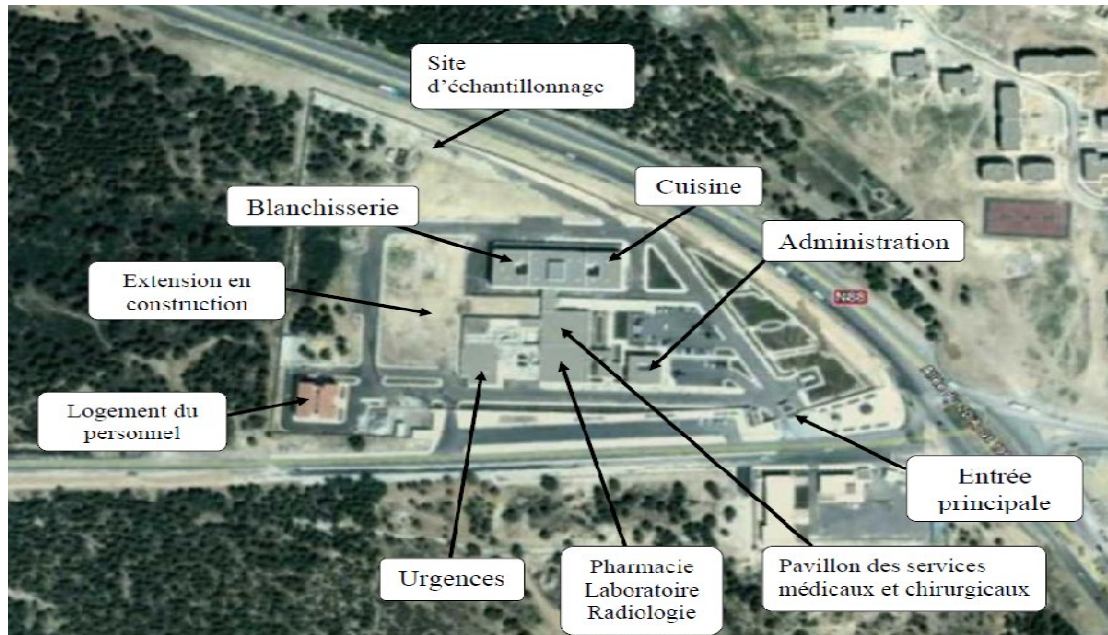
Le réseau hydrique de l'hôpital se compose d'un collecteur qui reçoit les effluents des services. Il est associé à un réseau de collecteurs de pluie et à celui d'assainissement des logements des personnels. Ces effluents liquides sont directement rejetés dans le réseau d'assainissement urbain de la ville de Khenchela. Pour être finalement acheminés vers la station d'épuration.

Le point de prélèvement se situe au niveau du collecteur principal du site qui réceptionne tout les effluents liquides de l'hôpital.

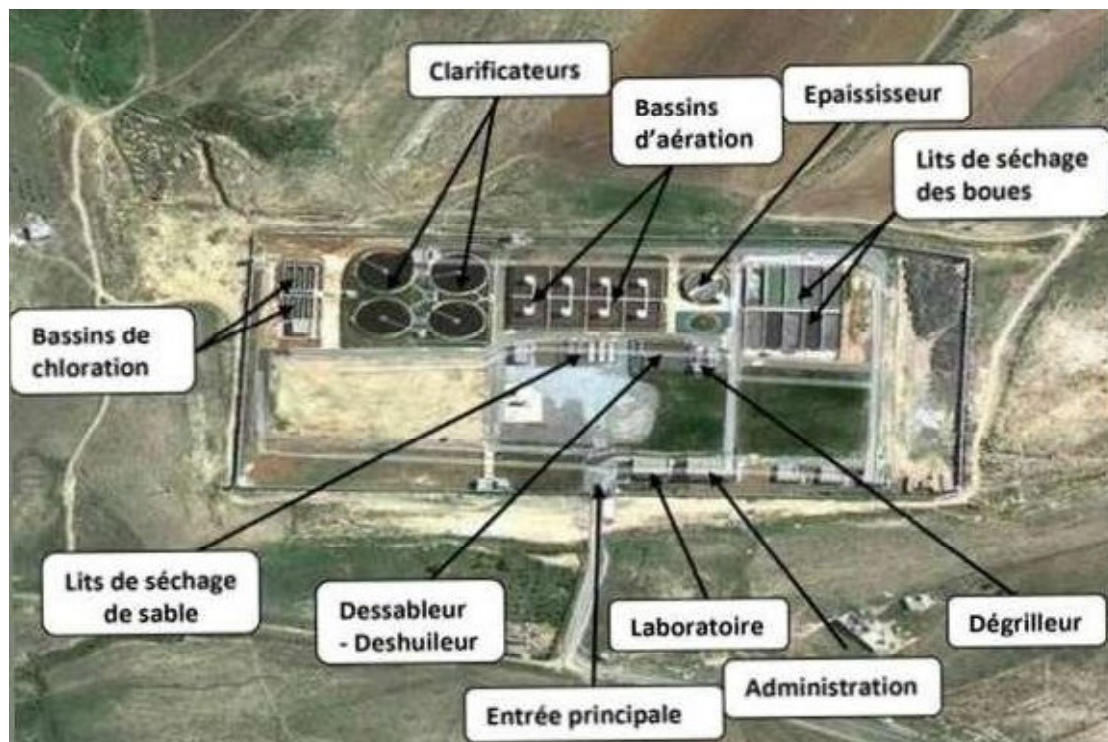
**Le deuxième site** d'étude est la station d'épuration de la ville de khenchela, elle est de type boues activées à faible charge situé à 2.5 Km au nord de khenchela. La capacité de cette station est de  $23000\text{m}^3/\text{j}$  pour 192000 équivalent / habitant

Les eaux usées urbaines de la ville de khenchela sont évacuées vers cette station d'épuration, pour être finalement rejeté dans l'oued de BAGHAI après traitement. (O.N.A, 2011)

La campagne de mesure sur l'effluent de la ville a été réalisée pour évaluer l'impact spécifique d'un rejet hospitalier en le comparant à la qualité de l'effluent urbain auquel il est raccordé.



Photographie 01 : Vue générale de l'hôpital 120 lits (Image satellite Google earth)



Photographie 02 : Vue générale de la station d'épuration de la ville de kenchela (Image satellite Google earth)

En ce qui concerne le déroulement du travail, on a effectué une enquête durant les mois de mars et Avril 2011 lors de plusieurs passages par semaine dans les services de : réanimation, de radiologie, des urgences, de laboratoire, du bloc opératoire, de la pharmacie et de la blanchisserie.

On a demandé aux personnel hospitalier de remplir un tableau sur la typologie des produits utilisés par leur service, la nature physique, chimique ou biologique de ces produits, le mode d'élimination des déchets et des rejets, et les risques et la toxicité que représentent les effluents des services.

## **II. Echantillonnage**

La campagne de prélèvement a été réalisée durant les mois de janvier (1 fois), février (2 fois), mars (2 fois), et juin (1 fois) 2011 à 09 heures du matin. Au total nous avons obtenu 06 échantillons par site.

Les échantillons d'eaux et des boues d'épuration ont été prélevés au niveau des sites d'études dans des conditions d'asepsie rigoureuse à l'aide de flacons en verre de 1000 ml stérilisés par la chaleur au four Pasteur à 180 °C pendant 1 h 30. (Rodier, 2009).

Les récipients ont été rincés au moment de l'emploi avec l'eau à examiner, et remplis complètement, ensuite, ils ont été soigneusement étiquetés et conservés.

Les échantillons sont transportés à frais, jusqu'au laboratoire dans un laps de temps ne dépassant pas 3 heures. D'une façon générale, le transport à une température de 4 °C et à l'obscurité dans des emballages isothermes permet d'assurer une conservation satisfaisante.

Au niveau de l'établissement hospitalier les échantillons ont été prélevés à partir du collecteur principal (site 01) à 9 heures du matin, ce dernier réceptionne tout les effluents liquides de l'hôpital. (Photographie 03).



**Photographie 03** : Collecteur principal de l'établissement hospitalier

Au niveau de la station d'épuration, les prélèvements d'eaux ont été réalisés à partir d'un échantillonneur automatique placé l'un à l'entrée de la station (site 02), l'autre à la sortie (site 03) à 9 heures du matin. Le prélèvement a été cumulé sur une durée de 24 heures.

Les boues d'épuration ont été prélevées à partir de l'épaississeur où elles ont subi une stabilisation et une concentration avant expédition vers les lits de séchage pour déshydratation naturelle.

### **III. Détermination des caractéristiques Physicochimiques**

La préparation de l'échantillon et le prélèvement de la portion servant à l'analyse sont les deux premières étapes importantes d'une analyse physico-chimique puisque l'exactitude du résultat en dépend. (Rodier, 2009). Les techniques qui seront utilisées lors de ces étapes devront permettre de respecter le principe suivant : L'aliquote prélevé pour l'analyse doit être le plus représentatif possible du lot

La mesure des paramètres physicochimiques a été réalisée au niveau du laboratoire de la station d'épuration de la ville de kenchela.

#### **III.1. Mesure des paramètres in situ**

La mesure des paramètres physiques suivants : **La température, le pH, la Conductivité et les Solides Totaux Dissous** a été réalisé au lieu du prélèvement (in situ) grâce à un multi paramètre de terrain portatif CONSORT C 931 préalablement étalonné.

#### **III.2. Mesure des matières en suspension (méthode spectrométrique) :**

La pollution particulaire est due à la présence des particules de grande taille, supérieure à 10  $\mu\text{m}$ , en suspension dans l'eau, et que l'on peut assimiler aux matières en suspension (MES).

La méthode de mesure des MES utilisée est la méthode optique, qui mesure l'absorption ou la réfraction d'un rayonnement lumineux par les particules en suspension selon une loi voisine de celle de BEER LAMBERT. Cette détermination est réalisée par un opacimètre (qui est une variante de la spectrométrie d'absorption) à une longueur d'onde de 810 nm. (CREPA, 2007)

#### **III.3. Mesure de la DCO (Demande chimique en Oxygène) ST-DCO**

Dans des conditions opératoires bien définies, certaines matières contenues dans l'eau sont oxydées par le dichromate de potassium en milieu acide et en présence de catalyseurs. Un agent masquant permet d'éviter l'interférence éventuelle des chlorures.

L'excès de dichromate introduit est dosé par un réducteur, le sulfate ferreux, on peut ainsi remonter à la quantité de dichromate consommé par les matières oxydables. Un indicateur approprié permet de détecter la fin du dosage.

La méthode utilisée durant cette étude a le même principe que la méthode précédente : oxydation de l'échantillon par le dichromate de potassium en présence d'acide sulfurique, de sulfate d'argent (catalyseur) et de sulfate de mercure (II) (complexant des ions chlorure).

Pour la différencier de la méthode classique en système ouvert, cette méthode est connue sous le nom d'**indice DCO ou méthode ST- DCO** (méthode à petite échelle en tube fermé). L'originalité de cette méthode repose :

\* Sur l'utilisation de tubes fermés prêts à l'emploi. Ils contiennent tous les réactifs nécessaires et il suffit d'introduire un volume précis d'échantillon,

\* Sur le dosage spectrométrique de l'oxydant consommé. On utilise la propriété d'absorber à 600 nm que possède le  $Cr_3^+$  (formé lors de l'oxydation de la matière organique de l'échantillon, par réduction du dichromate de potassium). (**Rodier, 2009**).

#### **III.4. Mesure de la DBO (Demande biochimique en Oxygène) NF EN 1899 -1**

La mesure de la  $DBO_5$  est faite selon la méthode manométrique basée sur le principe du respiromètre de WARBURG au cours duquel la respiration de la biomasse est directement mesurée par un appareil.

Un volume d'échantillon est versée dans une bouteille d'incubation de 300 ml, fermée avec un bouchon muni d'un manomètre de marques Oxytop à affichage numérique qui se fixe directement sur le flacon de DBO. Le volume choisi est fonction de la gamme de mesures souhaitée.

L'appareil de mesure, de type IS 602, est placé dans un incubateur maintenu à 20°C. On suit ensuite, en fonction du temps, soit tous les jours pendant 5 jours pour la  $DBO_5$ , la consommation d'oxygène, qui se traduit par une diminution de la pression d'air. On procède enfin à la correction de la mesure par un facteur correctif qui dépend de la quantité d'échantillon prélevée et de la gamme de mesure souhaitée.

La valeur réelle est calculée comme suit :  $DBO_5$  (mg  $O_2$ /l) = Valeur lue \* facteur de conversion en fonction du volume de prise. (**Rejsek, 2002**).

Portée de mesure	Quantité	Facteur
0 – 40	432 ml	1
0 – 80	365 ml	2
0 – 200	250 ml	5
0 – 400	164 ml	10
0 – 800	97 ml	20
0 – 2000	43.5 ml	50
0 – 4000	22.7 ml	100

### III.5. Dosage du phosphore par mode spectrophotométrique NF EN 1189/ janvier 1997

Les ions orthophosphates en solution acide  $H_2SO_4$  et en présence d'ions molybdate et antimoine forment un complexe d'antimonyl-phosphomolybdate qui après réduction par l'acide ascorbique donne un complexe de molybdène fortement coloré en bleu. Le développement de la coloration est accéléré par l'utilisation d'un catalyseur, le tartrate double de potassium et d'antimoine.

La mesure d'absorbance de ce complexe se fait à 880 nm et permet de déterminer la concentration en orthophosphates de l'échantillon. (Rejsek, 2002).

### III.6. Dosage des nitrates NF T 90-045 et ISO 7890-3

En présence de salicylate de sodium et après traitement en milieu alcalin, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium coloré en jaune, pouvant être mesurée par spectrophotomètre à 415 nm. (Rejsek, 2002). On peut ensuite convertir la valeur obtenue en concentration en mg / l par la formule suivante :

$$C_{NO_3} = C_{N-NO_3} * 62/14$$

16 : masse molaire de l'ion nitrate en g / mol

14 : masse molaire de l'azote en g / mol.

## IV. Les paramètres microbiologiques

L'étude de la qualité microbiologique des effluents de l'EPH 120 lits, des eaux usées brutes et des eaux usées traitées a été réalisée au niveau des laboratoires de biologie du centre universitaire Khenchela et aussi au niveau du laboratoire de prévention Kais. Elle a consisté :

- à effectuer le dénombrement d'un large panel d'indicateurs bactériens, au moyen des méthodes normalisées ISO actuellement en vigueur,
- à effectuer un isolement des germes pathogènes préoccupants en milieu hospitalier,
- à isoler les différentes colonies présentes, au moyen de milieux de culture spécifiques, ceci à partir de repiquage sur les cultures de l'étape précédente,

- à identifier les souches correspondantes, au moyen de tests complémentaires et biochimiques spécifiques (galeries API),
- à évaluer la résistance de ces souches vis à vis de différents antibiotiques.  
L'étude de la qualité microbiologique des boues d'épuration a consisté à :
- à évaluer l'abondance et l'antibiorésistance des bactéries fécales.

#### **IV.1. Recherche et dénombrements des indicateurs de contamination fécale**

La méthode la plus classique consiste en une numérotation en boîte de pétri. L'avantage de la méthode est qu'elle est aussi une méthode d'isolement et qu'elle permet de prélever les colonies et éventuellement de définir la fréquence de chaque type.

Les méthodes d'analyse de laboratoire en microbiologie ont été choisies en référence à de nombreuses publications ([AFNOR, 1990](#)). Ces techniques sont utilisées pour l'analyse des eaux usées brutes et des eaux à forte charge bactérienne.

##### **IV.1.1. Réalisation des dilutions en série**

Les dilutions sont nécessaires car on doit prélever de très faibles volumes à cause de la charge bactérienne souvent très élevée, et permettent d'obtenir seulement les microorganismes dominants dans les dilutions les plus élevées. On dilue successivement l'échantillon d'eau à analyser à l'aide de l'eau physiologique.

##### **IV.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux :**

La recherche des coliformes totaux a été effectuée suivant une méthode [AFNOR](#) qu'on retrouve dans d'autres publications ([Baba Moussa, 1995](#) ; [Cisse, 1999](#)). Le principe consiste en un ensemencement, par étalement de surface, sur gélose Tergitol-7 dans une boîte de pétri. L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures. Le nombre de germes est estimé à partir du nombre de colonies identifiées comme telles dans la boîte, selon la coloration spécifique sur le milieu de culture.

##### **IV.1.2.1. Biodiversité morphologique des isolats**

###### **a. Aspect des colonies sur milieu solide**

La première étape de l'identification d'une souche bactérienne est la description macroscopique de l'aspect de ses colonies. À l'œil nu, on peut distinguer plusieurs caractéristiques, la forme, le relief, la taille, la couleur, l'odeur, l'allure du contour.

Après incubation, les boîtes de pétri ont été immédiatement examinées. A l'aide d'un compteur de colonies, On compte les colonies (UFC : unité formant une colonie) et sont

considérées comme caractéristiques, les colonies qui présentent une coloration jaune à orange, avec présence d'un halo jaune. Seules les boîtes contenant entre 30 et 300 UFC seront prises en considération. On compte comme coliforme total toutes les colonies appartenant au type caractéristique et qui sont oxydase négative.

#### **IV.1.2.2. Biodiversité métabolique des isolats**

Dix colonies caractéristiques isolées lors du dénombrement des coliformes totaux ont été reprises de manière aléatoire et ont fait l'objet d'un test d'oxydase.

##### **IV.1.2.2.1. Recherche de l'oxydase :**

Le test de l'oxydase met en évidence la présence de la cytochrome-oxydase, enzyme de la chaîne respiratoire. On place un disque spécifique à la recherche d'oxydase imprégné de N,N-diméthyl-1,4- phénylènediamine dichlorure sur une lame porte objet imbibé avec une goutte d'eau physiologique stérile. On dépose à la surface du disque une colonie, la présence de l'enzyme se traduit, en 20 à 60 secondes, par l'apparition d'une coloration violette, une absence de coloration indique l'absence de l'enzyme. ([Prescott et al., 2003](#)).

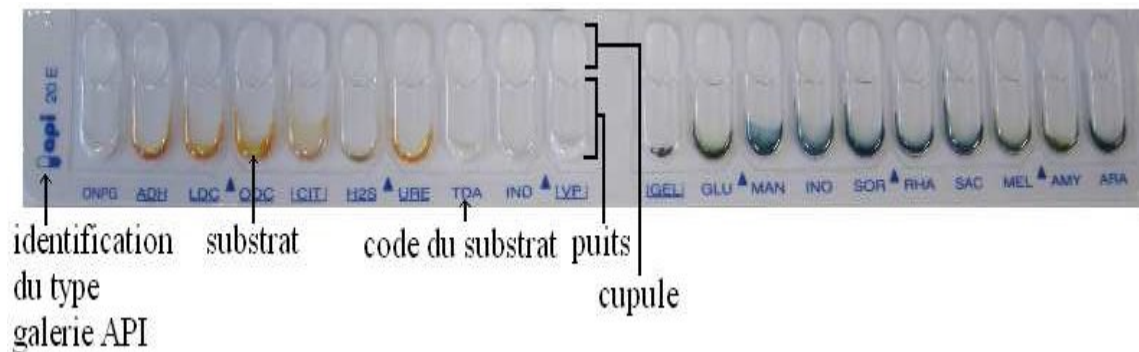
Après purification des 10 isolats oxydase négative par plusieurs repiquages successifs sur gélose nutritive, les souches bactériennes purifiées ont fait l'objet d'une étude des caractères biochimiques.

##### **IV.1.2.2.2. Identification biochimique par galerie API 20 E**

Une galerie API (Appareil et Procédés d'Identification) est un ensemble de petits puits et cupules prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques.

La galerie API 20 E est destinée à l'identification des entérobactéries et autres bacilles gram négatif, elle se présente sous la forme d'une bandelette comportant 20 microtubes contenant des substrats déshydratés (urée, L-arginine, gélatine, inositol, etc.). Au-dessous de chaque tube, un sigle indique la nature du test. Les tubes sont ensemencés avec une suspension bactérienne effectuée en eau physiologique (milieu "Suspension Medium"). ([Bio-Mérieux, 2009](#)).

Un fond et un couvercle complètent la galerie et permettent de constituer une boîte d'incubation.



Un délai de 18 à 24h est nécessaire pour pouvoir observer les réactions entre bactéries et substrats. La lecture des résultats se fait soit de manière directe, lorsque la réaction enzyme bactérienne-substrat est révélée par un changement de couleur du milieu du puits (en raison d'un changement de pH), soit de manière indirecte, auquel cas il faut rajouter certains révélateurs dans les puits concernés. (Annexe 01).

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

#### **IV.1.3. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants**

La recherche des coliformes thermotolérants est réalisée selon la même technique que celle utilisée pour les coliformes totaux sauf que l'incubation se fait à 44°C pendant 18 à 24 heures. (Baba Moussa, 1995 ; Cisse, 1999).

##### **IV.1.3.1. Biodiversité morphologique des isolats**

###### **IV.1.3.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide**

Après incubation, les boîtes de pétri sont immédiatement examinées et un comptage par un compteur de colonies est effectué.

Sont considérés comme coliformes thermotolérants, les colonies qui présentent après incubation les mêmes caractéristiques que celles décrites précédemment pour les coliformes totaux. Seules les boîtes contenant entre 30 et 300 UFC seront prises en considération. La recherche de l'oxydase est inutile.

###### **IV.1.3.1.2. Purification et identification des souches**

Dix colonies caractéristiques isolées lors du dénombrement des coliformes thermotolérants ont été reprises de manière aléatoire et ont été purifiées par repiquages successifs sur gélose nutritive. Ces souches bactériennes ont fait l'objet d'une étude des

caractères morphologiques macroscopiques, microscopiques et biochimiques selon le même mode opératoire que pour les coliformes totaux.

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

#### **IV.1.4. Recherche et dénombrement des entérocoques fécaux**

La recherche des entérocoques fécaux a été effectuée suivant une méthode **OMS** qu'on retrouve dans d'autres publications (**CREPA, 2007**). Le principe consiste en un ensemencement par étalement en surface, sur gélose Slanetz et Bartley dans une boîte de pétri. L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures. Le nombre de germes est estimé à partir du nombre de colonies identifiées comme telles dans la boîte, selon la coloration spécifique sur le milieu de culture.

##### **IV.1.4.1. Biodiversité morphologique des isolats**

###### **IV.1.4.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide**

Après incubation, les boîtes de pétri sont examinées immédiatement. Et on compte les colonies caractéristiques (UFC : unité formant une colonie) à l'aide d'un compteur de colonies. Sont considérées comme caractéristiques, les colonies qui présentent après incubation une coloration violette, rouge, marron ou rose lisses, légèrement bombées. Seules les boites contenant entre 30 et 300 UFC ont été prises en considération.

###### **IV.1.4.1.2. Tests de confirmation**

Etant donné le caractère sélectif de la gélose Slanetz ; ne pousseront théoriquement sur ce milieu que les Entérocoques fécaux.

Un test de confirmation a quand même été pratiqué, il consiste à prélever aseptiquement quelques colonies de manière aléatoire puis les repiquer sur gélose Bile esculine azide (BEA) en boîte de pétri, le milieu est incubé à 37°C, pendant 24 heures ; les colonies des Entérocoques fécaux apparaîtront alors sous forme de petites colonies noires légèrement bombées et lisses, esculine positive.

#### **IV.1.5. Recherche d'*Enterococcus***

La persistance des entérocoques dans divers types d'eaux peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs à cause de leur caractère de cocci gram positif (**Clausen et al., 1977; Edberg et al., 1997; OMS, 2000**), notamment à cause de leur résistance notoire

aux agents désinfectants ([Haslay et Leclerc, 1993](#)). Ils sont aussi moins sensibles aux antibiotiques que les autres streptocoques.

Dix colonies esculine positive ont été reprises de manière aléatoire et repiquées séparément sur une gélose Trypticase soja additionnée de 5 % de sang de mouton, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C, dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone CO<sub>2</sub>.

Outre son rôle nutritif, la présence de sang permet de visualiser des zones d'hémolyse qui sont particulièrement nettes sur ce milieu.

#### **IV.1.5.1. Biodiversité morphologique des isolats**

##### **IV.1.5.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide**

Après incubation, des colonies de 0,5 à 1 mm de diamètre, opaques et souvent blanchâtres, généralement alpha-hémolytiques et parfois pigmentées en jaune apparaissent à la surface du milieu. On a ensuite effectué l'épreuve de la catalase qui doit être négative puis une coloration de Gram qui doit révéler des cocci Gram positif en diplocoques ou en courtes chaînettes lors de l'observation au microscope.

##### **IV.1.5.1.2. Coloration de Gram**

Les souches isolées sont fixées et colorées selon la méthode de Gram (Annexe 02), puis elles sont observées au microscope optique (grossissement x100). Cette coloration permet de différencier les bactéries en deux groupes, en fonction de la couleur obtenue: les Gram positifs et les Gram négatifs ([Prescott et al., 2010](#)).

#### **IV.1.5.2. Biodiversité métabolique des isolats**

##### **IV.1.5.2.1. Recherche de la catalase**

On met en contact la colonie avec de l'eau oxygénée 10 volumes sur une lame ou dans un tube à hémolyse. La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène.

Dix colonies caractéristiques catalase négative sont prélevées pour déterminer leur profil de résistance aux antibiotiques par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton additionné de 5 % de sang de mouton. La culture est favorisée par une incubation dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone CO<sub>2</sub>.

#### **IV.1.6. Dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfitoréducteurs NFT 90-415**

Les anaérobies sulfitoréducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram +, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence des sels de fer (III) donne  $\text{FeS}$  (sulfure de fer) précipité de couleur noire. Après destruction des formes végétatives des bactéries par un chauffage à 80°C seules les spores vont persister dans l'échantillon. (Lebres, 2008).

##### **IV.1.6.1. Biodiversité morphologique des isolats**

###### **IV.1.6.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide**

La première lecture doit impérativement être faite à 16 heures car les colonies des sulfitoréducteurs sont envahissantes et on risque de se trouver en face d'un tube complètement noir rendant l'interprétation difficile, la deuxième lecture se fait à 24h et la dernière à 48 heures.

On prend en considération toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse et entourée d'un halo noir comme provenant d'une spore de bactérie anaérobie sulfitoréductrice. On compte sur les 4 tubes de culture, la totalité des colonies caractéristiques, et on rapporte le total des colonies à 20 ml d'eau analysée. (Lebres, 2008).

#### **IV.2. Recherche des bactéries pathogènes**

La mise en évidence de ces bactéries nécessite l'utilisation de milieux d'enrichissements (ou pré-enrichissement) liquides qui permettent la multiplication de ses germes avant leur isolement et identification. Le pré-enrichissement est destiné à revivifier les cellules pour faciliter la culture dans les bouillons d'enrichissement.

L'enrichissement en vue de l'isolement et de l'identification s'effectue sur des milieux sélectifs, soit directement à partir du produit ou de ses dilutions, soit à partir du milieu du pré-enrichissement

##### **IV.2.1. Recherche des Salmonelles ISO 6340**

*Salmonella sp.* est un genre bactérien appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (ou entérobactéries). Composé de près de 2640 sérotypes, le genre *Salmonella* comporte une espèce *salmonella enterica* et 7 sous espèces. Non sporulées, la plupart des salmonelles possède des flagelles péritriches et sont donc mobiles. Ces bacilles mesurent entre 0.5 - 1 x 3 - 5  $\mu\text{m}$ , elles sont non halophyloques et ont un optimum de croissance aux alentours de 37°C.

Génétiquement, elles sont très proches d'*Escherichia Coli*. *Salmonella Typhimurium* et *Escherichia Coli* possèdent 80% de leur génome en commun (Taddei *et al.*, 1996). Elles possèdent à la fois les métabolismes de la respiration et de la fermentation.

Le principe d'isolement et d'identification de ce genre bactérien se déroule en plusieurs étapes. (Guiraud, 2003).

### **Jour 1 : Pré-enrichissement**

Les salmonelles sont fréquemment en faibles concentration dans les eaux, avec des difficultés pour y survivre, le pré-enrichissement leur permet de croître. Cette opération se déroule comme suit :

- Filtration de 5 litres d'échantillon sur une membrane stérile de 50 mm de diamètre, et avec un diamètre de pore nominal de 0,45 µm.
- On place le filtre dans 50 ml d'eau peptonée tamponnée simple concentration qu'on incube à 37°C pendant 16 à 20 h.

### **Jour 2 : Enrichissement sur milieux sélectifs liquides**

Cette opération est nécessaire pour augmenter la proportion des salmonelles par rapport aux germes d'accompagnement d'origine fécale (coliformes et streptocoques) ou non fécale (*Pseudomonas*), qui ont tendance à supplanter les pathogènes qui disparaissent rapidement.

On transfère alors 1 à 2 ml du bouillon du pré-enrichissement dans un tube contenant 10 ml du milieu Sélénite - Cystéine D/C stérile ce qui a pour effet d'inhiber la croissance des Gram + et des Proteus. On Incube le tube à 37°C pendant 18 à 24 heures.

### **Jour 3 : Deuxième enrichissement et Isolement sur milieux gélosés**

Le tube du premier enrichissement fera l'objet d'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu Sélénite- Cystéine D/C en tubes à raison de 1 à 2 ml et d'autre part, d'un isolement sur gélose *Salmonella-Shigella* (SS) en boîte de pétri. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

### **Jour 4 : Lecture des boîtes**

- D'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un deuxième isolement sur gélose SS.
- D'autre part, la boîte de gélose SS subira une lecture en tenant compte du fait que les *Salmonella* se présentent le plus souvent sous forme de colonies incolores (lactose négatif). De plus, les bactéries capables de produire de l'H<sub>2</sub>S à partir du thiosulfate de sodium (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) donnent en présence des ions de fer des colonies à centre noir par formation de sulfure de fer. Certains sérotypes de salmonelles produisent de l'H<sub>2</sub>S et d'autres non.

#### **Jour 4 : Identification morphologique et biochimique**

Cinq colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroulera comme suit :

##### ➤ **Etat frais**

L'état frais est une étape qui permet de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement. L'observation est réalisée par le dépôt d'une petite goutte d'eau distillée stérile au centre d'une lame stérile sur laquelle on ajoute une colonie bactérienne pure. Une lamelle stérile est ensuite appliquée en évitant la formation de bulles d'air. La lame est observée au microscope optique au grossissement X40.

##### ➤ **Coloration de Gram**

La coloration est opérée selon le protocole technique décrit en annexes.

##### ➤ **Identification biochimique** : par la norme ISO 6340 :

##### - Etude de la dégradation du glucose, saccharose et lactose en milieu TSI

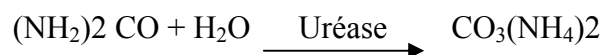
Le milieu TSI (Triple Sugar Iron agar) permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, lactose, et du saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et la production de gaz (CO<sub>2</sub>). Ce milieu est composé d'un culot et d'une pente, et contient le rouge de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

Le milieu est ensemencé à l'aide d'une anse stérile par des stries longitudinales au niveau de la pente et par une piqûre centrale dans le culot. Les tubes ensemencés sont incubés à 30°C pendant 24 heures. Les résultats se manifestent comme suit:

- Glucose positif : culot jaune.
- Saccharose et lactose positif : la pente vire au jaune.
- H<sub>2</sub>S positif : noircissement du milieu au niveau de la zone joignant le culot et la pente.
- Production de gaz : présence de bulles de gaz dans le culot (**Lebers, 2008**).

##### - Recherche de l'uréase

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



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

##### - Recherche de lysine décarboxylase LDC

Ce test permet de détecter la production de la lysine décarboxylase (LDC), enzyme qui décarboxyle la lysine en cadavérine. Le test est réalisé avec le milieu Moeller.

Apparition d'une coloration jaune : réaction négative.

Apparition d'une coloration pourpre : réaction positive.

L'identification biochimique se fait selon le tableau suivant :

Caractère biochimique	Résultats	Milieu utilisé
Lactose	—	Milieu TSI
Glucose	+	Milieu TSI
Production d'H <sub>2</sub> S	+	Milieu TSI
Urée	—	Milieu urée-indole
Lysine décarboxylase	+	Milieu LDC

➤ **Ensemencement d'une galerie biochimique API 20E** qui permet d'avoir accès à un nombre de caractères biochimiques plus important.

A partir des résultats de l'identification biochimique, on conclut à l'absence ou la présence de salmonelles dans la prise d'échantillon analysé.

#### **IV.2.2. Recherche des *Pseudomonas* NF T 90 – 421**

La norme NF T 90 – 421 donne la définition suivante : Bacille à Gram négatif aérobie strict, oxydase positif, mobile, produisant souvent des pigments diffusibles et se développant à 37°C sur un milieu sélectif au Cétrimide en donnant lieu à une fluorescence sous une lampe à ultraviolets en 48 h. Ils sont de plus capables de cultiver sur une gélose ordinaire à 42 °C et de synthétiser un pigment : la pyocyanine. (Rejsek, 2002).

##### **IV.2.2.1. Biodiversité morphologique des isolats**

###### **IV.2.2.1.1. Aspect des colonies sur milieu solide**

On considère comme colonie caractéristique toute colonie verte avec une fluorescence sous rayonnement ultraviolet. Pour identification l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* on procède à une subculture des colonies caractéristiques sur gélose nutritive inclinée à 42°C pendant 24 h. On considère comme positive la présence d'une culture après incubation. (Rejsek, 2002).

###### **Mise en évidence de la production de la pyocyanine**

On ensemence un milieu de King A en tube inclinée par une strie médiane en surface avec une anse de la même culture que précédemment. On incube à 30°C pendant 1 à 4 jours jusqu'à l'apparition dans le milieu d'une coloration bleu-vert due à la diffusion de la pyocyanine. S'il n'y a pas apparition de cette couleur, on considère ce test comme négatif. (Rejsek, 2002).

### IV.2.3. Recherche des Staphylocoques

Les staphylocoques font partie de la famille des *Micrococcaceae* définis comme des coques à Gram positif, de 0,8 à 1 µm de diamètre, disposés en amas ou en grappes typiques, catalase positive, se développent à 37°C sur un milieu sélectif de Chapman sans distinction de coloration de colonies. Ils sont immobiles, asporulés, parfois capsulés. (Dabernat *et al.*, 1992)

#### IV.2.3.1. Biodiversité morphologique et métabolique des isolats

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

Sur les colonies suspectes, on a recherché la Staphylocoagulase. Au laboratoire, la détection de la coagulase a été effectuée en mettant en présence du plasma de lapin et la souche à étudier dans un tube à 37°C ; la prise en masse du mélange est réalisée en 3 à 6 ou parfois en 24 heures ; la coagulation peut être suivie d'une dissolution du caillot par suite de l'action de la staphylokinase. (Delarras *et al.*, 2007)

### V. Abondance et antibiorésistance des bactéries fécales dans des boues d'épuration

Les éléments polluants et leurs produits de transformation, retirés de l'eau usée au cours du traitement d'épuration, se trouvent rassemblés, dans la grande majorité des cas dans des suspensions plus ou moins concentrées, dénommées "boues".

Les échantillons de boues en provenance de la station d'épuration ont été resuspendues dans une solution d'eau physiologique stérile dans une proportion de 1 % (m/V). Par la suite 100 ml de ces mélanges ont été homogénéisés grâce à un agitateur vortex pour décrocher un maximum de bactéries des particules des boues.

Après une sédimentation de 10 min, le surnageant a été récupéré et traité comme un échantillon d'eau pour le dénombrement d'*Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux. *Escherichia coli* a été cultivée sur gélose Tergitol TTC 24 h à 44 °C et les entérocoques intestinaux sur gélose Slanetz et Bartley incubée pendant 24 h à 37 °C.

Suite au dénombrement des unités formant colonies, 10 *Escherichia coli* et 10 entérocoques intestinaux ont été isolés par échantillon. Leur résistance envers divers antibiotiques a été testée par la méthode standard de diffusion en milieu gélosé (Passerat et Servais, 2008).

## VI. Détermination des profils de résistance aux antibiotiques

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

### VI.1. L'antibiogramme

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne estensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration décroissante. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

Le mode opératoire est pratiqué selon la **Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS** (figure 11) de manière similaire pour les bactéries non exigeantes : *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sp.* Pour l'*Enterococcus sp* l'antibiogramme est réalisé sur gélose Muller Hinton additionné de 5% de sang de mouton.

Une fois la période d'incubation écoulée, la zone entourant le disque où aucune croissance bactérienne n'est visible détermine la zone d'inhibition. Son diamètre est mesuré et comparé aux diamètres critiques figurant dans les tables de lecture (07, 08, 09 en annexes). La souche est ainsi classée sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique, les souches I sont ensuite incluses dans la catégorie R.

Des souches de référence *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC29212 ont servi pour le contrôle de la qualité de l'antibiogramme. (Annexe 10).

Les coliformes fécaux sont des bactéries à Gram négatif alors que les entérocoques intestinaux sont à Gram positif, ils ne sont donc pas sensibles au même spectre d'antibiotiques.

La résistance des coliformes a ainsi été testée sur 13 antibiotiques, celle des souches d'entérocoques intestinaux l'a été sur 06, les disques d'aminosides utilisés sont à forte charge. Les tables 04 et 05 (voir annexes) présentent la liste des antibiotiques pour les coliformes et entérocoques intestinaux respectivement, leur classe et leur abréviation, ainsi que la charge des disques utilisés.

Le nombre d'antibiotiques actifs contre les *Pseudomonas* est limité. Il s'agit surtout des céphalosporines de troisième génération, carbapénèmes, fluoroquinolones, particulièrement la ciprofloxacine et les aminoglycosides. La liste d'antibiotiques testés pour les *Pseudomonas* est présentée dans la table 06 (voir annexes).

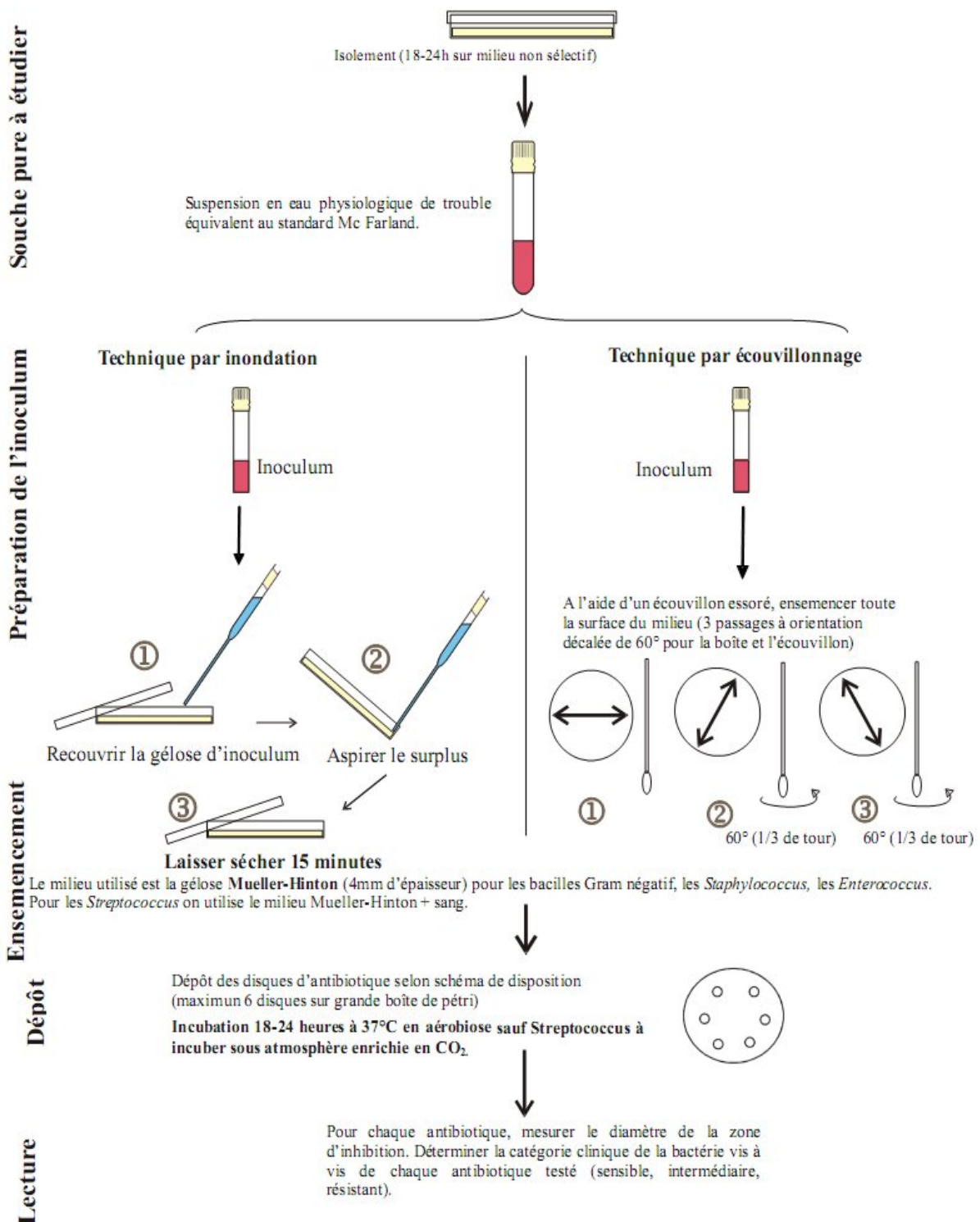


Figure 11 : Protocole de réalisation d'un antibiogramme

# *Résultats et discussions*

### I. Résultats des enquêtes et questionnaires

Les réponses aux questionnaires distribués durant notre étude nous ont permis de dresser le tableau VI.

**Tableau VI** : Constituants des rejets et polluants potentiels existants à l'établissement étudié

Services	Médecine interne	Orthopédie et Chirurgie	Réanimation	Bloc opératoire	Urgences	Chirurgie dentaire	Laboratoire	Radiologie	Pharmacie	Morgue	Blanchisserie	Cuisines	Garages et Ateliers	Devenir
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Collecteur principal
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
C	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
D	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
E							+	+	+		+		+	
F	+	+	+	+	+	+	+	+		+				
G												+	+	
H								+						
I								+						
J											+	+		

A : désinfectants et antiseptiques  
 B : Détergents  
 C : Médicaments  
 D : Métaux lourds

E : Produits chimiques  
 F : Rejets chargés en germes pathogènes  
 G : Graisses et huiles

H : Produits de contraste  
 I : Révélateurs et fixateurs  
 J : Température

○ Polluants physiques    ○ Polluants chimiques    ○ Polluants biologiques

Ce tableau (tableau VII) montre que certains rejets sont spécifiques à une activité et d'autres transversaux à l'établissement de santé, sont partagés par plusieurs activités. Ces polluants peuvent être classés en trois catégories:

- Les polluants physiques tels que la température des rejets en sortie de blanchisserie, les huiles et graisses en cuisine ou dans les zones techniques.
- Les polluants chimiques comme le glutaraldéhyde utilisé pour la désinfection du matériel médical, les rejets médicamenteux et les rejets de laboratoire tels que : les acides forts, les bases fortes ainsi que certains solvants couramment utilisés.
- Enfin les polluants biologiques pouvant être la source de risques infectieux.

D'autre part notre enquête nous a aussi permis de savoir que l'entretien du réseau d'assainissement au niveau de l'hôpital ne s'effectue pas de façon régulière et que les effluents ne sont jamais analysés.

Aucun procédé d'élimination des effluents n'est adopté puisqu'ils sont directement déversés vers l'égout, et le personnel hospitalier n'a bénéficié d'aucunes formations sur le recyclage ou sur la gestion des effluents hospitaliers

## II. Caractéristiques physicochimiques

Une dizaine de paramètres physico-chimiques classiquement utilisés pour décrire la pollution domestique et industrielle a été recherchée dans les effluents des sites étudiés.

L'analyse qui suit montre que le panel de paramètres recherchés permet d'avoir une vision assez précise de la qualité des effluents produits par un établissement de santé de caractéristiques et d'activités relativement courantes.

Les propriétés physico-chimiques des effluents des trois sites étudiés sont résumées dans le tableau VII :

**Tableau VII** : Paramètres physicochimique des échantillons d'eaux des trois sites étudiés

Paramètres	Effluents hospitaliers (site 1)	Eaux usées brutes (site 2)	Eaux usées traitées (site 3)
Ph (Normes)	07,74	08,13 (7,5-8,5) <sup>1</sup>	07,33
Température (°C) (Normes)	10,33	18,43 (11,8-24) <sup>1</sup>	14,26
Conductivité (µS/cm) (Normes)	781,66	1135 (900 - 1300) <sup>1</sup>	481
TDS (mg/l) (Normes)	103,83	870,5 (740-940) <sup>1</sup>	272,33
Matières en suspension MES (mg/l) (Normes)	68,66 (55-80) <sup>3</sup>	256,5 (100-400) <sup>1</sup>	13,67 (35- 40) <sup>2</sup>
DBO <sub>5</sub> (mg/l) (Normes)	49,1 (50- 400) <sup>3</sup>	289 (150-500) <sup>1</sup>	6,01 (35-40) <sup>2</sup>
DCO (mg/l) (Normes)	129,83 (150- 800) <sup>3</sup>	580,13 (300-1000) <sup>1</sup>	29,2 (120- 130) <sup>2</sup>
Nitrates NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l) (Normes)	0,4685	8,78 (valeur voisine de zéro) <sup>1</sup>	6,54
Orthophosphates P-PO <sub>4</sub> (mg/l) (Normes)	04.52	19.64 (10-45) <sup>1</sup>	11,06
Rapport DCO/DBO <sub>5</sub>	2,64	-	-

<sup>1</sup> Composition moyenne d'un effluents domestique [Rejsek, 2002](#)

<sup>2</sup> Valeurs limites algériennes des paramètres des rejets : [d'après le décret n° 06-141 du 19/04/2006](#)

<sup>3</sup> Valeurs limites des paramètres physico-chimiques globaux des effluents hospitaliers [US EPA, 1989](#)

La comparaison des concentrations des effluents hospitaliers obtenues avec les paramètres classiques descripteurs de la pollution domestiques, montre que ces effluents

présentent des caractéristiques physico-chimiques globales inférieures à la moyenne de celles d'eaux résiduaires urbaines ([Degremont, 1989](#) ; [Rejsek, 2002](#) ; [Metcalf et Eddy, 2003](#)).

Mais ces résultats restent trompeurs car ils ne tiennent compte ni du volume rejeté ni de la composante toxique des effluents. Un établissement de 1000 lits polluerait autant qu'une ville de 10 000 habitants ([Hartemann et al., 2005](#)). Il est donc plus juste de s'intéresser aux molécules éliminées et pas aux paramètres physico-chimiques globaux.

Le rapport DCO/DBO<sub>5</sub> donne une première estimation de la biodégradabilité de la matière organique d'un effluent donné. Les calculs effectués à partir des valeurs du Tableau VIII donnent un rapport égal à 2,64. On convient généralement que pour les rapports inclus dans l'intervalle [2-3], l'effluent est facilement biodégradable ([Rejsek, 2002](#)) ce qui est le cas ici.

### **III. Caractéristiques microbiologiques**

#### **III.1. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale**

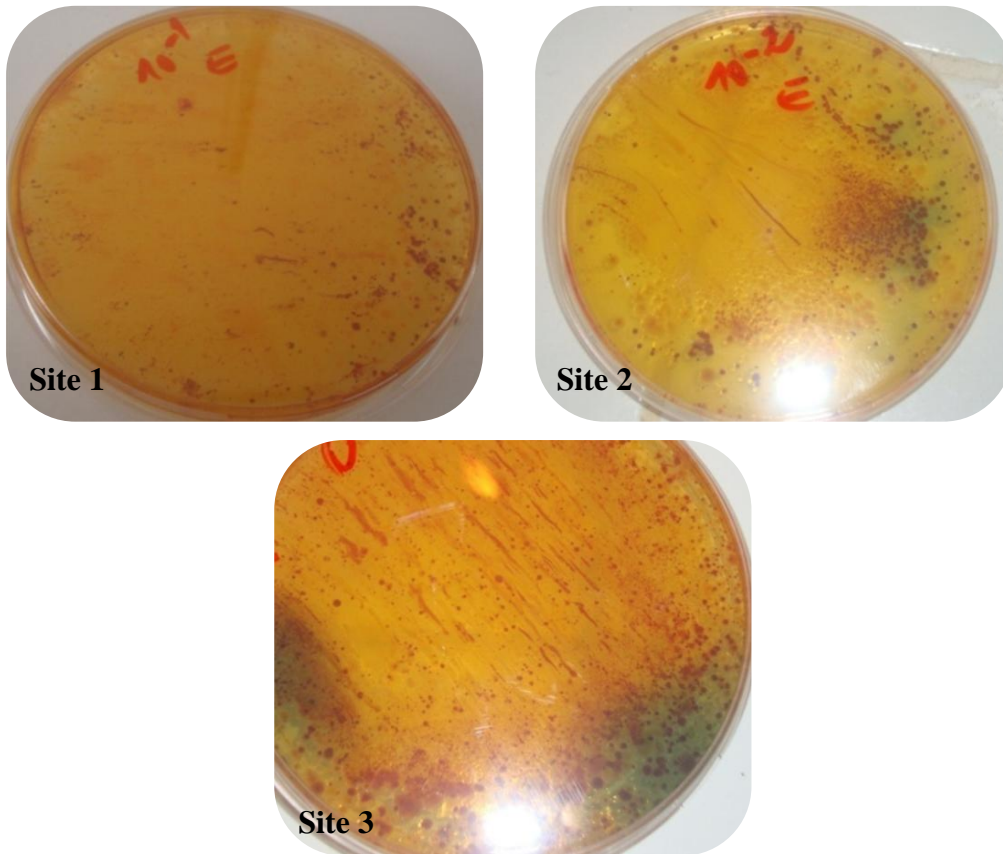
Les photos 04 et 05 montrent les résultats du dénombrement des coliformes totaux et fécaux et des entérocoques fécaux. Seules les boîtes contenant entre 30 et 300 UFC ont été prises en considération.

Pour les coliformes totaux et fécaux, on remarque l'apparition de colonies à la surface des milieux de culture, seules les colonies ayant une coloration jaune à orange, avec présence d'un halo jaune ont été dénombrées.

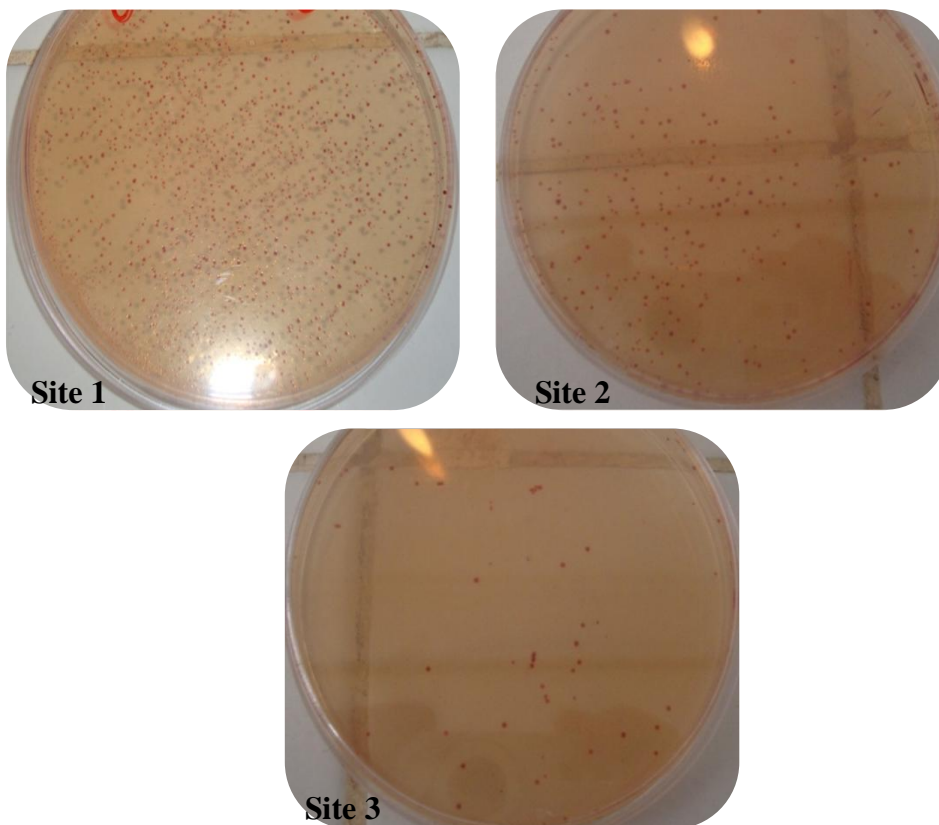
Seules les colonies ayant une coloration violette, rouge, marron ou rose, lisses, légèrement bombées ont été dénombrées pour les entérocoques fécaux.

Quelques colonies des entérocoques fécaux, prises de manière aléatoire ont fait l'objet d'un test de confirmation sur gélose Bile esculine azide ; la photo 06a montre l'aspect des colonies apparues à la surface du milieu de culture après incubation ; dix colonies esculine positive ont été repiquées sur gélose au sang frais, le résultat obtenu figure sur la photo 06b

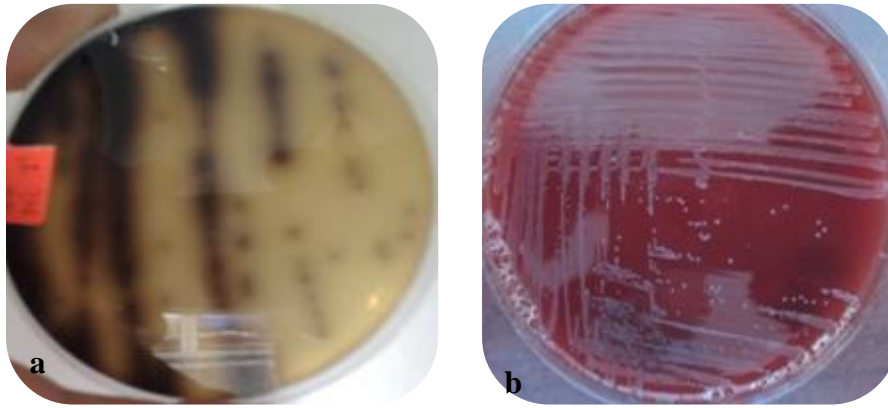
Après incubation, des colonies de 0,5mm de diamètre, opaques, blanchâtres et alpha-hémolytiques sont apparues à la surface du milieu. On a ensuite effectué l'épreuve de la catalase qui a donné un résultat négatif puis une coloration de Gram qui a révélé des cocci Gram positif en diplocoques ou en courtes chaînettes lors de l'observation au microscope.



**Photo 04** : Recherche et dénombrement des Coliformes totaux sur gélose Tergitol 7



**Photo 05** : Recherche et dénombrement des Entérocoques fécaux sur gélose Slanetz et Bartley



**Photo 06** : Recherche du genre *Enterococcus* sp **a** : Test de confirmation sur gélose B.E.A  
**b** : Isolement sur gélose au sang frais

Les résultats du dénombrement des indicateurs de contamination fécale à partir des différents échantillons provenant des trois sites étudiés sont résumés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII** : Dénombrement des indicateurs de contamination fécale aux différents sites de prélèvements

Site du prélèvement	Dénombrement des indicateurs de contamination fécale			
	Numération des coliformes totaux	Numération des coliformes thermotolérants	Numération des Entérocoques fécaux	Numération des anaérobies Sulfite réducteurs
<b>SITE 1</b>	4,37 .10 <sup>5</sup> UFC/ml	5,01 .10 <sup>3</sup> UFC/ml	4,50 .10 <sup>3</sup> UFC/ml	12 UFC /20 ml
<b>SITE 2</b>	2,57 .10 <sup>7</sup> UFC/ml	4,04 .10 <sup>5</sup> UFC/ml	4,46 .10 <sup>4</sup> UFC/ml	106 UFC /20 ml
<b>SITE 3</b>	4,21 .10 <sup>5</sup> UFC/ml	5,06 .10 <sup>3</sup> UFC/ml	5,88 .10 <sup>3</sup> UFC/ml	22 UFC /20 ml

Les concentrations en germes témoins indicateurs de contamination fécale dans les effluents hospitaliers montrent une faible quantité de microorganismes.

La présence des entérocoques peut s'expliquer par le fait que ces bactéries sont beaucoup plus résistantes que les coliformes dans l'environnement (Rejsek, 2002).

Quantitativement, on retrouve beaucoup moins de microorganismes dans les rejets des hôpitaux que dans les rejets urbains. Cette constatation est cohérente avec d'autres études similaires (Leprat, 1999; Emmanuel, 2004a, 2004b; Hartemann et al., 2005). Nos résultats sont même bien plus faibles que ceux présentés dans la littérature (Emmanuel, 2004a, 2004b)

Il est très probable que cette observation soit liée à la dilution et à la présence de désinfectants, de détergents et d'antibiotiques en quantité importante, dans les effluents hospitaliers par rapport à des effluents urbains classiques.

Le milieu aquatique de l'hôpital est donc particulièrement hostile et toxique pour les espèces bactériennes qui s'y trouvent.

### III.2. Identification biochimique des isolats

Pour chaque échantillon, dix colonies oxydase négative des coliformes totaux et dix autres des coliformes thermotolérants ont été prélevés de manière aléatoire, ces colonies ont été par la suite purifiées par repiquages successifs sur gélose nutritive. Après purification des souches, on a procédé à une identification biochimique sur galerie API 20 E.

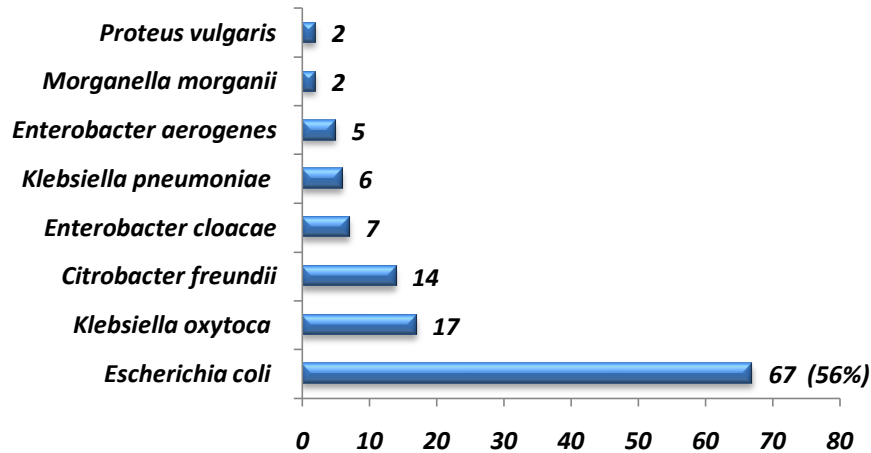
Les résultats des différents tests biochimiques réalisés sont réunis dans le tableau IX. total on a pu identifier 12 espèces bactériennes.

**Tableau IX** : Résultats d'identification des espèces bactériennes par galerie API 20 E.

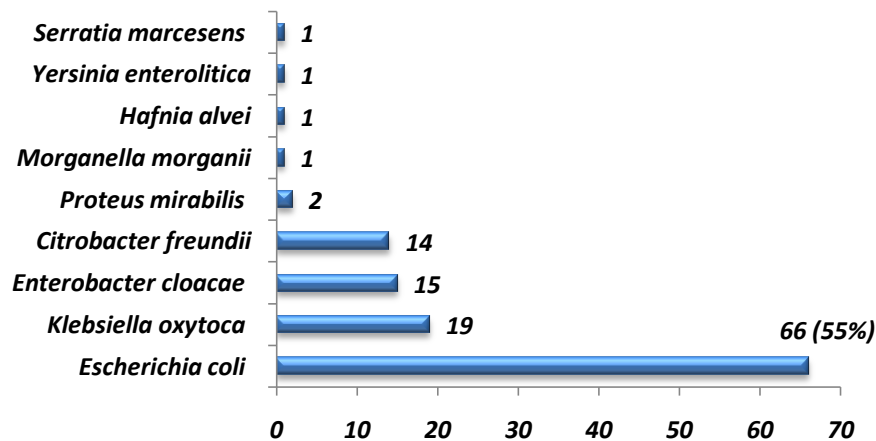
Tests	Identifications des espèces avec des galeries biochimiques API 20E											
	Sp 1	Sp 2	Sp 3	Sp 4	Sp 5	Sp 6	Sp 7	Sp 8	Sp 9	Sp 10	Sp 11	Sp 12
ONPG	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-
ADH	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LDC	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
ODC	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
CIT	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
UREE	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
IND	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+
VP	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-
GEL	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-
INO	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
SOR	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
RHA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
SAC	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
MEL	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
AMY	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+
ARA	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
OX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Identification	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>

120 colonies ont été identifiées à partir de chaque site. Le nombre de bactéries pour chaque espèce retrouvée est représenté sur les figures 12, 13 et 14

Les espèces isolées à partir du site 1 appartiennent pour 56% au genre *Escherichia*. La diversité phylogénétique observée y est moins importante. On trouve également des souches des genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella* et *Proteus*. (Figure 12)

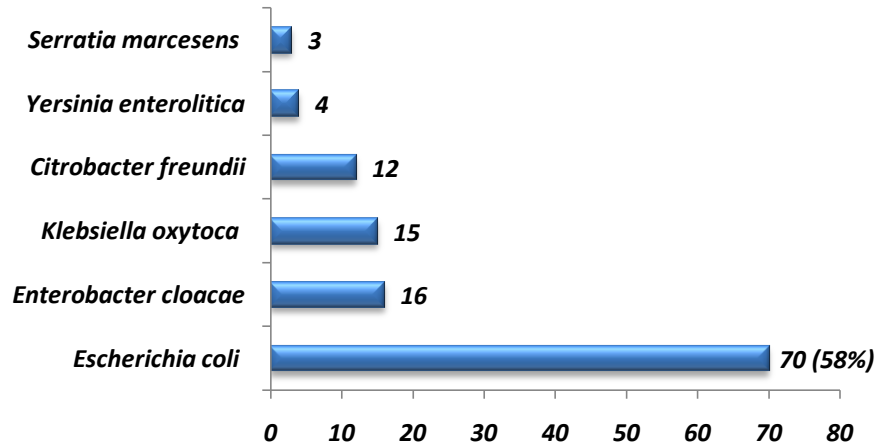


**Figure 12 :** Espèces bactériennes identifiées à partir des coliformes totaux et coliformes fécaux des effluents hospitaliers (site 1).



**Figure 13 :** Espèces bactériennes identifiées à partir des coliformes totaux et coliformes fécaux des eaux usées brutes (site 2)

Les espèces isolées à partir du site 2 appartiennent pour 55 % au genre *Escherichia*. La diversité phylogénétique observée y est importante. On trouve également des espèces des genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Serratia*, *Hafnia* et *Yersinia*. (Figure 13)



**Figure 14 :** Espèces bactériennes identifiées à partir des coliformes totaux et coliformes fécaux des eaux usées traitées (site 3)

Les espèces identifiées à partir du site 3 appartiennent pour 58% au genre *Escherichia*. La diversité phylogénétique observée y est moins importante. (Figure 14)

La diversité phylogénétique peu importante observée dans les effluents du site 1 est particulièrement due à l'hostilité des effluents hospitaliers vis-à-vis des bactéries qui s'y trouvent. Les espèces identifiées sont généralement celles isolées chez les patients ayant effectué un séjour à l'hôpital. Il est aussi important de noter que les coliformes identifiés dans les rejets hospitaliers sont plus certainement d'origine humaine que les coliformes identifiés en site 2 et 3.

Les eaux usées brutes du site 2 représentent tous les rejets liquides de la ville de Khenchela. La station réceptrice aussi les rejets liquides non traités de l'abattoir municipal de la ville de Khenchela, elles sont donc susceptibles de renfermer et de véhiculer une grande variété d'espèces bactériennes. D'où la diversité phylogénétique importante observée.

### III.3. Antibiorésistance des coliformes totaux et fécaux sur les sites 1 et 3

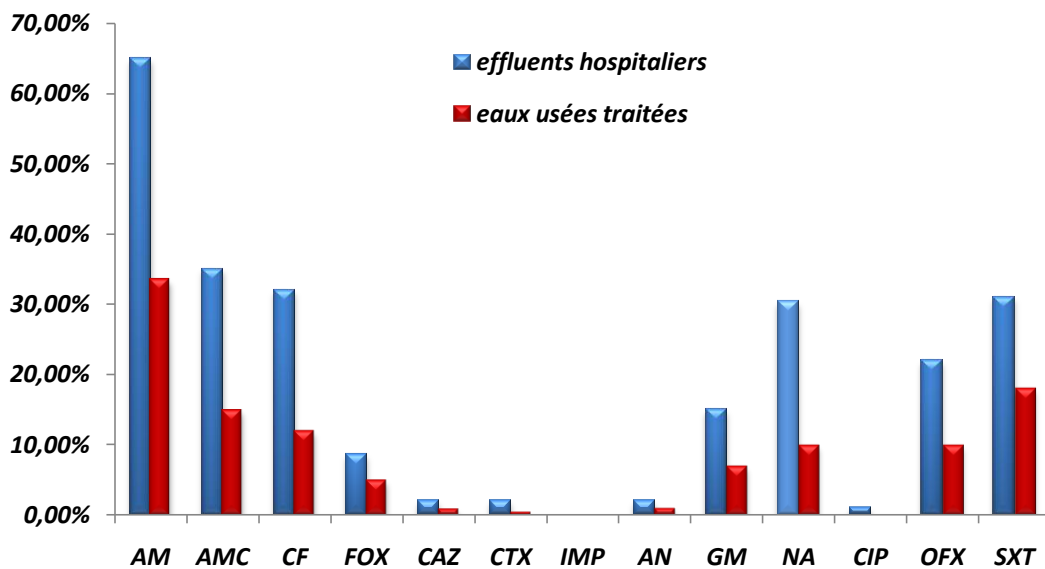
La réalisation des profils de résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées a été effectuée seulement sur les espèces des effluents du site 1 et celles du site 3, c'est-à-dire les effluents hospitaliers et les eaux traitées après passage par la station d'épuration.

La raison qui a motivé notre choix, c'est pouvoir suivre cette antibiorésistance avant et après traitement biologique et pouvoir aussi évaluer l'efficacité de ce dernier.

La résistance aux antibiotiques à été testée pour chacune des bactéries identifiées des sites 1 et 3 (hospitalier et les effluents urbains traités respectivement) vis-à-vis de 13 antibiotiques.

La figure 15 présente le pourcentage de souches résistantes (taux de résistance) à chacun des antibiotiques testés pour les deux sites désignés.

Les résistances naturelles des souches isolées n'ont pas été prises en considération. (Annexes)



**Figure 15 :** Pourcentage d'isolats de coliformes totaux et thermotolérants résistants à divers antibiotiques dans les différents milieux étudiés.

AM : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; CF : Céfazoline ; FOX : Cefoxitine ; CAZ : Ceftazidime; CTX : Céfotaxime ; IMP : Imipenème; AN : Amikacine; GM : Gentamicine; NA : Acide nalidixique; CIP : Ciprofloxacine; OFX : Ofloxacine; SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprim.

L'ampicilline (AM) est l'antibiotique qui présente le taux de résistance le plus haut avec 65% pour le milieu hospitalier et 33,5% pour les eaux traitées urbains. Cet antibiotique est très utilisé sans limite d'usage puisqu'il appartient à la famille d'antibiotiques la plus prescrite en pratique ambulatoire, ce qui peut expliquer la présence de nombreuses souches résistantes à son égard. Cette résistance est due à la production d'une pénicillinase à bas niveau.

Le taux de résistance à l'association amoxicilline/acide clavulanique (AMC) est plus bas que celui de l'ampicilline et cela pour les deux sites. Ce qui est cohérent avec l'effet de l'acide clavulanique qui est un inhibiteur de  $\beta$ -lactamases, il est utilisé en association avec les  $\beta$ -lactames telles l'amoxicilline pour contrer les résistances dus à la présence de  $\beta$ -lactamases.

Cette résistance est due à la production d'une pénicillinase à haut niveau. Notons également qu'à chaque fois que la souche est résistante à l'association amoxicilline/acide clavulanique, une résistance logique à l'ampicilline est observée.

Les taux de résistance retrouvés pour les céphalosporines dans les effluents hospitalier sont du même ordre de grandeur que ceux rapportés par les études de [Reinthal et al., \(2003\)](#) et [Sayah et al., \(2005\)](#).

Le taux élevé de résistance observé pour la céfazoline dans l'effluent hospitalier (CF à 32%), allant jusqu'à trois fois plus élevé que dans les eaux traité s'explique par le fait que cet antibiotique appartient aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération. Celles-ci sont moins résistantes aux  $\beta$ -lactamases que les céphalosporines de 2<sup>ème</sup> génération (la cefoxitine FOX à 8.56%) et de 3<sup>ème</sup> génération (la céfotaxime CTX et la ceftazidime CAZ à 2% respectivement).

Bien que la céfotaxime (CTX) soit uniquement utilisée en milieu hospitalier, des souches résistantes à cet antibiotique ont été retrouvées des les effluents du site 3 avec un taux de résistance de 0,50%.

Suite à l'utilisation récente et restreinte de l'imipenème en milieu hospitalier, le taux de résistance à cet antibiotique est nul dans nos deux milieux d'études

Les taux de résistance obtenus pour les antibiotiques appartenant à la classe des aminosides sont aussi relativement faibles avec 2% pour l'amikacine et 15% pour la gentamicine dans les eaux hospitaliers et la moitié pour les eaux urbains traitées. Ceci pourrait être dû à leur faible consommation, vu l'existence de molécules moins toxiques et plus efficaces. La présence d'un taux de résistance plus élevé envers la gentamicine (aminoside naturel) s'explique par le fait que l'amikacine est une molécule semi-synthétique spécialement conçue pour contrer le phénomène de résistance des bactéries vis-à-vis des aminosides naturels.

Cependant l'amikacine (AN) reste un antibiotique à usage strictement hospitalier, ce qui expliquerait son taux de résistance très faible (1%) dans les eaux traitées.

Pour les quinolones dans leur ensemble, les souches résistent de manière décroissante à l'acide nalidixique (30,33 %), à l'ofloxacin (22,0 %) et la ciprofloxacine (1,0 %) dans les effluents hospitaliers. Dans les eaux traitées, les taux de résistance sont beaucoup plus faibles et nul pour la ciprofloxacine puisque aucune souche résistante n'est retrouvé dans ces eaux.

L'acide nalidixique appartient à la famille des quinolones tandis que les autres molécules appartiennent à la famille des fluoroquinolones, famille plus récente et ayant un spectre d'action plus large. Il est donc normal de constater un taux de résistance plus élevé à l'acide nalidixique que pour les autres molécules.

Comme la consommation des fluoroquinolones a considérablement augmenté ces dernières années, une augmentation de leur taux de résistance est donc à attendre dans les années à venir.

Le cotrimoxazole (SXT) fait partie des antibiotiques testés présentant un taux de résistance relativement élevé (31,0 %) pour les effluents hospitalier par rapport à 18% dans les eaux traitées urbains. Il est généralement utilisé lors d'infections urinaires. Suite à la présence accrue de souches résistantes à cet antibiotique, il est progressivement remplacé par les fluoroquinolones ([Karaca et al., 2005](#)).

Pour chaque antibiotique, la fréquence d'isolats résistants dans les effluents hospitaliers est au moins deux fois plus élevée que celle dans les eaux usées traitées (Figure 15). La station d'épuration étudiée semble réduire la charge globale des bactéries fécales sans modifier leur profil d'antibiorésistance, elle est seulement équipée d'un traitement secondaire par boues activées, le traitement tertiaire est non fonctionnel, cette étape de traitement d'épuration est essentielle pour éliminer ces contaminants.

Les taux élevés de souches résistantes au niveau des rejets hospitaliers ne sont pas étonnants étant donnée l'intense utilisation des antibiotiques au sein des hôpitaux.

### **III.3.1. Multirésistance**

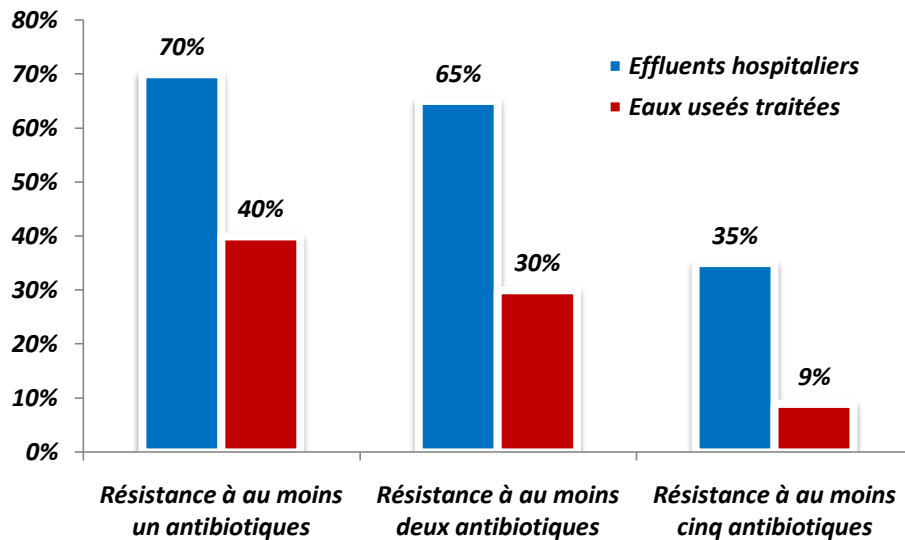
Notre travail a également permis d'étudier le phénomène de multirésistance.

Cette étude a été réalisée en fonction du milieu d'origine des souches. Les pourcentages de souches résistantes à au moins un antibiotique, à au moins deux antibiotiques et à au moins cinq antibiotiques ont été calculés et rapporté dans la figure 16.

Les taux de résistance sont clairement différents d'un type de milieu échantillonné à un autre. 70 % des coliformes totaux et coliformes thermotolérants isolées d'effluents hospitaliers résistent à au moins un antibiotique. Cette fréquence n'est plus que de 40 % dans les eaux usées urbaines traitées.

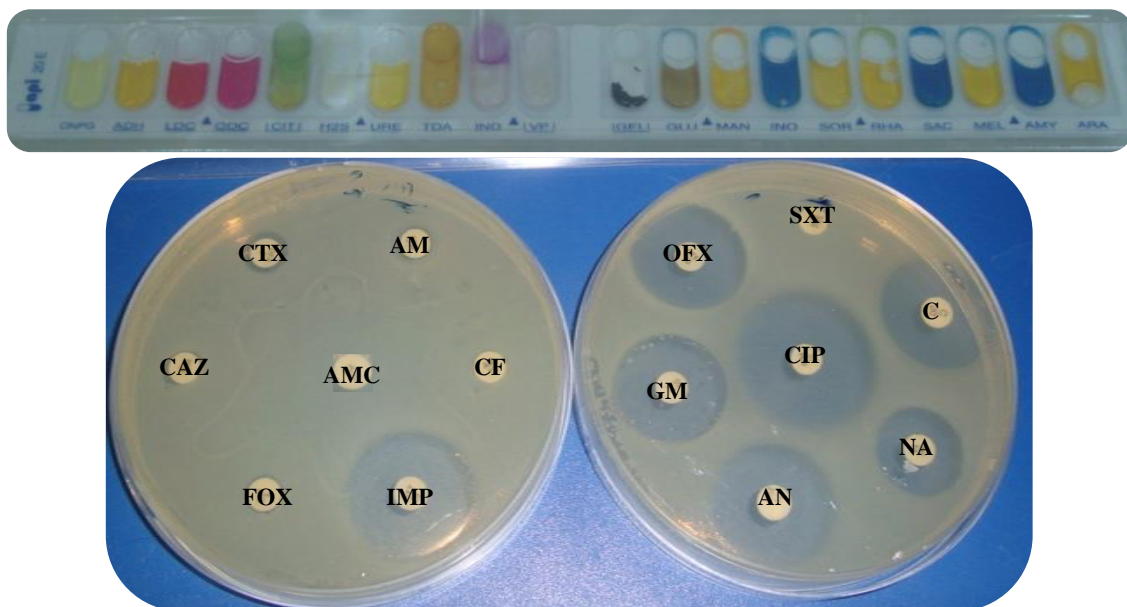
Le type de milieu présentant le plus d'isolats résistants à au moins un antibiotique est, sans surprise, les eaux usées des rejets hospitaliers, suivies par les eaux usées traitées. Ce résultat est toujours dut au traitement d'épuration insuffisant pour éliminer ces contaminants.

[Chitnis et al., \(2004\)](#) avaient également mis en évidence un taux plus important de souches multirésistantes au niveau des effluents hospitaliers qu'au niveau des eaux usées domestiques.



**Figure 16 :** Pourcentage d’isolats de coliformes totaux et thermotolérants résistants à au moins 1, 2 et 5 antibiotiques dans les différents milieux étudiés.

On a pu identifier seulement trois souches bactériennes multirésistantes productrices de **Beta Lactamase à Spectre Etendu (BLSE)**, il s’agit de *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* (Photo 07).



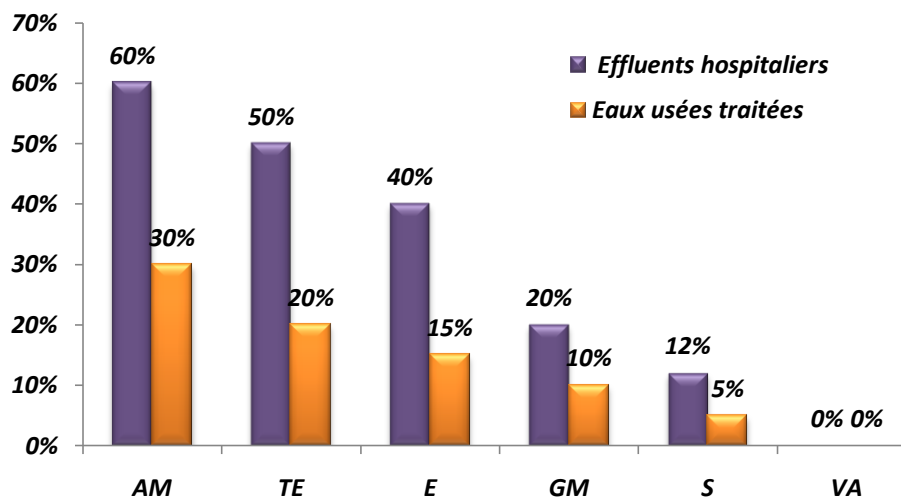
**Photo 07 :** *Escherichia coli* multirésistante productrice d’une **Beta Lactamase à Spectre Etendu**

### III.4. Antibiorésistance d'*Enterococcus* dans les effluents hospitaliers et les eaux usées traités

Les entérocoques sont intrinsèquement résistant à une large gamme d'antibiotiques, par conséquent, cela a toujours limité le choix des antibiotiques utilisés contre ces organismes. (Reddy Nagulapally, 2007).

Durant cette étude, un total de 100 souches d'*Enterococcus* ont été isolées à partir de 06 échantillons d'effluents hospitaliers et le même nombre de souches à partir des eaux urbains traités. La résistance de chacune d'elle a été testée vis-à-vis de 06 antibiotiques. Les résultats sont représentés dans la figure 17.

Cette analyse montre les mêmes tendances que pour les coliformes fécaux, mais nettement moins accentuées. Les taux de résistance sont clairement différents d'un site échantillonné à un autre. Pour chaque antibiotique, la fréquence d'isolats résistants dans les effluents hospitaliers est au moins deux fois plus élevée que celle dans les eaux usées traitées.



**Figure 17 :** Pourcentage d'isolats d'*Enterococcus* résistants à divers antibiotiques dans les différents milieux étudiés. AM : Ampicilline ; TE : Tétracycline ; E : Érythromycine; GM : Gentamicine; S : Streptomycine; V : Vancomycine.

Pour les effluents hospitaliers, l'ampicilline (AM) présente le taux de résistance le plus élevé (60 %). La tétracycline (TE) présente le deuxième taux élevé de résistance avec 50 %. Ce taux élevé n'est pas étonnant vu l'emploi excessif de cet antibiotique depuis des dizaines d'années tant en médecine humaine que vétérinaire.

Le taux de résistance obtenu pour l'érythromycine (E), appartenant à la classe des macrolides, est également élevé (40,0 %). L'augmentation de sa consommation en milieu hospitalier peut expliquer ce taux de résistance élevé (BAPCOC, 2004). Ce taux passe à 15% dans les eaux traitées urbains.

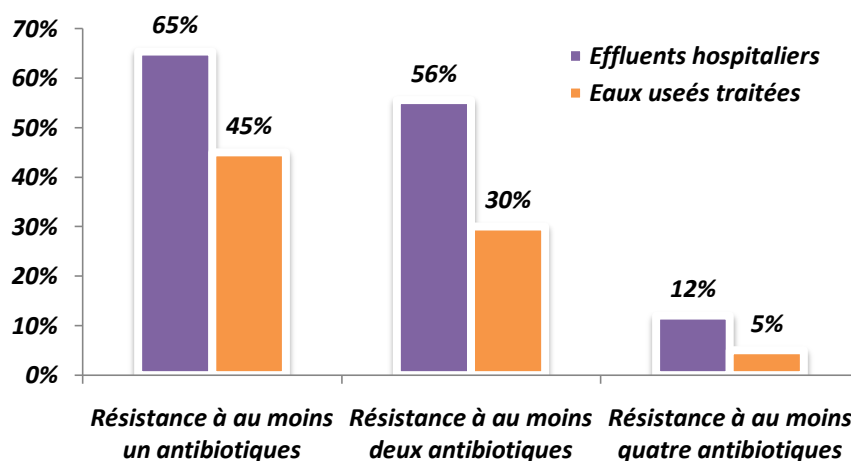
Tous les *Enterococcus* sont naturellement résistants aux aminosides, pour détecter l'acquisition d'une résistance plasmidique aux aminosides, on a utilisé des disques d'aminoside forte charge. L'aminoside est à une telle concentration qu'il peut pénétrer dans la bactérie par un transport passif (sans utiliser la chaîne respiratoire).

Nos résultats montrent que les souches d'entérocoques intestinaux étudiées dans les effluents de l'hôpital, présentent un faible taux de résistance envers la gentamicine (GM) 20% et encore moins pour la streptomycine (12%). Les taux de résistance obtenus montrent que les *Enterococcus* isolés possèdent un haut niveau de résistance aux aminosides. Cette résistance peut provenir d'un défaut de pénétration des aminosides dans le cytoplasme bactérien, de leur inactivation par transformation sous l'influence d'enzymes (phosphorylase, acétylase) où d'une modification de la structure des ribosomes empêchant la fixation de l'antibiotique.

La totalité de souches échantillonnées sur nos deux sites d'études se sont révélées sensible à la vancomycine (VA). Des résultats semblables ont été rapportés dans le rapport annuel [EARSS](#) en [2004](#). Ceci a été aussi confirmé par plusieurs études européennes témoignant d'un taux de résistances nul vis-à-vis de cet antibiotique ([Poeta et al., 2006](#) ; [Kaçmaz et al., 2005](#) et [Abbassi et al., 2004](#)). Des taux de résistance beaucoup plus élevés ont été rapportés aux Etats-Unis ([Vandamme et al., 1996](#)) suite à l'utilisation non restreinte de cet antibiotique en milieu hospitalier.

#### III.4.1. Multirésistance

L'étude de la multirésistance en fonction du milieu d'origine des souches a permis de calculer les pourcentages d'isolats résistants à au moins un, deux et quatre antibiotiques. Ces résultats sont représentés dans la figure 18.



**Figure 18** : Pourcentage d'isolats d'*Enterococcus* résistants à au moins 1, 2 et 4 antibiotiques dans les différents milieux étudiés.

Cette analyse montre aussi les mêmes tendances que pour les coliformes fécaux. Les effluents hospitaliers présente le plus d'isolats résistants à au moins un, deux et cinq antibiotiques que les effluents urbains traitées. La multirésistance, se retrouve donc essentiellement dans les milieux fortement influencés par la consommation humaine d'antibiotiques.

### III.5. Recherche des germes pathogènes

Malgré l'hostilité du milieu aquatique hospitalier, on remarque que les germes témoins représentent toujours assez fidèlement le risque lié à la présence de bactéries potentiellement pathogènes, notamment celles associées aux infections nosocomiales.

Les résultats concernant la recherche des germes pathogènes sont résumés dans le tableau X.

**Tableau X** : Recherche des germes pathogènes aux différents sites de prélèvements

	Recherche des germes pathogènes		
Site du prélèvement	Recherche des Salmonelles	Recherche des Pseudomonas	Recherche des Staphylocoques
Site 1	Absence	Présence	Présence
Site 3	Présence	Présence	Présence

**La recherche des salmonelles** est très importante puisque beaucoup de variétés sont potentiellement pathogènes. De plus les salmonelles présentent souvent une résistance à un ou plusieurs antibiotiques suite à leur recevabilité vis-à-vis des plasmides de résistances, D'où un risque supplémentaire par rapport à la prolifération dans l'environnement de germes multi résistants ([Astie – Deyna, 1982](#)).

Les salmonelles sont absentes dans les effluents hospitaliers (Site 1). Des résultats similaires ont été rapportés par des recherches effectuées sur le même genre de rejets ([Emmanuel, 2004a, 2004b](#) ; [Mansotte, 2000](#)). Cette absence peut s'expliquer par le fait que les salmonelles sont fréquemment en concentration faible dans les eaux, avec une grande difficulté pour y survivre, la présence de désinfectants et détergents en quantité importante, ainsi que d'antibiotiques, dans les effluents hospitaliers rend leur survie encore plus difficile.

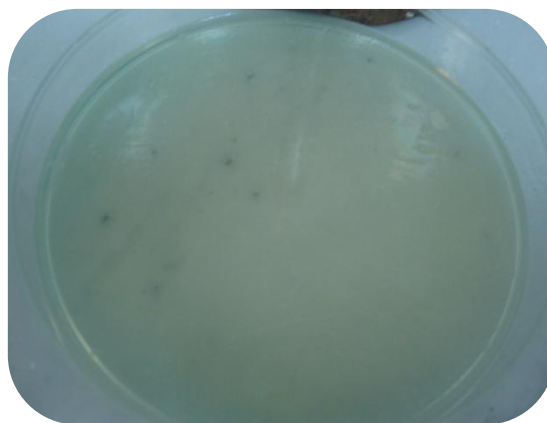
Par contre, les colonies obtenues à partir de l'échantillon du site 3 sont très abondantes et caractéristiques au genre *Salmonelle*. Il est très probable que cette observation soit du à la présence d'autres établissements à potentiel infectieux autres que notre établissement qui déverse leurs rejets dans cette même station d'épuration.

D'autre part, l'origine de ces salmonelles peut aussi être des animaux à sang chaud et en particulier les oiseaux d'élevages ou sauvages (Ferns et Mudge, 2000). Elles peuvent donc provenir des rejets liquides de l'abattoir municipal de la ville de kenchela qui rejette tous ces déchets sans aucun traitement directement dans le réseau d'assainissement. L'abattage clandestin peut aussi être une source potentielle de ces bactéries.

**Pour les staphylocoques**, les colonies dorées apparues sur gélose Chapman après ensemencement des effluents hospitaliers ont fait l'objet d'un test de staphylocoagulase. Ce test permet de distinguer les souches à pouvoir pathogène (*Staphylococcus aureus*), par rapport aux souches non pathogènes (*Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus*). Le test montre que les souches de Staphylocoques présents dans l'effluent hospitalier sont non pathogènes. Cependant leur présence dans nos effluents témoigne d'une grande résistance dans l'environnement (Rejsek, 2002). Cette constatation est aussi partagée par d'autres auteurs (Boillot, 2008 ; Emmanuel et al., 2001; Mansotte, 2000). Leur présence dans les eaux traitées est due à l'absence du traitement tertiaire essentiel pour l'élimination des germes pathogènes.

**Les Pseudomonas** sont des espèces opportunistes naturellement résistantes à plusieurs antibiotiques. À cette résistance naturelle s'ajoute une résistance acquise puisque ces bactéries cumulent de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Les colonies apparues sur gélose au cetrimide sont rondes, petites, convexes, lisses de couleur vert pâle avec une odeur aromatique de la fleur de seringa (jasmin).



**Photo 08 :** Isolement des *Pseudomonas* sur gélose Au Cetrimide

L'examen microscopique après une coloration de gram montre qu'il s'agit de bacilles Gram négatif

Les résultats des tests biochimiques sont bactérie oxydase (+), donnant une réponse négative aux tests LDC, ODC, TDA, indole, bêta-galactosidase, elle a produit un pigment diffusible sur gélose nutritive (coloration verte), et une réaction positive avec le King B et le King A (fluorescence observée sous une lampe ultraviolet), elle produit donc la pyoverdine ainsi que la pyocyanine. De plus, une odeur de la fleur de seringa (jasmin) s'exhale des cultures.

La sécrétion de ces deux pigments est caractéristique des bactéries du genre : *Pseudomonas*. Ces observations ont fortement orienté le diagnostic et l'identification de la souche vers l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* ; seule capable de produire ces deux pigments, les autres *Pseudomonas* synthétisent seulement la pyoverdine ([Dworkinet et al., 2006](#) ; [Joffin et Leyral, 2005](#)).

Au total une trentaine de colonies ont été identifiées comme tel.

La charge moyenne en *Pseudomonas aeruginosa* des effluents hospitaliers était largement supérieure à celle retrouvée dans les eaux usées traitées, avec 23,7% des souches d'antibiotype sauvage comparativement à 85.8% dans les eaux usées traitées.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étudiées sont résistantes surtout aux fluoroquinolones (ofloxacine) et aux aminosides (gentamicine, amikacine). Le phénotype de résistance le plus fréquent est Ofx<sup>R</sup> Gm<sup>R</sup>.

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux  $\beta$  lactamines est due à l'existence de métallob $\beta$  lactamase et de  $\beta$  lactamase à spectre étendu, conférant une résistance à la majorité des  $\beta$  lactamines avec pour corollaire un échec thérapeutique ([Lombardi et al., 2002](#)). Dans notre étude, la ceftazidime et l'imipenème restent encore actifs contre les souches de *Pseudomonas aeruginosa* identifiées.

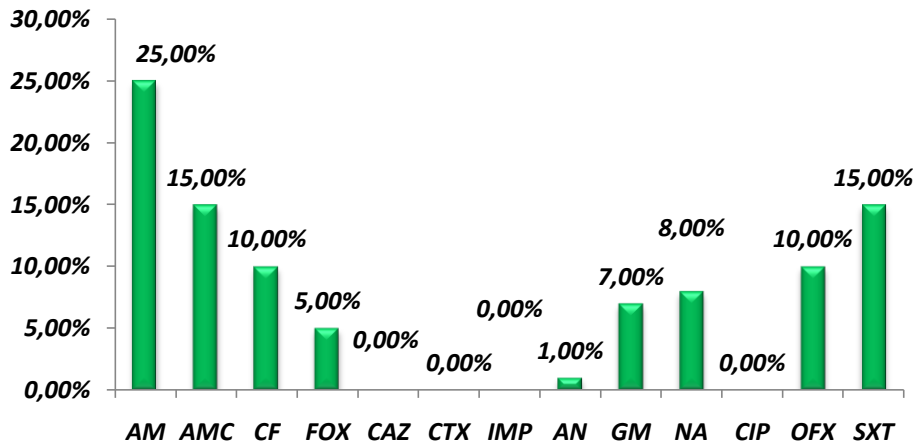
### **III.6. Abondance et antibiorésistance des bactéries fécales dans des boues d'épuration**

Le résultat pour le dénombrement des coliformes thermotolérants est de  $1,6.10^5$  unités formant colonie par g de boues et celui des entérocoques intestinaux est de  $3,0.10^4$  unités formant colonie par g de boues.

Une abondance élevée en indicateurs fécaux est donc observée dans les échantillons de boues, qui n'ont subi aucun traitement de déshydratation.

L'antibiorésistance détectée pour ces indicateurs fécaux s'est révélée assez semblable à celle qui a précédemment été observée dans les eaux usées traitées à la sortie de la station d'épuration (Figure 19, 20).

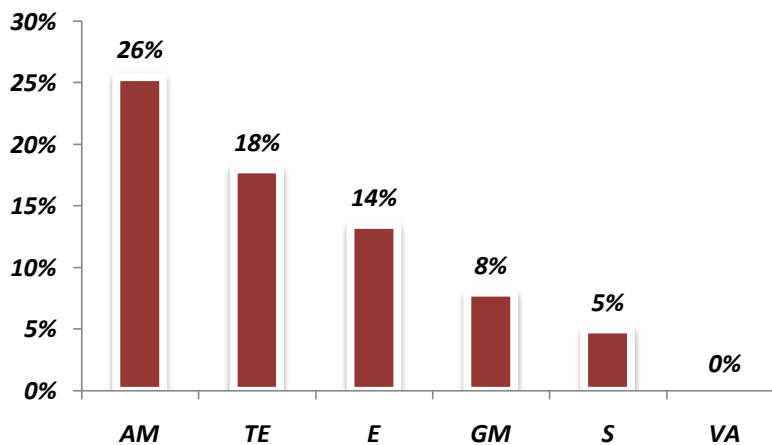
**Boues d'épuration**



**Figure 19:** Pourcentage d'isolats d'*Escherichia coli* résistantes à divers antibiotiques dans les boues d'épuration.

AM : Ampicilline ; AMC : Amoxicilline + acide clavulanique ; CF : Céfazoline ; FOX : Cefoxitine ; CAZ : Ceftazidime ; CTX : Céfotaxime ; IMP : Imipenème ; AN : Amikacine ; GM : Gentamicine ; NA : Acide nalidixique ; CIP : Ciprofloxacine ; OFX : Ofloxacine ; SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprim

**Boues d'épuration**



**Figure 20 :** Pourcentage d'isolats d'*Enterococcus* résistantes à divers antibiotiques dans les boues d'épuration.

AM : Ampicilline ; TE : Tétracycline ; E : Érythromycine ; GM : Gentamicine ; S : Streptomycine ; V : Vancomycine.

Les boues d'épurations peuvent donc potentiellement contenir une forte charge en bactéries fécales si elles ne sont pas efficacement déshydratées. Ces bactéries fécales possèdent les mêmes caractéristiques d'antibiorésistance que celles trouvées dans les eaux usées dont elles proviennent.

Les traitements supplémentaires qui peuvent être apportés aux boues, particulièrement les traitements de désinfection et les traitements thermiques en vue d'augmenter la déshydratation, peuvent réduire fortement la charge en bactéries fécales, jusqu'à des niveaux

inférieurs au seuil de détection de la méthode utilisée dans cette étude (1 unité formant colonie par gramme de boue sèche).

***Conclusion  
et perspectives***

## **Conclusion et perspectives**

Ce travail s'inscrit dans la problématique de l'étude des caractéristiques physico-chimique et microbiologique des effluents de l'hôpital 120 lits de la wilaya de Khenchela, afin d'évaluer les paramètres de pollution de ces rejets en comparaison aux effluents urbains ainsi que le devenir des germes pathogènes qui peuvent être antibiorésistants.

Dans ce cadre, nous avons tout d'abord établi un état des lieux des différents polluants physiques, chimiques et biologiques éliminés avec les effluents. Par la suite, nous avons effectué des analyses physico-chimiques et microbiologiques pour évaluer les risques qu'ils génèrent.

Les résultats obtenus ont révélé que les effluents de l'établissement hospitalier étudié présentent des caractéristiques physico-chimiques globales inférieures à la moyenne de celles des eaux résiduaires urbaines.

Notre étude montre aussi que les contaminants microbiologiques des milieux hospitaliers sont très diversifiés selon les types de pathologies en cours de soins, avec notamment la présence de résidus de médicaments, des produits de diagnostic, des anesthésiants, des détergents et des désinfectants.

La forte utilisation d'antibiotiques génère aussi la production de bactéries antibiorésistantes évacuées dans les effluents de l'hôpital. Nos résultats montrent une différence importante en pourcentage de résistance, puisque les coliformes issus de ses effluents sont plus souvent résistants que ceux du réseau urbain. Par exemple, seuls 40% des coliformes isolés des eaux usées traitées sont résistants, contre plus de 70% pour ceux isolés à partir d'effluents d'hôpitaux.

Les caractéristiques de résistance sont préoccupantes, puisqu'on retrouve peu de phénotypes sauvages, beaucoup de résistance acquises, et d'importantes multi résistances surtout aux bêtalactamines, aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et une résistance assez inquiétante aux quinolones.

D'autre part et en accord avec la majorité des travaux, les résultats obtenus révèlent une absence de *Staphylocoques* à coagulase positive et en particulier de SARM.

Concernant les boues d'épuration, nos résultats montrent qu'ils peuvent contenir une forte charge en bactéries fécales quand elles ne sont pas efficacement déshydratées. Ces bactéries fécales possèdent les mêmes caractéristiques d'antibiorésistance que celles trouvées dans les eaux usées dont elles proviennent.

La portée de ces résultats, qui corroborent en grande partie ceux d'autres études essentiellement des pays voisins, doit toutefois être complété par d'autres échantillonnages prospectant le même site et d'autres sites judicieusement choisis. Ainsi dans nos perspectives d'avenir il nous semble intéressant de compléter utilement cette approche par :

- La réalisation de nouveaux prélèvements complémentaires sur ce site et d'autres centres hospitaliers de la wilaya de Khenchela, de taille et d'activités différentes pour valider nos premiers résultats.

- Réaliser l'ensemble de la caractérisation détaillée physico-chimique, microbiologique et écotoxicologique sur tous les échantillons.

- Effectuer une comparaison du profil microbiologique obtenu entre ces différents sites et surtout du profil de résistance des germes transitant dans des collecteurs d'hôpitaux avec ceux transitant dans des collecteurs communaux.

- Etendre notre travail à l'étude des risques potentiels engendrés par ces effluents d'une part sur l'homme par le risque infectieux lié à l'existence des microorganismes pathogènes multi-résistants ayant un potentiel de transfert horizontal de gène. Et d'autre part évaluer ces risques sur l'environnement et la probabilité de sa contamination, afin d'aider à l'adaptation d'une stratégie de traitement des eaux visant à améliorer sa qualité selon les normes requises et montrer que les effluents hospitaliers de part le risque qu'ils représentent ne doivent pas être directement déversés dans le milieu naturel sans traitement.

- Effectuer une campagne de prévention pour les habitants de la wilaya et particulièrement ceux résidants de part et d'autre de OUED BAGHAI et qui utilisent dans leur quotidien les eaux de cette source pour l'irrigation de leurs cultures maraichères et pour l'élevage des animaux.

***Références  
bibliographiques***

1. **Abbassi M.S., Achour W et Hassen A.B.** 2004. Caractéristiques des souches d'entérocoques isolées chez des patients neutropéniques au centre national de greffe de moelle osseuse de Tunis. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. (2):91-94.
2. **Adam C., Debayle C., Carel D et Cavalie I.** 2006. Les produits radio pharmaceutiques dans les effluents hospitaliers et domestiques. *Environnement, Risques et Sante*, Vol. 5, n° 4, pp. 254.
3. **Adler E.** 2005. Eléments sur l'épuration des eaux usées et la gestion des sous-produits de l'assainissement. *ENTPE*. 68p.
4. **AFNOR.** 1990. Eaux : méthodes d'essai ; recueil de normes françaises AFNOR, Paris.
5. **American Hospital Association (AHA).** 1986. *Hospital Statistics*. Chicago: American Hospital Association, 250 p.
6. **Anonyme.** 1993. Recherche et quantification des paramètres caractéristiques de l'équivalent habitant : étude bibliographique. Document technique réalisé sous la direction de l'agence de l'eau. Paris 38p.
7. **Anonyme.** 2000. Résistance aux antibiotiques. <http://reflexions.ulg.ac.be/index.jsp>
8. **APHA.** 2000. Standard methods for the examination of water and waste-water. Eaton 21st ed. American Public Health Association. Washington DC: Clesceri C. et Greenberg A.E. publisher. 1268p.
9. **APHA/AWWA/WEF.** 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 édition. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC.
10. **Aravindakshan J., Paquet V., Gregory M., Dufresne J., Fournier M., Marcogliese DJ.** 2004. Consequences of xenestrogen exposure on male reproductive function in spottail shiners (*Notropis hudsonius*), *Toxicol Sci*, 78, 156-165
11. **Archibald F.** 2000. The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems - a cause for concern? *Water Qual Res J. Canada*, 35:1-22.
12. **Aulicino E.A., Mastrantonio A., Orsini E., Bellucci C., Muscillo M., et Larosa G.** 1996, Enteric viruses in a wastewater treatment plant in Rome. *Water, Air, and Soil Pollution* 91: 327-334,
13. **Asmlal L.** 1996. Contribution à l'étude du métabolisme bactérien dans l'enlèvement biologique du phosphore des eaux usées. Thèse de Doctorat. Univ. Sherbrooke.208p.
14. **Baba Moussa A.** 1994. Etude de la pollution bactériologique de la nappe phréatique a partir d'une latrine en Afrique subtropicale. Thèse de doctorat es sciences techniques. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.
15. **Banas S.** 2003. Les microorganismes pathogènes parasitaires et viraux dans le milieu hydrique. Laboratoire de Chimie et Physique pour l'Environnement UMR 7564 CNRS/UHP. Equipe Microbiologie et Physique - Parasitologie Faculté de Pharmacie NANCY
16. **Baumont S., Camard J-P., Lefranc A., Franconi A.** 2005. Réutilisation des eaux usées: risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. Rapport ORS, 220p.
17. **Bernet S et Fines M.** 2000. Effluents du CHU de CAEN : Etude qualitative et quantitative de la flore microbienne et recherche de bactéries multirésistantes. Poster. Caen : Quatrième journée du Réseau Régional d'Hygiène de Basse-Normandie, 1 p.

- 18. Besse JP et Garric J.** 2008. Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the french situation, *Toxicol Lett*, 176, 104-123
- 19. Bio-Mérieux.** 2009. Catalogue Analytique API 20 E. Système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux (Réf. 20100/20160). biomérieux.p52.
- 20. Bisognano C.** 2003. Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de Staphylococcus aureus : étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires, thèse Université de Genève.  
Available on : [http://www.unige.ch/cyberdocuments/these2001/BisognanoC/these\\_boby.html](http://www.unige.ch/cyberdocuments/these2001/BisognanoC/these_boby.html)
- 21. Bliefert C., Perraud R.** 2001. Chimie de l'environnement : Air, Eau, Sols, Déchets. Edition de boeck, 477p.
- 22. Boeglin J.C.** 2000. Traitements biologiques des eaux résiduaires Techniques de l'Ingénieur, traité Génie des procédés.
- 23. Boillot C.** 2008. Évaluation de l'écotoxicité de détergents/désinfectants - Modélisation mathématique prédictive - Évaluation du risque écotoxicologique. Mémoire de DEA - Mention Sciences et Techniques du Déchet. Villeurbanne: POLDEN, INSA de Lyon, 49p.
- 24. Bonot S.** 2010. Persistance et dissémination du plasmide pB10, vecteur de gènes de résistance aux antibiotiques, dans des biomasses issues de stations d'épuration d'eaux usées urbaines. Université Henri Poincaré
- 25. Bontoux J.** 1983. Introduction à l'étude des eaux douces. Eaux naturelles. Eaux usées. Eaux de boisson. Partie IV, La Tribune de Cebedeau, Liège, 36 p. 381-398.
- 26. Canler J.P et Perret J.M.** 2004. Étude des pré-traitements compacts basés uniquement sur le tamisage fin – Cas du traitement des eaux résiduaires urbaines ou domestiques. (Cemagref) – Document technique FNDAE n° 28. <http://www.eau.fndae.fr>.
- 27. C. CLIN Paris-Nord.** 1999. Élimination des effluents liquides des établissements hospitaliers – Recommandations. Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Interrégion Paris - Nord, Institut Biomédical des Cordelier : Ile de France, Picardie, Haute-Normandie, Nord Pas-de-Calais, Paris: 74p.  
Available on : [http://web.ccr.jussieu.fr/guide\\_effluents\\_liquides.pdf](http://web.ccr.jussieu.fr/guide_effluents_liquides.pdf).
- 28. C. CLIN Paris-Nord.** 2000. Antiseptiques et désinfectants. Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Interrégion Paris - Nord, Institut Biomédical des Cordelier : Ile de France, Picardie, Haute-Normandie, Nord Pas-de-Calais, Paris: 87p.
- 29. Capizzi S., Schwartzbrod J.** 1998 Helminth eggs concentration in wastewater: Influence of rainwater, *Water Sciences and Technology*, 38, 77-82.
- 30. Castegnaro M et Hansel S.** 2006. Les médicaments anticancéreux dans les effluents hospitaliers et domestiques, *Environ Risques Santé*, 5, 266-274
- 31. Catastini C., Mullot J.U., Boukari S., Mazellier P., Levi Y., Cervantes P., Ormsby J.N.** 2008. Assessment of antineoplastic drugs in effluents of two hospitals. *Eur. J. Water quality*, tome 39, fasc. 2, p. 171 – 180
- 32. Cavallo D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E.,** 2004. Bêtalactamines. *EM Consulte. Maladies infectieuses* 1:129-202.

33. **CEAEQ.** 2000. Recherche et dénombrement des coliformes totaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 25 p.
34. **Centre Régional Pour L'eau Potable Et L'assainissement À Faible Coût (CREPA).** 2007. Contrôle et suivi de la qualité des eaux usées protocole de détermination des paramètres physico-chimiques et bactériologique. Centre collaborant de l'OMS, 52p
35. **Chareyron B.** 2008. Les effluents radioactifs directs et diffus générés par les activités médecine nucléaire et de Curiethérapie Colloque "Les effluents liquides des établissements de santé" CHAMBERY 26 novembre 2008. Laboratoire de la CRIIRAD
36. **Chitnis V., Chitnis S., Vaidya K., Ravikant S., Patil S., and Chitnis D.S.** 2004. Bacterial population changes in hospital effluent treatment plant in central India. *Water Research.* 38 : 441-447.
37. **Cisse G.** 1999. Impact sanitaire de l'utilisation d'eaux polluées en agriculture urbaine. Thèse EPFL de Lausanne. Spécialité Sciences Techniques 446p
38. **Clausen EM., Green BL et Litsky W.** 1977. Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., *Bacterial Indicators/Health hazards associated with water.* American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp.: 247-264.
39. **Cleuvers M.** 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects, *Toxicol Lett.* , 142, 185-194
40. **Commission Belge de Coordination de la Politique Antibiotique (BAPCOC).** 2004. Antibiotic policy, use of antimicrobial agents and bacterial resistance in Belgium. situation before 2002. Rapport annuel 131p.
41. **Dabernat H., Avril J.P., Denis F., Monteil H.** 1992. *Bactériologie Clinique.* 2<sup>ème</sup> Edition marketing. 148p
42. **Dahling D.R., Saffermann R.S., Wright B.A.** 1989. Isolation of Entérovirus and Réovirus from sewage and treated effluents in selected Puerto Rican communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 503-506.
43. **Darsy C., Lescure I., Payot V., Rouland G.** 2002. Effluents des établissements hospitaliers : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues. Office international de l'eau
44. **Delarras C., Bernard T.** 2007. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Lavoisier. Paris.269p.
45. **Degremont.** 1989. Mémento technique de l'eau. Lavoisier, Tec. et Doc. 9<sup>ème</sup> ed. 1459p.
46. **Deloffre Bonnamour N.** 1995. Les rejets des établissements de santé : des effluents liquides aux déchets solides. Mémoire de maîtrise - Institut Universitaire Professionnalisé, Génie de l'Environnement - Ecodéveloppement - Université Claude Bernard - Lyon 1. Lyon: 75p.
47. **Drasy C., Lescure I., Payot V., Rouland G.** 2002. Effluents des établissements hospitaliers : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues. Office International de l'Eau, Document de synthèse, 10p.

**48. Dremont C et Hadjali R.** 1997. La gestion des effluents liquides en milieu hospitalier. Mémoire de DESS Technologies Médicales Hospitalières. Compiègne: Université de Technologie de Compiègne, 30p.

Available on : [http:// www.utc.fr /~farges/DESS\\_TBH/96-97/EL/EL.htm](http://www.utc.fr/~farges/DESS_TBH/96-97/EL/EL.htm).

**49. Durand F., Rauwel G et Criquelion J.** 2002. Désinfection - L'acide peracétique et les dispositifs médicaux. Plateaux Techniques Infos mars-avril 2002, pp. 4

**50. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E.** 2006. The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria, Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass. Third Edition. Springer.

**51. Edberg SC., Rice EW., Karlin RJ et Allen MJ.** 2000. Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.

**52. Edeline F.** 1979. L'épuration biologique des eaux résiduaires. Ed. CEBEDOC, Paris, 306 p.

**53. Elia AC., Anastasi V et Dorr AJM.** 2006. Hepatic antioxidant enzymes and total glutathione of Cyprinus carpio exposed to three disinfectants, chlorine dioxide, sodium hypochlorite and peracetic acid, for superficial water potabilization. Chemosphere, Vol. 64, n° 10, pp. 1633-1641

**54. Emmanuel E., Blanchard J.M., Keck G., Perrodin Y.** 2001. Caractérisation chimique, biologique et écotoxicologique des effluents hospitaliers. Déchets Sciences et Techniques, revue francophone d'écologie industrielle, 22, pp. 31-33.

**55. Emmanuel E.** 2004a. Évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse INSA de Lyon - Spécialité Sciences et Techniques du Déchet. Lyon: 259p.

**56. Emmanuel E.** 2004b. Évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse Spécialité Sciences et Techniques du Déchet. Villeurbanne et Vaulx en Velin: INSA de Lyon et LSE-ENTPE, 259p.

**57. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS).** 2004. Rapport annuel. 136p.

**58. Faby J.A et Brissaud F.** 1997. L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation. Office International de l'Eau, 76 pages.

**59. Facklam RR., Sahn DF., et Teixeira LM.** 1999. Enterococcus. Dans Murray, PR, EJ Baron, MA Pfaller, FC Tenover et RH Tenover., éd. (1999) Manual of clinical microbiology, American Society for Microbiology, pp.:297-305.

**60. Fent K., Weston AA., Caminada D.** 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals, Aquat Toxicol, 76, 122-159

**61. Ferns P.N. et Mudge G.P.** 2000. Abundance, diet and Salmonella contamination of gulls feeding at sewage out falls. Wat. Res. 34(10), p. 2653-2660.

**62. Ferrari B., Paexus N., LO Giudice R., Pollio A., Garric J.** 2003. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazépine, clofibrac acid and diclofenac, Ecotoxicol Environ Saf, 55, 359-370

**63. Fenet H., Gomez E., Leclerc M., Casellas C.** 2006. Devenir des médicaments dans l'environnement Environnement, Risques & Santé – Vol. 5, n° 4, juillet-août 2006

64. **Fondation De L'eau Potable Sur FEPS.** Traitement des eaux usées. [www.safewater.org](http://www.safewater.org)
65. **Franck R.** 2002. Analyse des eaux, Aspects réglementaires et techniques. Edition Scérén CRDP AQUITAINE. Bordeaux, pp165-239.
66. **Fremery L et Rigaud S.** 2001. Que deviennent les effluents radioactifs hospitaliers? Sciences et technologie de l'eau. 09p.
67. **Garric J. et Ferrari B.** 2005. Les substances pharmaceutiques dans les milieux aquatiques. Niveaux d'exposition et effet biologique : que savons-nous? Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science, vol. 18, n° 3 p. 307-330. <http://id.erudit.org/iderudit/705561ar>
68. **Gleeson C. et Gray N.** 1997. The coliform index and waterborne disease. E et FN Spoon, 194 p.
69. **Goh E.B., Yim G., Tsui W., McClure J., Surette M.G., Davies J.,** 2002. Transcriptional modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics, Proceedings of the National Academy of Sciences, 99:17025-17030
70. **Guiraud J. P.** 2003. Microbiologie Alimentaire. DUNOD, Paris. 652p.
71. **Haiss A et Kummerer K.** 2006. Biodegradability of the X-ray contrast compound diatrizoic acid, identification of aerobic degradation products and effects against sewage sludge micro-organisms. Chemosphere 62. 294-302. Allemagne, 2005
72. **Hartemann P., Hautemaniere A et Joyeux M.** 2005. La problématique des effluents hospitaliers. Hygiène, Vol. 13, n° 5, pp. 369-374
73. **Hartmann A., Alder AC., Koller T., Widmer RM.** 1998. Identification of fluoroquinone antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital wastewater, Environ Toxicol Chem, 17, 377-382
74. **Hancock LE. et Gilmore MS.** 2000. Pathogenicity of enterococci. Dans: Fischetti, VA, RP Novick, JJ Ferretti, DA Portnoy et JI Rood, édité., Gram positive pathogens. American Society for Microbiology, pp.:251-258.
75. **Haslay C. et Leclerc H.** 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 495 p.
76. **Jardé E.** 2002. Composition organique de boues résiduaires de stations d'épuration lorraines : caractérisation moléculaire et effets de la biodégradation Thèse Docteurat de l'Université Henri Poincaré, Nancy I en Sciences de l'Univers. 271p
77. **Joffin, J.N et Leyral, G.** 2005. Microbiologie Technique. Tome 1. Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et CRDP d'Aquitaine. p368.
78. **Jehannin P.** 1999. Caractérisation et gestion des rejets liquides hospitaliers – Etude particulière de la situation du Centre Hospitalier de Hyères (Var). Mémoire de fin d'études, Ecole Nationale de la Santé Publique, Rennes, 71 p.
79. **Johnson R.W., Blatchley E.R., Mason D.R.** 1994. HIV in the bloodborne pathogen regulation : implications for the wastewater industry. Water Environment Research, Vol. 66, pp. 684-691.
80. **Jolibois B., Gouille J.P., Lacroix C., Guerbet M.** 2009. Génotoxicité des eaux usées hospitalières Les effluents Liquides des établissements de santé : état des Lieux et perspectives de gestion 26-27 novembre 2008 - Chambéry. Techniques Hospitalières 714 pp 37-41.

81. **Jolibois B, Guerber M, Vassal S.** 2002. Glutaraldéhyde in hospital wastewater. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 42, pp. 137-144.

82. **Kaçmaz B., Aksoy A.** 2005. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey. International Journal of Antimicrobial Agents. 25:535-538.

83. **Karaca Y., Coplu N., Gozalan A., Oncul O., Citil B.E and Esen B.** 2005. Cotimoxazole and quinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections over the last 10 years. International Journal of Antimicrobial Agents. 26 : 75-77.

84. **Kemper N.** 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment, Ecological Indicators, 8, 1-13

85. **Kümmerer K.** 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. Chemosphere, Vol. 45, n° 6-7, pp. 957-969

86. **Kümmerer K., Al-Ahmad A., Bertram B., Wieszler M.** 2000. Biodegradability of antineoplastic compounds in screening tests: influence of glucosidation and of stereochemistry, Chemosphere, 40, 767-773

87. **Laber J., Raimund H., Shrestha R.** 1999. Two-stage constructed wetland for treating hospital wastewater in Nepal. Wat. Sci. Tech. Vol. 40, pp. 317-324.

88. **Lebres,** 2008. Cours d'hygiène et de microbiologie de l'eau. *Institut Pasteur d'Algérie*, 60 p.

89. **Le Hyaric R.** 2009. Caractérisation, traitabilité et valorisation des refus de dégrillage des stations d'épurations. Thèse Doctorat l'Institut National des Sciences appliquées de Lyon, pp 30-34.

90. **Leprat P., Chedevergne E., Camus A., Pacheco A et Mounier M.** 1996 Diagnostic physico-chimique et microbiologique des rejets hospitaliers. État des lieux à l'hôpital Du puytren CHU de Limoges. Techniques hospitalières, Vol. 612, pp. 35-38

91. **Leprat P.** 1998. Les rejets liquides hospitaliers, quels agents et quelles solutions techniques? Les Assise Nationales QUALIBIO 1998 « Santé et Environnement Hospitalier », Caen, p. 10-13.

92. **Levi Y.** 2006. Inquiétudes sur la présence d'antibiotiques et de bactéries antibiorésistantes dans les eaux, Environ Risques Santé, 5, 261-265

93. **Levy S.B et Marshall B.** 2004. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses, Nature Medicine, 10:122-219.

94. **Levy S.B.** 1998. Multidrug resistance: a sign of the times, New England Journal of Medicine, 338:1376-1378.

95. **Lombardi G., Luzzaro F., Docquier J.D., Riccio M.L., Perilli M., Coli A., Amicosante G., Rossolini G.M., Toniolo A.** 2002. Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase. - J. Clin. Microbiol. 40(11), 4051-4055.

96. **Louvet J.N.** 2010. Effet des antibiotiques sur le procédé d'épuration par boues activées. Étude du cas de l'érythromycine du floc bactérien au réacteur biologique. Thèse doctorat spécialité génie des procédés et des produits. INPL Université De Nancy (France).

97. **Maiga Y.** 2010. Processus d'élimination des *Escherichia coli* et des entérocoques des bassins de lagunage sous climat sahélien : influence de la radiation solaire. Thèse doctorat,

spécialité sciences biologiques appliqués, option biochimie et microbiologie appliquées de l'université de Ouagadougou

**98. Mansotte F.** 2000. Les rejets des établissements de santé. DDAS Seine-Maritime - Synthèse réalisé et complété sur la base du travail de F. Lebrun - Chargé d'études Environnement - Centre hospitalier du havre - CLIN - Club Environnement: 68p.

**99. Mansotte F et Jestin E.** 2000. Les rejets liquides des établissements de santé : Caractérisation à la source et impact sur l'environnement marin côtier. Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales de la Seine Maritime, Agence de l'Eau de la Seine Normandie, Nanterre, 73 p.

**100. Mara D,** 2004. Domestic Wastewater treatment in developing countries. Earth scan, London, UK. 293p.

**101. Martin G.** 1979. Le problème de l'azote dans les eaux. Ed technique et documentation, Paris, 279p.

**102. Martinez J.L.** 2009. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria, Proceedings of the Royal Society B, 276:2521-2530.

**103. Massi L., Geribaldi S et Guittard F.** 2003. Propriétés Antibactériennes et Antifongiques de Tensioactifs Ammoniums Quaternaires en Série F-Alkylée.

Available on: [www.unice.fr/cdiac/congres/sfc\\_paca/resumes/massi.pdf](http://www.unice.fr/cdiac/congres/sfc_paca/resumes/massi.pdf)

**104. Metcalf et Eddy.** 1991. Wastewater Engineering. 3<sup>ème</sup> ed New York, McGraw-Hill, 1334 p.

**105. Monfort P.** 2003. Microbiologie et coquillages. Ifremer, Document de synthèse, 18p.

**106. Montague P.** 1998. Drug in the water. Rachel's. Environment & Health Weekly # 614. Environmental Research Foundation.

Available on : <http://www.monitor.net/rachel/r614.html>.

**107. Moussa Moumouni Djermakoye H.** 2005. Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries. Caractérisation physico-chimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surfaces et les souterraines. Thèse Doctorat. Université de Bamako, pp 29.

**108. Nouvelot O.** 2007. Les effluents liquides hospitaliers : environnement et traitement Etude de cas de la blanchisserie et des unités de soins du Centre Hospitalier Universitaire de Dijon

**109. Observatoire National De L'épidémiologie De La Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques (ONERBA).** 1998. Les Staphylococcus aureus résistants à la méthicilline (SARM) vus de l'hôpital en 1997. Rapport technique de synthèse pour l'année 1997, Résultats, p. 26-34.

**110. Office National d'Assainissement (O.N.A).** 2011. Canevas type pour l'élaboration des bilans d'exploitation de l'année 2011. Ministère des Ressources Humaines. p24.

**111. Organisation Mondiale de la Santé. (OMS).** 2000. Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 – critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation mondiale de la Santé, 2<sup>ème</sup> édition, 1050 p.

Résumé accessible à : [www.who.int/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Summary\\_tables](http://www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables)

**112. Oppliger A.** 2009. Antibiotiques et bactéries antibiorésistantes dans les effluents d'hôpitaux. État des lieux en Europe (revue de la littérature). Colloque : Les effluents Liquides des établissements de santé : état des Lieux et perspectives de gestion 26-27 novembre 2008 – Chambéry. Techniques Hospitalières 714 • mars-avril 2009.

- 113. Parrott J.** 2004. Lifecycle exposures of fathead minnows to pharmaceutical drugs and municipal wastewater effluent. Proceedings, Enviroanalysis, Fifth Biennial International conference on monitoring and Measurement in the environment, Toronto, ON, Canada, May 17-20, pp 97-100.
- 114. Passerat J., Tamtam F., LE Bot B., Eurin J., Chevreuil M., Servais P.** 2010. Rejets hospitaliers d'antibiotiques et de bactéries fécales antibiorésistantes dans les rivières du bassin de la Seine. Eur. j. water qual. Disponible en ligne sur : [www.water-quality-journal.org](http://www.water-quality-journal.org)
- 115. Passerat J et Servais P.** 2008. Occurrence et origines des bactéries fécales antibiorésistantes (E. coli et entérocoques) dans le bassin de la Seine. Rapport PIREN-Seine 2007. Février 2008.
- 116. Pauwels B. et Verstraete W.** 2006. The treatment of hospital wastewater: an appraisal Journal of Water and Health.405-416
- 117. Picard L.** 2006. Les risques biologiques reliés aux eaux usées. Fiche technique. Association paritaire pour la santé et la sécurité du travail secteur « affaires municipales » : Région de Montréal. Québec. <http://www.apsam.com>
- 118. Poeta P., Costa D., Rodrigues J., and Torres C.** 2006. Antimicrobial resistance and the mechanisms implicated in faecal enterococci from healthy humans, poultry and pets in Portugal. International Journal of Antimicrobial Agents. 27:131-137.
- 119. Prescott L., Harley J et Klein DA.** 2003. Microbiologie. 2<sup>ème</sup> édition De Boeck, 1164 p
- 120. Reddy Nagulapally S.** 2007. Antibiotic resistance patterns in municipal wastewater Bacteria. A Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree. Master of Science. Department of Civil Engineering. College of Engineering. Kansas State University, Manhattan, Kansas.
- 121. Ramade F.** 1998. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau – Biochimie et écologie des eaux continentales et littorales. Paris : Ediscience international, 800 p.
- 122. Reinthaler F.F., Posch J., Feierl G., Wüst G., Haas D., Ruckebauer G., Mascher F. et Marth E.** 2003. Antibioticresistance of E. coli in sewage and sludge. Water Research. 37, 1685–1690.
- 123. Rejsek F.** 2002. Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. SCEREN – CRDP Aquitaine. Biologie technique - environnement. Bordeaux. 360p.
- 124. Remi B.** 2007 Résistance à la Bacitracine chez *Bacillus subtilis*. Thèse de doctorat Spécialité : Microbiologie et Biotechnologies. Université de la Méditerranée, Aix-Marseille II Faculté des Sciences de Luminy.220p
- 125. Rodier J.** 2009. L'analyse de l'eau. 9<sup>ème</sup> édition DUNOD, Paris, 1526 p.
- 126. Salmond G.P et Welch M.** 2008. Antibiotic resistance: adaptive evolution, Lancet, 372:97-103.
- 127. Sayah R.S., Kaneene J.B., Johnson Y et Miller R.** 2005. Patterns of antimicrobial resistance observed in Escherichia coli isolates obtained from domestic - and wild-animal fecal samples, human septage, and surface water. Applied and Environmental Microbiology. 71 (3) : 1394- 1404.
- 128. Schollosser O.** 1999. Docteur en médecine, VIVENDI, Exposition aux eaux usées et risques microbiologiques.

**129. Schwartzbrod J et Capizzi-Banas S.** 2003. Parasite contamination of liquid sludge from urban wastewater treatment plants, *Water Science and Technology* 47, 163-166.

**130. Schwartzbrod L.** 2000. Virus humains et sante publique : conséquences de l'utilisation des eaux usées et des boues en agriculture et conchyliculture. Centre Collaborateur OMS pour les Microorganismes dans les Eaux Usées Université De Nancy (France) [www.who.int/entity/water\\_sanitation\\_health/wastewater/virus.pdf](http://www.who.int/entity/water_sanitation_health/wastewater/virus.pdf).

**131. Skraber S.** 2003. Intérêt des bactériophages en tant que témoin de contamination fécale et de présence de virus entériques pathogènes dans les eaux de rivière Moselle, Thèse, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 211pp.

**132. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS.** 2008. 5<sup>ème</sup> édition.

**133. Taddei F., Matic I., Radman M.** 1996. Du nouveau sur l'origine des espèces. Le paradigme darwinien revu par l'analyse moléculaire des bactéries. *La Recherche*, octobre 1996, 12 p.

**134. Toze S.** 1999. PCR and the detection of microbial pathogens in water and wastewaters. *Water Res.* 33, 3545–3556p.

**135. Thévenot D.** 2005. Épuration des eaux usées. CEREVER Université Paris XII-Val de Marne, ENPC, ENGREF (UMR-MA 102) <http://www.enpc.fr/cereve/HomePages/thevenot/enseignement.html>

**136. US EPA.** 1989. Preliminary data summary for the hospitals point source category. Washington: United States Environmental Protection Agency, Office of water regulation and standards office of water. 76p. Accessible à : [www.epa.gov/safewater/mcl.html](http://www.epa.gov/safewater/mcl.html)

**137. Vandamme P., Vercauteren E., Lammens C., Pensart N., Ieven M., Pot B., Leclercq R et Goosens H.** 1996. Survey of enterococcal susceptibility patterns in Belgium. *Journal of Clinical Microbiology.* 34(10):2572-2576.

**138. Vandermeersch S.** 2006. Etude comparative de l'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des micro-organismes pathogènes, Diplôme d'Etudes Spécialisées en Gestion de l'Environnement. Institut de Gestion de l'Environnement et d'Aménagement du Territoire. Université Libre de Bruxelles IGEAT.

**139. Vansteelant J.Y.** 2004. Évaluation des risques de contaminations microbiologiques liés aux épandages de matières organiques sur prairies de montagne. Thèse de doctorat de l'université de Savoie. Sciences de l'environnement. 200p

**140. World Health Organisation (WHO)** 1994. Bench aids for the diagnostic of intestinal parasites. Geneva, 20 p.

#### **Sites web**

British Medical Journal (BMJ), September 1998, <http://www.bmj.com>

CCRA, CCAR, Comité canadien sur la résistance aux antibiotiques. <http://www.ccar-ccar.org>

Centre de Recherche en Infectiologie de l'Université Laval, [www.cri.crchul.ulaval.ca](http://www.cri.crchul.ulaval.ca)

Découverte, MASSON, Mario, La riposte des antibiotiques. <http://radio-Canada.ca/tv/decouverte/reportage/antibio.html>

Dictionnaire de bactériologie vétérinaire, Principaux antibiotiques.

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdicto/atbq/tablun.html>

Eurosurveillance, La surveillance de la résistance antimicrobienne chez l'homme et l'animal en Europe, 2003, <http://www.eurosurveillance.org/em/v02n03/0203-123.asp?langue=01&>

Futur Simple, LECOURE, Martin B., La résistance aux antibiotiques.

<http://www2.globetrotter.net/futursimple/archives/resist.htm>

Histoire des antibiotiques <http://www.lfcali.edu.co/tpe/antibiotiques/def.html>

Impact de la consommation d'antibiotiques en médecine ambulatoire.

[http://minsoc.fgov.be/old/press\\_releases/fr/aelvoet/2001/2001\\_09\\_18\\_consommation.htm](http://minsoc.fgov.be/old/press_releases/fr/aelvoet/2001/2001_09_18_consommation.htm)

INRA, Étude de la résistance des bactéries aux antibiotiques

<http://inra.fr/presse/COMMUNIQUES/sial2000/txt4.htm>

INRA, Les antibiotiques en élevage : état des lieux et problèmes posés.

<http://www.tours.inra.fr/tours/pap/articles/antibio.htm>

Les antibiotiques

<http://crdp.ac-clermont.fr/etabliss/bpambert/elevs/medicaments/antibiotiques.htm>

Le site des pédiatres strasbourgeois, Questions concernant les antibiotiques

<http://www.pediatres.online.fr/antibiotiques.htm>

PNIA, Programme national d'information sur les antibiotiques.

<http://www.antibiotiques-info.org>

Résistance aux antibiotiques. <http://anne.decoester.free.fr/atb/resab.htm>

Résistance aux antibiotiques, un défi pour les médecins et les pharmaciens.

<http://health.fgov.be/antibiotics/fr/fofiaf.htm>

Santé Canada, Le contrôle de la résistance aux antimicrobiens – Plan d'action intégré pour la population canadienne.

[http://www.hc-gc.ca/pphb-dgspsp/publicat/ccdr-rmtc/97vol23/23s7/23s7a\\_f.html](http://www.hc-gc.ca/pphb-dgspsp/publicat/ccdr-rmtc/97vol23/23s7/23s7a_f.html)

Déchets Hospitaliers Environnement et économie : la prise de conscience

[pb@paulbecquart.fr](mailto:pb@paulbecquart.fr) [www.paulbecquart.fr](http://www.paulbecquart.fr)

# *Annexes*

**Annexe 01. Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 E**

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	$\beta$ galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dehydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu vert/bleu
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/ grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
UREE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND 2 min max	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1 + VP2 10 min	
			Incolore	Rose/ rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome oxydase	Disques d'Ox / 5-10 min	
			Incolore	Coloration violette

## Annexe 02. Technique de la coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration différentielle qui permet la distinction des bactéries Gram (+) et Gram (-) sur la base de différence de composition chimique et d'ultra-structure des parois cellulaires.

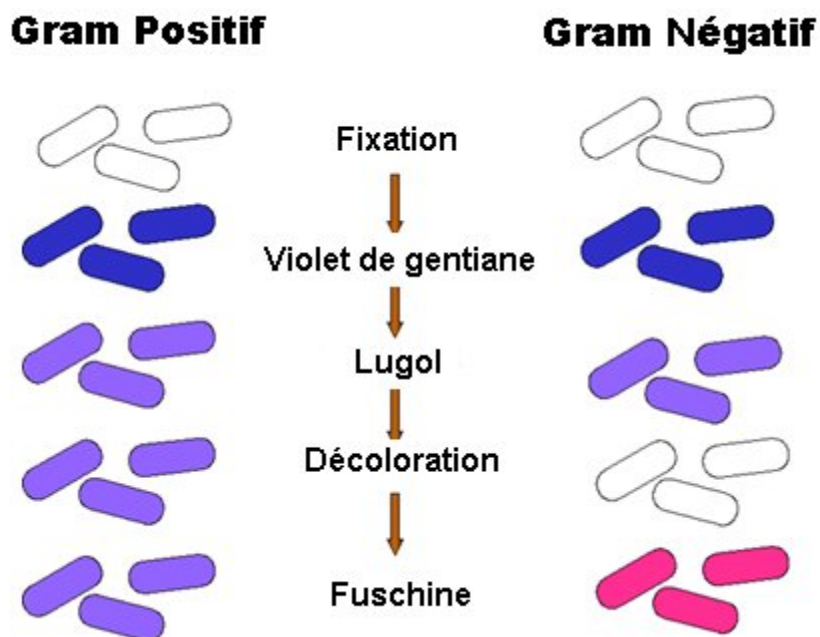
### Technique

- Réaliser sur une lame propre un frottis puis le fixer.
- Recouvrir la lame de violet de gentiane phénique pendant 1 minute.
- Recouvrir la lame d'une solution de lugol durant 30 secondes.
- Laver la lame à l'éthanol jusqu'à ce que la dernière goutte soit transparente.
- Laver rapidement à l'eau et recouvrir la lame de fuschine phénique pendant 10 secondes
- Laver abondamment à l'eau.
- Sécher la lame à l'aide d'un papier buvard.

L'observation s'effectue à immersion (objectif  $\times 100$ ) après avoir déposer une goutte d'huile de cèdre sur la lame (observation à immersion).

### Lecture

Les bactéries Gram négatif apparaissent colorées en rose tandis que les bactéries Gram positives sont colorées en violet.



**Annexe 03.** Résistances naturelles aux  $\beta$  lactamines des espèces de bacilles non exigeants (Cavallo et al., 2004).

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

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

**Annexe 04. Liste des antibiotiques testés sur les entérobactéries charge des disques et classification**

**Conditions du test :**

**Milieu : Mueller Hinton**

**Inoculum : Colonies en suspension**

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

**Control de qualité**

***Escherichia coli* ATCC25922**

<b>Antibiotiques</b>	<b>Abréviation</b>	<b>Charge du disque</b>	<b>Classe</b>
Ampicilline	AM	10 µg	β-lactames (famille des pénicillines)
Amoxicilline/acide clavulanique	AMC	20/10 µg	β-lactames (famille des pénicillines et des clavames)
Céfazoline	CF	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 1 <sup>ère</sup> génération)
Cefoxitine	FOX	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 2 <sup>ème</sup> génération)
Ceftazidime	CAZ	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 3 <sup>ème</sup> génération)
Céfotaxime	CTX	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 3 <sup>ème</sup> génération)
Imipenème	IMP	10 µg	β-lactames (famille des carbapénèmes)
Amikacine	AN	30 µg	Aminosides
Gentamicine	GM	10 µg	Aminosides
Acide nalidixique	NA	30 µg	Quinolones
Ciprofloxacine	CIP	5 µg	Fluoroquinolones
Ofloxacine	OFX	5 µg	Fluoroquinolones
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)	SXT	1,25/23,75 µg	Sulfamides/diaminopyridine

**Annexe 05. Liste des antibiotiques testés sur *Enterococcus sp* charge des disques et classification**

**Conditions du test :**

**Milieu :** Mueller Hinton

**Inoculum :** Colonies en suspension

**Incubation :** 37°C, atmosphère riche en CO<sub>2</sub>, 18 à 24h

**Control de qualité**

*Enterococcus faecalis* ATCC29212

Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Classe
Ampicilline	AM	10 UI	β-lactames (famille des pénicillines)
Gentamicine HN <sup>1</sup>	GM	120 µg	Aminosides
Streptomycine HN <sup>1</sup>	S	300 µg	Aminosides
Tétracycline	TE	30 µg	Tétracyclines
Érythromycine	E	15 µg	Macrolides
Vancomycine	VA	30 µg	Glycopeptides

**1 : Haut niveau de résistance**

**Annexe 06. Liste des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa* charge des disques et classification**

**Conditions du test :**

**Milieu : Mueller Hinton**

**Inoculum : Colonies en suspension**

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

**Control de qualité**

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

<b>Antibiotique</b>	<b>Abréviation</b>	<b>Charge du disque</b>	<b>Classe</b>
Ceftazidime	CAZ	30 µg	β-lactames (famille des céphalosporines 3 <sup>ème</sup> génération)
Imipenème	IMP	10 µg	β-lactames (famille des carbapénèmes)
Amikacine	AK	30 µg	Aminosides
Gentamicine	GM	10 µg	Aminosides
Tobramycine	TOB	10 µg	Aminosides
Ciprofloxacine	CIP	05 µg	Fluoroquinolones
Ofloxacin	OFX	5 µg	Fluoroquinolones
Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)	SXT	1,25/23,75 µg	Sulfamides/diaminopyridine

**Annexe 07. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries**

**Conditions du test :**

**Milieu : Gélose Mueller-Hinton**

**Inoculum : colonies en suspension**

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

**Contrôle de qualité :  
Escherichia coli ATCC 25922**

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

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

**Annexe 08. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus sp***

Conditions du test :

Milieu : Mueller Hinton

Inoculum : Colonies en suspension

Incubation : 37°C, atmosphère riche en CO<sub>2</sub>, 18 à 24h

Control de qualité :

*Enterococcus faecalis* ATCC29212

Antibiotiques testés	Charge de disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		résistant	Intermédiaire	sensible	résistant	sensible
<b>B-Lactamines :</b> ampicilline	10 UI	≤16	---	≥17	≥16	≤8
<b>Tetracyclines :</b> Tetracycline	30µg	≤14	15 - 18	≥19	≥16	≤4
<b>Glycopeptides :</b> Vancomycine	30µg	≤14	15 - 16	≥17	≥32	≤4
teicoplanine	30µg	≤10	11 - 13	≥14	≥32	≤8
<b>Aminosides</b> Gentamicine HN <sup>1</sup>	120µg	≤6	7 - 9	≥10	>500	≤500
Streptomycine HN <sup>1</sup>	300µg	≤6	7 - 9	≥10	---	---
<b>Fluoroquinolones :</b> levofloxacin	5µg	≤13	14 - 16	≥17	≥8	≤2
<b>Autres :</b> Erythromycine	15µg	≤13	14 - 22	≥23	≥8	≤0,5
furanes	300µg	≤14	15 - 16	≥17	≥128	≤32

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

1 : Haut niveau de résistance

**Annexe 09. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa***

Conditions du test :

Milieu : Mueller Hinton

Inoculum : Colonies en suspension

Incubation : 37°C, atmosphère ordinaire, 24h

Control de qualité

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Antibiotiques testés	Charge de disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		résistant	intermédiaire	sensible	résistant	sensible
<b>B-Lactamines :</b>						
Ticarcilline	75µg	≤14	–	≥15	≥128	≤64
Ticarcilline + Ac. Clavulanque	75/10µg	≤14	–	≥15	≥128/2	≤64/2
Piperacilline	100µg	≤17	–	≥18	≥128	≤64
Ceftazidime	30µg	≤14	15 - 17	≥18	≥32	≤8
Aztreonam	10µg	≤15	16 - 21	≥22	≥32	≤8
Imipenem	10µg	≤13	14 - 15	≥16	≥16	≤4
<b>Aminosides</b>						
Amikacine	30µg	≤14	15 – 16	≥17	≥32	≤16
Gentamicine	10µg	≤12	13 – 14	≥15	≥8	≤4
Tobramycine	10µg	≤12	13 - 14	≥15	≥8	≤4
<b>Quinolones :</b>						
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16 – 20	≥21	≥4	≤1
<b>Tétracyclines :</b>						
tétracycline	30µg	≤14	15 – 18	≥19	≥16	≤4
<b>Autres</b>						
Chloramphénicol	30µg	≤12	13 – 17	≥18	≥32	≤8
Rifampicine	30µg	≤14	14 – 18	≥19	≥16	≤4
Fosfomycine	50µg	<14	-	>14	≥32	≤32
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤10	11 - 15	≥16	≥8/152	≤2/38

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

**Annexe 10. Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.**

Antibiotiques testés	Charge de disques	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Amikacine	30µg	19 – 26	20 – 26	18 - 26
Amoxicilline + Ac clavulanique	20/10µg	18 – 24	---	---
Ampicilline	10µg	16 – 22	---	---
Azithromycine	15µg	---	---	---
Acide nalidixique	30µg	22 – 28	---	---
Aztreonam	30µg	---	---	23 - 29
Céfazoline	30µg	21 – 27	---	---
Cefalotine	30µg	15 – 21	---	---
Cefoxitine	30µg	23 – 29	23 – 29	---
Céfotaxime	30µg	29 - 35	---	---
Ceftriaxone	30µg	29 - 35	---	17 – 23
Ceftazidime	30µg	---	---	22 – 29
Ciprofloxacine	5µg	30 – 40	---	25 – 33
Chloramphénicol	30µg	21 – 27	19 – 26	---
Clindamycine	2µg	---	24 – 30	---
Doxycycline	30µg	18 – 24	23 – 29	---
Erythromycine	15µg	---	22 – 30	---
Fosfomycine	200µg	22 – 30		
furanes	300µg	20 - 25	---	---
Gentamicine**	10µg	19 – 26	19 – 27	16 - 21
Imipenem	10µg	26 – 32	---	20 – 28
Kanamycine	30µg	---	19 – 26	---
Levofloxacine	5µg	---	---	---
Nétilmicine	30µg	---	---	17 - 23
Ofloxacine	5µg	---	24 – 28	---
Oxacilline	1µg	---	18 - 24	---
Pénicilline	10UI	---	26 - 37	---
Piperacilline	100µg	---	---	25 – 33
Rifampicine	5µg	---	26 - 34	---
Spectinomycine	100µg	---	---	---
Tétracycline	30µg	---	24 - 30	---
Ticarcilline	75 µg	---	---	21 – 27
Ticarcilline+Ac Clavulanique	75/10µg	---	---	20 – 28
tobramycine	10µg	---	---	19 – 25
Trimethoprime + Sulfamethxazole	1.25/23.75µg	23 – 29	24 – 32	---
tiécoplanine	30µg	---	15 – 21	---
vancomycine	30µg	---	17 – 21	---

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

## Annexe 11

### Résultats des paramètres physicochimiques des effluents hospitaliers

Paramètres	27/01/2011	13/02/2011	27/02/2011	06/03/2011	20/03/2011	19/06/2011
Ph	07,39	07,50	07,75	08,09	07,80	07,93
Température (°C)	08,8	08,6	08,3	09,5	12,6	14,2
Conductivité (µS/cm)	990	850	670	1000	960	970
TDS (mg/l)	125	115	108	95	143	35
Matières en suspension MES (mg/l)	55	67	65	70	75	80
DBO <sub>5</sub> (mg/l)	40	42	50	53	48	62
DCO (mg/l)	106	115	127	152	100	179
Rapport DCO/DBO <sub>5</sub>	2,65	2,73	2,54	2,86	2,08	2,88
Nitrates NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	0,324	0,415	0,456	0,526	0,567	0,523
Orthophosphates P-PO <sub>4</sub> (mg/l)	4,33	4,67	4,98	4,02	5,05	4,10

### Résultats des paramètres physicochimiques des eaux usées urbaines à l'entrée de la station d'épuration

Paramètres	23/01/2011	06/02/2011	20/02/2011	01/03/2011	13/03/2011	05/06/2011
Ph	08,5	09,00	08,5	07,00	07,8	08
Température (°C)	11,8	16,4	17,3	20,5	20,6	24
Conductivité (µS/cm)	1540	2002	1940	1720	1830	1969
TDS (mg/l)	940	878	905	850	910	740
Matières en suspension MES (mg/l)	260	239	273	247	250	270
DBO <sub>5</sub> (mg/l)	236	280	370	349	250	248
DCO (mg/l)	605	513	704,58	515,20	623	520
Nitrates NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	8,78	9,30	15,45	12,00	27,10	48
Orthophosphates P-PO <sub>4</sub> (mg/l)	18.40	20.10	22.15	18.50	17.80	20,90

### Résultats des paramètres physicochimiques des eaux usées traitées à la sortie de la station d'épuration

Paramètres	23/01/2011	06/02/2011	20/02/2011	01/03/2011	13/03/2011	05/06/2011
Ph	07,00	08,00	08,00	07,00	07,00	07,00
Température (°C)	10,00	12,00	12,3	13,5	15,6	22,2
Conductivité (µS/cm)	420	570	480	455	505	456
TDS (mg/l)	330	250	278	245	301	230
Matières en suspension MES (mg/l)	20,00	08,00	16,83	09,19	10,00	18,00
DBO (mg/l)	06,00	04,90	07,85	07,20	04,20	05,92
DCO (mg/l)	30,20	18,00	44,00	20,00	38,00	25,00
Nitrates NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	05,83	05,49	06,33	06,50	08,10	07,00
Orthophosphates P-PO <sub>4</sub> (mg/l)	10,38	11,45	12,86	11,30	09,18	11,10

## Annexe 12

### Dénombrement des indicateurs de contamination fécale dans les effluents hospitaliers

		<b>Dénombrement des indicateurs de contamination fécale</b>			
Site du prélèvement	Date des prélèvements	Numération des coliformes totaux	Numération des coliformes thermotolérants	Numération des Streptocoques fécaux	Numération des anaérobies Sulfito réducteurs
Site 1 : effluents hospitaliers	27/01/2011	$2,5 \cdot 10^5$ UFC/ml	$4,4 \cdot 10^3$ UFC/ml	$1,5 \cdot 10^3$ UFC/ml	12 UFC /20 ml
	13/02/2011	$1,75 \cdot 10^5$ UFC/ml	$6,5 \cdot 10^3$ UFC/ml	$5,6 \cdot 10^3$ UFC/ml	10 UFC /20 ml
	27/02/2011	$1,28 \cdot 10^5$ UFC/ml	$9,3 \cdot 10^3$ UFC/ml	$4,9 \cdot 10^3$ UFC/ml	18 UFC /20 ml
	06/03/2011	$8,6 \cdot 10^5$ UFC/ml	$3,3 \cdot 10^3$ UFC/ml	$1,9 \cdot 10^3$ UFC/ml	07 UFC /20 ml
	20/03/2011	$9,2 \cdot 10^5$ UFC/ml	$5,1 \cdot 10^3$ UFC/ml	$2,5 \cdot 10^3$ UFC/ml	04 UFC /20 ml
	19/06/2011	$2,89 \cdot 10^5$ UFC/ml	$1,48 \cdot 10^3$ UFC/ml	$7,6 \cdot 10^3$ UFC/ml	20 UFC /20 ml

### Dénombrement des indicateurs de contamination fécale à l'entrée de la STEP

		<b>Dénombrement des indicateurs de contamination fécale</b>			
Site du prélèvement	Date des prélèvements	Numération des coliformes totaux	Numération des coliformes thermotolérants	Numération des Entérocoques fécaux	Numération des anaérobies Sulfito réducteurs
Site 1 : eaux usées brutes à l'entrée de la station d'épuration	23/01/2011	$1,48 \cdot 10^7$ UFC/ml	$2,22 \cdot 10^5$ UFC/ml	$2,6 \cdot 10^4$ UFC/ml	50 UFC /20 ml
	06/02/2011	$4,5 \cdot 10^7$ UFC/ml	$1,25 \cdot 10^5$ UFC/ml	$2 \cdot 10^4$ UFC/ml	48 UFC /20 ml
	20/02/2011	$1,78 \cdot 10^7$ UFC/ml	$8,5 \cdot 10^5$ UFC/ml	$1,98 \cdot 10^4$ UFC/ml	25 UFC /20 ml
	01/03/2011	$2,83 \cdot 10^7$ UFC/ml	$1,20 \cdot 10^5$ UFC/ml	$7,9 \cdot 10^4$ UFC/ml	32 UFC /20 ml
	13/03/2011	$1,95 \cdot 10^7$ UFC / ml	$9,1 \cdot 10^5$ UFC/ml	$9,5 \cdot 10^4$ UFC/ml	56 UFC /20 ml
	05/06/2011	$2,89 \cdot 10^7$ UFC / ml	$1,98 \cdot 10^5$ UFC/ml	$2,8 \cdot 10^4$ UFC/ml	46 UFC /20 ml

### Dénombrement des indicateurs de contamination fécale à la sortie de la STEP

		<b>Dénombrement des indicateurs de contamination fécale</b>			
Site du prélèvement	Date des prélèvements	Numération des coliformes totaux	Numération des coliformes thermotolérants	Numération des Streptocoques fécaux	Numération des anaérobies Sulfito réducteurs
Site 2 : eaux usées traitées à la sortie de la station d'épuration	23/01/2011	$1,50 \cdot 10^5$ UFC/ml	$5,2 \cdot 10^3$ UFC/ml	$3 \cdot 10^3$ UFC/ml	10 UFC /20 ml
	06/02/2011	$1,25 \cdot 10^5$ UFC/ml	$9,5 \cdot 10^3$ UFC/ml	$8,2 \cdot 10^3$ UFC/ml	12 UFC /20 ml
	20/02/2011	$2,08 \cdot 10^5$ UFC/ml	$6,3 \cdot 10^3$ UFC/ml	$5,9 \cdot 10^3$ UFC/ml	15 UFC /20 ml
	01/03/2011	$9,8 \cdot 10^5$ UFC/ml	$1,20 \cdot 10^3$ UFC/ml	$7,9 \cdot 10^3$ UFC/ml	08 UFC /20 ml
	13/03/2011	$8,7 \cdot 10^5$ UFC/ml	$7,1 \cdot 10^3$ UFC/ml	$3,5 \cdot 10^3$ UFC/ml	14 UFC /20 ml
	05/06/2011	$1,89 \cdot 10^5$ UFC/ml	$1,08 \cdot 10^3$ UFC/ml	$6,8 \cdot 10^3$ UFC/ml	09 UFC /20 ml

**Annexe 13. Identification des indicateurs de contamination fécale dans les effluents hospitaliers**

		<b>Isolements sur milieux spécifiques, reprise arbitraire de 10 colonies et identifications des biotypes</b>	
<b>Site du prélèvement</b>	<b>Date des prélèvements</b>	<b>Les coliformes totaux</b>	<b>Les coliformes thermotolérants</b>
<b>Site 3 : effluents hospitaliers</b>	27/01/2011	<i>Escherichia coli</i> 05 biotypes <i>Klebsiella pneumoniae</i> 02 biotypes <i>Enterobacter cloacae</i> 03 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 08 biotypes <i>Enterobacter cloacae</i> 02 biotypes
	13/02/2011	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 01 biotype <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	27/02/2011	<i>Escherichia coli</i> 06 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 04 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 08 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotypes
	06/03/2011	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotypes <i>Serratia marcescens</i> 01 biotype	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	20/03/2011	<i>Escherichia coli</i> 04 biotypes <i>Klebsiella pneumoniae</i> 02 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 04 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	19/06/2011	<i>Escherichia coli</i> 05 biotypes <i>Enterobacter aerogenes</i> 02 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 03 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 03 biotypes

## Annexe 14. Identification des indicateurs de contamination fécale à l'entrée de la STEP

		Isolements sur milieux spécifiques, reprise arbitraire de 10 colonies et identifications des biotypes	
Site du prélèvement	Date des prélèvements	Les coliformes totaux	Les coliformes thermotolérants
Site 1 : eaux usées brutes à l'entrée de la station d'épuration	23/01/2011	<i>Escherichia coli</i> 06 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 02 biotypes <i>Enterobacter cloacae</i> 01 biotypes <i>Hafnia alvei</i> 01 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	06/02/2011	<i>Escherichia coli</i> 05 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 02 biotype <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotype <i>Enterobacter cloacae</i> 01 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 03 biotypes
	20/02/2011	<i>Escherichia coli</i> 04 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 04 biotype <i>Yersinia enterocolitica</i> 01 biotype <i>Enterobacter cloacae</i> 01 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 08 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotype
	01/03/2011	<i>Escherichia coli</i> 04 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 04 biotype <i>Serratia marcescens</i> 01 biotype <i>Morganella morganii</i> 01 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	13/03/2011	<i>Escherichia coli</i> 04 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 04 biotype <i>Enterobacter aerogenes</i> 02 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	05/06/2011	<i>Escherichia coli</i> 05 biotypes <i>Enterobacter aerogenes</i> 03 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 03 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 03 biotypes

## Annexe 15. Identification des indicateurs de contamination fécale à la sortie de la STEP

		Isolements sur milieux spécifiques, reprise arbitraire de 10 colonies et identifications des biotypes	
Site du prélèvement	Date des prélèvements	Les coliformes totaux	Les coliformes thermotolérants
Site 2 : eaux usées traitées à la sortie de la station d'épuration	23/01/2011	<i>Escherichia coli</i> 05 biotypes <i>Klebsiella pneumoniae</i> 02 biotypes <i>Enterobacter cloacae</i> 03 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 08 biotypes <i>Enterobacter cloacae</i> 02 biotypes
	06/02/2011	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 01 biotype <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotype	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	20/02/2011	<i>Escherichia coli</i> 06 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 04 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 08 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotypes
	01/03/2011	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Citrobacter freundii</i> 02 biotypes <i>Serratia marcescens</i> 01 biotype	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	13/03/2011	<i>Escherichia coli</i> 04 biotypes <i>Klebsiella pneumoniae</i> 02 biotype <i>Citrobacter freundii</i> 04 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 10 biotypes
	05/06/2011	<i>Escherichia coli</i> 05 biotypes <i>Enterobacter aerogenes</i> 02 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 03 biotypes	<i>Escherichia coli</i> 07 biotypes <i>Klebsiella oxytoca</i> 03 biotypes

## **Annexe 16. Composition des milieux de culture.**

### **Gélose Au Cétrimide**

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

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

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

### **Gélose King A**

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

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

Peptone .....	20,00	pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2
Sulfate de potassium .....	10,00	
Chlorure de magnésium. ....	1,40	Le milieu en tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la
Agar.....	15,00	date d'expiration.

### **Gélose King B**

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

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

Peptone de viande .....	10,00	pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2
Peptone de caséine .....	10,00	Le milieu en tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la
Phosphate dipotassique..	1,50	date d'expiration indiquée sur l'emballage.
Sulfate de magnésium....	1,50	
Agar.....	15,00	

### Milieu de Chapman

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

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

Peptone de viande.....	10,00	pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2
Extrait de viande de bœuf.....	1,00	Le milieu en flacons se conserve entre 15 et
D-mannitol.....	10,00	25°C et les boîtes entre 2 et 8°C jusqu'à la date
Chlorure de sodium.....	75,00	d'expiration indiquée sur l'emballage.
Rouge de phénol.....	0,025	
Agar.....	15,00	

### Eau Peptonée

L'eau peptonée tamponnée est recommandée pour la récupération de *Salmonella* dans les aliments avant enrichissement sélectif et isolation.

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

Peptone de caséine.....	10,00	pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2
Chlorure de sodium.....	5,00	
Phosphate de sodium, dibasique, 12H <sub>2</sub> O.....	9,00	Le milieu en flacons, tubes ou poches se
Phosphate de potassium, dibasique.....	1,50	conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date
		d'expiration indiquée sur l'emballage.

### Gélose Hektoen

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

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

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

pH final à 25°C : 7,5 ± 0,2

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve à l'obscurité entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration

### **Gélose Mueller Hinton**

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides. Sa formulation est conforme aux recommandations du de l'O.M.S.

Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles, tels que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria*, *Enterococcus sp* et *Streptococcus pneumoniae*.

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

Infusion de bœuf.....	300,00	pH final à 25°C : 7,3 ± 0,2
Peptone de caséine.....	17,50	Le milieu en flacons ou boîtes se conserve entre 2
Amidon.....	1,50	et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur
Agar.....	17,00	l'emballage.

### **Bouillon Nutritif**

Le Bouillon Nutritif est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Il est recommandé dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

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

Peptone .....	5,00	pH final à 25°C : 6,8 ± 0,2
Extrait de viande de bœuf.....	3,00	

Le milieu en flacons ou tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

### **Gélose Nutritive**

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

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

Peptone .....	5,00	pH final à 25°C : 6,8 ± 0,2
Extrait de viande de bœuf.....	3,00	
Agar.....	15,00	

Le milieu en flacons et tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage. Le milieu en boîtes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

### **Gélose au T.T.C. et au Tergitol 7**

La Gélose au T.T.C. et Tergitol 7 est utilisée pour l'isolement et le dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants dans les eaux par la technique de filtration sur membrane.

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

Peptone .....	10,00	pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2
Extrait de levure.....	6,00	
Extrait de viande.....	5,00	Le milieu en flacons se conserve à l'obscurité entre
Lactose.....	20,00	15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur
Tergitol 7.....	0,10	l'emballage.
Bleu de bromothymol.....	0,05	
Agar.....	10,00	

### **Solution Stérile de T.T.C.**

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

Chlorure de 2-3-5-triphényl-2H-tétrazolium  
Eau distillée

Les tubes se conservent entre 2 et 8°C et à l'obscurité jusqu'à la date d'expiration.  
Le TTC est photolabile et devient jaune sous l'effet de la lumière.

### **Gélose de SLANETZ et BARTLEY (base pour)**

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

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

Tryptone.....	20,00	pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2
Extrait de levure.....	5,00	
Glucose.....	2,00	Le milieu en flacons se conserve entre 2 et 8°C à
Phosphate dipotassique.....	4,00	l'obscurité jusqu'à la date d'expiration indiquée sur
Azide de sodium.....	0,40	l'emballage.
Agar.....	10,00	

### **Gélose Trypticase-Soja**

La gélose Trypticase-Soja (TSA) est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de micro-organismes.

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

Peptone de caséine.....	15,00	pH final à 25°C : 7,3 ± 0,2
Peptone de soja .....	5,00	Le milieu en tubes, flacons ou boîtes se conserve entre 15 et 25°C.
Chlorure de sodium .....	5,00	
Agar.....	15,00	Le milieu additionné de sang se conserve entre 2 et 8°C.

### **Gélose TSI (Triple Sugar Iron)**

La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d'H<sub>2</sub>S.

Son utilisation est recommandée pour la recherche de *Salmonella* dans les produits pharmaceutiques, et pour la recherche de *Salmonella* et *Campylobacter* dans les aliments.

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

Peptone.....	20,00	Chlorure de sodium.....	5,00
Extrait de bœuf.....	3,00	Citrate ferrique ammoniacal.....	0,30
Extrait de levure.....	3,00	Thiosulfate de sodium.....	0,30
Saccharose.....	10,00	Rouge de phénol.....	0,025
Lactose.....	10,00	Agar.....	12,00
Glucose monohydraté.....	1,00		

pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2

Le milieu en tubes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

### **Bouillon Sélénite Cystine**

Le bouillon Sélénite Cystine est utilisé pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* dans les selles ou les denrées alimentaires. Il est recommandé par l'AOAC et la Pharmacopée Américaine.

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

Tryptone.....	5,00	pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2
Lactose.....	4,00	
Sélénite acide de sodium.....	4,00	Le milieu en flacons ou en tubes se conserve à l'obscurité entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.
Phosphate disodique.....	10,00	
L-cystine.....	0,01	

### **Gélose *Salmonella-Shigella* (S.S.)**

La gélose *Salmonella-Shigella* (S.S.) est utilisée pour l'isolement sélectif des *Salmonella* et des *Shigella* dans les prélèvements cliniques (selles) et les denrées alimentaires.

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

Protéose peptone.....	5,00	Citrate ferrique ammoniacal.....	1,00
Extrait de viande de bœuf.....	5,00	Thiosulfate de sodium.....	8,50
Lactose.....	10,00	Rouge neutre.....	0,025
Sels biliaires N° 3.....	8,50	Vert brillant.....	0,00033
Citrate de sodium.....	8,50	Agar.....	13,50

pH final à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve à l'obscurité entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

### **Gélose Viande-Foie complète**

La gélose Viande-Foie complète est recommandée pour la recherche et le dénombrement de spores de Clostridia sulfite-réducteurs dans les produits alimentaires.

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

Peptone viande-foie.....	20,00	Sulfite de sodium.....	1,20
Glucose.....	0,75	Citrate ferrique ammoniacal.....	0,50
Amidon soluble.....	0,75	Agar.....	11,00

pH final à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$

Le milieu en flacons ou en tubes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

# *Résumés*

## **Etude microbiologique des effluents hospitaliers de la wilaya de Khenchela (Cas de l'établissement hospitalier 120 lits)**

### **Résumé**

La dissémination de souches bactériennes résistantes dans l'environnement naturel peut avoir des conséquences non négligeables sur la santé publique et sur les milieux écologiques. En Algérie, les centres hospitaliers rejettent de grandes quantités d'eau chargées de produits chimiques souvent toxiques et parfois radioactifs, et des microorganismes dont certains sont multi-résistants. La gestion et le traitement de ces déchets liquides permettent parfois leur propagation dans l'environnement.

Le but de ce travail est de faire un état des lieux sur le niveau de contamination en bactéries fécales et pathogènes antibiorésistantes dans les eaux usées de l'Etablissement hospitalier 120 lits Khenchela et d'évaluer les risques potentiels liés à leur dissémination.

Pour cela nous avons utilisé les méthodes normalisées pour la culture et l'identification de la flore des effluents hospitaliers, la détermination des profils de résistance à quelques antibiotiques fréquents a nécessité la réalisation d'antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé par écouvillonnage.

Nos résultats mettent en évidence de façon systématique la présence de bactéries fécales ayant acquis des caractères de résistance aux antibiotiques et de façon ponctuelle des souches typiquement hospitalières.

La station d'épuration étudiée semble réduire la charge globale des bactéries fécales sans modifier leur profil d'antibiorésistance, elle est seulement équipée d'un traitement secondaire par boues activées, le traitement tertiaire est non fonctionnel.

L'émission de ces bactéries antibiorésistantes dans l'environnement aquatique, par le rejet d'eau usée, ou dans le sol, par l'épandage de boues d'épuration, pourrait constituer une source non négligeable de pollution microbiologique.

**Mots clés :** effluents hospitaliers, bactéries multirésistantes, pollution microbiologique.

## **Microbiological study of hospital effluents of the wilaya of Khenchela (Case of hospital 120 beds)**

### **Abstract**

Dissemination of resistant bacterial strains in the natural environment can have a significant impact on public health and environmental circles. In Algeria, hospitals release large amounts of water loaded with chemicals often toxic and sometimes radioactive, and microorganisms including some multi-resistant. Management and treatment of these liquid wastes sometimes enable their spread in the environment

The aim of this work is to make a status report on the contamination level in antibiotic-resistant fecal bacteria and pathogens in sewage of the hospital 120 beds Khenchela and assess potential risks to their release.

For this we used the standard methods for culture and identification of the flora of hospital wastewater, the determination of resistance patterns to some common antibiotics required the realization of antibiograms by the diffusion method in agar by swabbing.

Our results show consistently the presence of fecal bacteria that have acquired antibiotic resistance traits and timely manner typical hospital strains.

The wastewater treatment plant studied appears to reduce the overall burden of fecal bacteria without altering the profile of antibiotic resistance, it is only equipped with an activated sludge secondary treatment, tertiary treatment is non-functional

Moreover, the issue of these antibiotic-resistant bacteria in the aquatic environment, the discharge of waste water, or soil, by the spreading of sewage sludge, could be a significant source of microbial pollution.

**Keywords:** hospital effluents, multiresistants bacteria, microbiological pollution.

## دراسة ميكروبيولوجية للنفايات السائلة لمستشفيات ولاية خنشلة (حالة المستشفى 120 سريرا)

### ملخص

إن انتشار السلالات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية في البيئة لها تأثير كبير لا يمكن الاستهانة به سواء على الصحة العامة أو الوسط البيئي.

في الجزائر، تطرح المراكز الإستشفائية كميات كبيرة من المياه المحملة بالمواد الكيميائية السامة و في بعض الأحيان مواد مشعة بالإضافة إلى كائنات دقيقة متعددة المقاومة للمضادات الحيوية . إن تسيير و معالجة هذا النوع من النفايات السائلة يسمح أحيانا من انتشارها في البيئة.

الهدف من هذا العمل هو تقديم تقرير عن مستوى التلوث بالبكتيريا البرازية والبكتيريا المرضية المقاومة للمضادات الحيوية المنتشرة في مياه الصرف الصحي بمستشفى 120 سريرا خنشلة و تقييم الأخطار المحتملة لانتشارها في البيئة .

لهذا الغرض استعملنا الأساليب الموافقة للمعايير المتفق عليها علميا للتعرف على المجموعات البكتيرية لمياه الصرف الصحي وتحديد أنماط المقاومة لديها لبعض المضادات الحيوية الشائعة

نتائج التجارب المطبقة على مياه الصرف الصحي برهنت وجود سلالات بكتيرية برازية اكتسبت خصائص المقاومة للمضادات الحيوية .

يبدو إن محطة معالجة مياه الصرف تحد من العبء الإجمالي للبكتيريا البرازية دون تغيير المقاومة للمضادات الحيوية، فهي فقط مجهزة بعلاج الحمأة المنشطة الثانوية.

هذه النتائج تحذر من وجود مسببات مرضية مقاومة في المياه السطحية التي تشكل خطر صحي يمكن أن يكون عاملا قويا للتخفيف من الخصائص العلاجية أثناء الإصابة بعدوى

وفي المقابل فإن انتشار هذه البكتيريا المتعددة المقاومة في المحيط المائي من خلال تصريف مياه الصرف الصحي أو في التربة، يمكن أن تكون مصدرا كبيرا للتلوث الجرثومي.

**الكلمات المفتاحية :** النفايات السائلة في المستشفى، البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية ، التلوث الميكروبيولوجي

Nom : CHORFI

Prénom : Keltoum

Date de soutenance : 27/ 11 /2012

## Magistère en Microbiologie

### Etude microbiologique des effluents hospitaliers de la willaya de Khenchela (Cas de l'établissement hospitalier 120 lits)

#### Résumé

La dissémination de souches bactériennes résistantes dans l'environnement naturel peut avoir des conséquences non négligeables sur la santé publique et sur les milieux écologiques. En Algérie, les centres hospitaliers rejettent de grandes quantités d'eau chargées de produits chimiques souvent toxiques et parfois radioactifs, et des microorganismes dont certains sont multi-résistants. La gestion et le traitement de ces déchets liquides permettent parfois leur propagation dans l'environnement

Le but de ce travail est de faire un état des lieux sur le niveau de contamination en bactéries fécales et pathogènes antibiorésistantes dans les eaux usées de l'Etablissement hospitalier 120 lits Khenchela et d'évaluer les risques potentiels liés à leur dissémination.

Pour cela nous avons utilisé les méthodes normalisées pour la culture et l'identification de la flore des effluents hospitaliers, la détermination des profils de résistance à quelques antibiotiques fréquents a nécessité la réalisation d'antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé par écouvillonnage.

Nos résultats mettent en évidence de façon systématique la présence de bactéries fécales ayant acquis des caractères de résistance aux antibiotiques et de façon ponctuelle des souches typiquement hospitalières.

La station d'épuration étudiée semble réduire la charge globale des bactéries fécales sans modifier leur profil d'antibiorésistance, elle est seulement équipée d'un traitement secondaire par boues activées, le traitement tertiaire est non fonctionnel.

L'émission de ces bactéries antibiorésistantes dans l'environnement aquatique, par le rejet d'eau usée, ou dans le sol, par l'épandage de boues d'épuration, pourrait constituer une source non négligeable de pollution microbiologique.

**Mots clés :** effluents hospitaliers, bactéries multirésistantes, pollution microbiologique.

#### *Devant le jury*

Président :	<b>M. DARBOUCHE A. (Prof)</b>	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
Encadreur :	<b>M<sup>me</sup> BENDJEMANA K (MCA)</b>	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
Examineurs :	<b>M. HOUHAMDI M. (Prof)</b>	Univ. 08 Mai 1945 – Guelma
	<b>M. BOUDEMAGH A. (MCA)</b>	Univ. Mentouri - Constantine