

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie

Cellulaire

Mémoire de fin d'étude en vue d'Obtention

Diplôme de Master en Sciences de la Nature et

de la Vie

Filière : Sciences Biologique

Option : Microbiologie-Bactériologie



Thème

**Isolement, identification et profils de résistance des
Enterobacteriaceae isolées des effluents hospitaliers**

Présenté par :

Soutenu le : 29/06/2016

Melle BOUZELOUF Ahlem

Melle SERIR Hanna

Devant le jury composé de

Présidente	Mme Bokreta S.	MAB	Université Blida1
Examinatrice	Mme Meklat A.	MCA	Université Blida 1
Promotrice	Mme Hamaidi F.	MCA	Université Blida 1
Co-promotrice	Mme Demiai A.	Doctorante	Université Blida 1

Année universitaire 2015/2016

Remerciements

Louanges à Dieu qui nous a donné l'esprit, la volonté, le courage et le savoir pour réaliser ce travail.

Nous tenons d'abord à remercier Mme HAMAIDI, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils, son aide, sa suggestion sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de cette étude.

Nous tenons à remercier Mme BOKRETA pour avoir accepté de présider le jury. Nous remercions Mme MEKLAT d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier le personnel de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida : Mme BEN AHMED, Melle Khadija, Melle Nawel, Khalti Yamina.

Nous tenons à remercier Mr TEFALI qui a fait tout son possible pour nous faciliter la tâche pendant notre stage.

Nous tenons également à remercier Mr HAMAIDI le responsable de l'option.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de l'hôpital Brahim Tiriçine, Frantz Fanon et Ben Bouali surtout Mr Tahar.

A toutes les personnes citées et les autres que nous aurons pu oublier.



Dédicace

A ma chère mère

Ma douce et tendre mère. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi

A mon cher père

Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin. Sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde.

A mes chers frères

*Mohamed, Abdeslam, Hossine, Hassan
J'ai beaucoup apprécié l'estime et l'amour fraternel que vous me portez. Que Dieu vous préserve.*

A ma sœur Radia

Vers laquelle j'ai un grand respect.

*A vous les petits anges, Lina, Abdellah,
Mohamed, Khalil, Serine*

Que Dieu tout puissant vous donne longue vie, beaucoup de santé et vous préserve du mal

A toute ma famille

*A tous mes camarades de promotion,
surtout Wided, Zola, Somia, Asma*

A ma chère amie houda

*A ma chère binôme pour sa patience et pour
l'amitié qu'elle me porte*

Hanna



*Je dédie cet humble travail avec grand amour, sincérité
et fierté*

A ma chère mère : affable, honorable, aimable. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pou mon bien etre et mon instruction, je vous remercie pour tous le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mon chère père : source d'amour d'affection, de générosité et de sacrifices. Tu étais toujours la pres de moi pour me soutenir, m'encourager et me guider avec tes précieux conseils. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'admiration que je porte au grand homme que vous etes.

A ma sœur Khadidja et mon frère Takí eddine pour leur patience, leurs sentiments d'amour aux moments difficiles. Je vous souhaite plein de succès, de joie et de bonheur, que le bon dieu vous garde et illumine vos chemins.

A mon cher Mahmoud pour son soutien moral, sa gentillesse sans égal, son aide et son profond attachement m'ont permis de réussir mes études. A ma belle-famille, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de prospérité.

A tous les membres de ma famille, petits et grands, veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

A mes chères amies surtout widded, Fatima Zohra et Soumia, tous mes camarades en le remerciant pour l'amitié qui nous a toujours unis.

A mon binôme Hanna que j'ai passé avec elle de très belles années et que j'ai partagé des moments spécieux à qui je souhaite la réussite et le bonheur ainsi qu'a toute sa famille.

Ahlem

Résumé

Cette étude a pour but de traiter les profils de résistance vis-à-vis de 20 antibiotiques chez les *Enterobacteriaceae* isolées des eaux usées de trois établissements hospitaliers.

Un total de 48 bactéries entériques a été détecté, 21 souches sont isolées à partir des effluents de l'hôpital de Hassiba Ben Bouali ex Ben Boulaïd, 16 souches des eaux usées de l'hôpital de Frantz Fanon et 11 souches des eaux usées de l'hôpital de Brahim Tirichine ex Fabourg.

Parmi les isolats, 10 souches de *Klebsiella ornithinolytica* (20,83%), 5 souches d'*E. coli* et *Citrobacter Koseri/ farmeri* (10,41%), 4 souches de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* et *Serratia odorifera 1* (8,33%), 3 souches de *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* et *Serratia marcescens* (6,25%), 2 souches de *Klebsiella terrigena* et *Enterobacter sakazakii* (4,16%).

Une souche (2,08%) pour *Citrobacter youngae*, *Citrobacter braakii*, *Leclercia adecarboxylata*, *proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri* et le genre de *Salmonella* qui est représenté par *Salmonella arizonae* et *Salmonella spp.*

Toutes les souches isolées ont montré un taux de résistance élevée vis-à-vis de 20 antibiotiques testés spécialement aux bêta-lactamines 100% de résistance pour la pénicilline et l'ampicilline et un taux important de 70%-100% de résistance vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques, à l'exception du chloramphénicol et l'ofloxacine avec un pourcentage faible de résistance (25%).

Le calcul de l'indice Multiple Antibiotic Resistance (MAR) a montré que tous les isolats bactériens ont une valeur supérieure à 0,2 ce qui indique que les souches ont été exposé a plusieurs antibiotiques. Les valeurs calculées de cet indice par rapport aux sites varient entre 0,67 et 0,75 indiquant une source de risque élevée de contamination d'origine humaine.

Mots clés :

Enterobacteriaceae, résistance, antibiotique, établissements hospitaliers, indice MAR (multiple antibiotic resistance).

ملخص

تهدف هذه الدراسة الى معالجة موضوع حساسية *Enterobacteriaceae* لعشرين مضاد حيوي معزولة من مياه الصرف لثلاث مؤسسات صحية .

48 بكتيريا معوية تم عزلها ، موزعة كالآتي : 21 عينة من مستشفى حسبية بن بو علي ، 16 عينة من مستشفى فرانز فانون و 11 عينة من مستشفى براهيم تريشين.

لقد قمنا بعزل 10 سلالات (20.83%) من *Klebsiella ornithinolytica*، 5 سلالات (10.41%) من *E. coli* و *Citrobacter Koseri/farmeri*، 4 سلالات (8.33%) من *Klebsiella pneumoniae* و 1 *Serratia odorifera*، 3 سلالات (6.25%) من *Klebsiella oxytoca* ، *Citrobacter freundii* و *Serratia marcescens*، سلالتين (4.16%) من *Klebsiella terrigena* و *Enterobacter sakazakii* . سلالة (2.08%) من *Citrobacter braakii* ، *Citrobacter youngae* ، *Leclercia adecarboxylata* ، *Proteus vulgaris* و نوع *Salmonella* ممثل في *Salmonella spp* و *Salmonella arizonae*.

كل السلالات كشفت عن نسبة عالية للمقاومة ضد 20 مضاد حيوي خصوصا للبيتا لاكتامين 100% مقاومة ضد البنسيلين و الامبسيلين و نسبة معتبرة من 70-100% للمضادات الحيوية الاخرى باستثناء الكلورامفينيكول و الافلوكساسين بنسبة مقاومة 25% .

مع ذلك قد ادى الكشف عن المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية للبكتيريا المعوية المعزولة من مختلف مياه الصرف الصحي الى الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية و النشاطات المختلفة للانسان.

الكلمات المفتاحية

Enterobacteriaceae - المقاومة - المضادات الحيوية - مياه الصرف للمؤسسات الصحية - المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية.

Abstract

This study aims to treat the antibiotic resistance profiles in *Enterobacteriaceae* family isolates from wastewater of three hospitals.

A total of 48 enteric bacteria was detected. 21 strains are isolated from wastewater of Hassiba Ben Bouali hospital, 16 strains of Frantz Fanon hospital and 11 strains of Brahim Tirichine hospital.

From the isolates, there are 10 strains of *Klebsiella ornithinolytica* (20.83%), 5 strains of *E. coli* and *Citrobacter koseri / farmeri* (10.41%), 4 strains of *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* and *Serratia odorifera 1* (8.33%), 3 strains of *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens* (6.25%), 2 strains of *Klebsiella terrigena* and *Enterobacter sakazakii* (4.16%).

One strain (2.08%) of *Citrobacter youngae*, *Citrobacter braakii*, *Leclercia adecarboxylata*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri* and type of *Salmonella*, which is represented by *Salmonella arizonae* and *Salmonella spp*, were detected.

All isolates showed high resistance rate to 20 antibiotics tested specifically to beta-lactam antibiotics, 100% resistance to penicillin and ampicillin and an important rate of 70% -100% resistance to the other antibiotics, except chloramphenicol and ofloxacin with a small percentage of resistance (25%).

The calculation of the index Multiple Antibiotic Resistance (MAR) showed that all the bacterial isolates have a value greater than 0.2 which indicates that the strains have been exposed to several antibiotics. The calculated values of this index compared to sites vary between 0.67 and 0.75 indicating a source of high risk of contamination of human origin.

Key words

Enterobacteriaceae, resistance, antibiotics, hospitals, MAR (multiple antibiotic resistance).

LISTE DES ABREVIATIONS

- ❖ **AM** : Ampicilline.
- ❖ **AMC** : Amoxicilline/ acide clavulanique.
- ❖ **AT** : Aztréonam.
- ❖ **ATB** : Antibiotique.
- ❖ **BCPL** : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol.
- ❖ **BLSE** : β -lactamase à spectre élargi.
- ❖ **BMR** : Bactéries multi-résistantes.
- ❖ **BSI** : Bouillon sélénite-cystéine.
- ❖ **C** : Chloramphénicol.
- ❖ **C bra** : *Citrobacter braakii*.
- ❖ **C fre** : *Citrobacter freundii*.
- ❖ **C KF** : *Citrobacter Koseri/ farmeri*.
- ❖ **CRO** : Céftriaxone.
- ❖ **CTX** : Céfotaxime.
- ❖ **CZ** : Céfazoline.
- ❖ **C young** : *Citrobacter youngae*.
- ❖ **DO** : Doxycycline.
- ❖ **E saka** : *Enterobacter sakazakii*.
- ❖ **ESC** : *Escherichia coli*.
- ❖ **FA** : Acide fusidique.
- ❖ **H** : Hecktoen.
- ❖ **IMP** : Imipenème.
- ❖ **K** : Kanamycine.
- ❖ **K or** : *Klebsiella ornithinolytica*.
- ❖ **K oxy** : *Klebsiella oxytoca*.
- ❖ **Kpn** : *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*.
- ❖ **K terri** : *Klebsiella terrigena*.
- ❖ **L** : Lincomycine.
- ❖ **L adeca** : *Leclercia adecarboxylata*.
- ❖ **MAR** : Multiple antibiotic resistance.
- ❖ **OFX** : Ofloxacine.
- ❖ **OX** : Oxacilline.
- ❖ **P** : Penicilline.
- ❖ **P vulg** : *Proteus vulgaris*.
- ❖ **RP** : Rifampicine.
- ❖ **S ariz** : *Salmonella arizonae*.
- ❖ **SFB** : Bouillon au sélénite acide de soduim.

- ❖ **S mar** : *Serratia marcescens*.
- ❖ **S odo** : *Serratia odorifera* 1.
- ❖ **S spp** : *Salmonella spp.*
- ❖ **SXT** : Trimethoprim/ sulfaméthoxazole.
- ❖ **TE** : Tétracycline.
- ❖ **TOB** : Tobramycine.
- ❖ **TSI** : Triple sugar iron.
- ❖ **P rettg** : *Providencia rettgeri*.
- ❖ **VA** : Vancomycine.

Sommaire

Introduction	1
Synthèse bibliographique	3
Chapitre I : Enterobacteriaceae.....	3
I.1 Définition.....	3
I.2 Classification.....	3
I.3 Habitat et pouvoir pathogène.....	3
I.4 Caractères bactériologiques.....	3
Chapitre II : Résistance aux antibiotiques.....	5
II.1 Définition.....	5
II.2 Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	6
II.2.1 Support génétique de la résistance.....	6
II.2.2 Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....	6
II.3 Résistance des Entérobactéries aux β -lactamines.....	6
II.3.1 Définition de β -lactamines.....	6
II.3.2 Mécanismes d'action et la résistance aux β -lactamines.....	7
II.4 Résistance aux aminosides.....	9
II.5 Résistance aux quinolones.....	9
II.6 Résistance aux autres antibiotiques.....	10
Chapitre III : Effluents hospitaliers.....	12
III.1 Bactéries multirésistantes dans le milieu aquatique.....	12
III.2 Problématique des effluents hospitaliers.....	12
III.2.1 Origine des effluents hospitaliers.....	12
III.2.2 Caractères physico-chimiques et microbiologiques des effluents hospitaliers.....	13

Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes.....	15
I.1 Matériels.....	15
I.2 Présentation de la zone d'étude et des sites de prélèvement.....	15
I.3 Prélèvements.....	17
I.4 Transport et conservation.....	17
I.5 Méthodes.....	17
I.5.1 Analyses physico-chimiques.....	19
I.5.2 Analyses bactériologiques.....	19
I.5.2.1 Dilutions.....	19
I.5.2.2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	19
I.5.2.3 Recherche des salmonelles.....	24
I.5.2.4 Isolement.....	24
I.5.2.5 Purification.....	25

I.5.2.7 Identification.....	26
I.5.2.8 Antibiogramme.....	27
I.5.2.9 Test de synergie.....	29
I.5.3 Souches de référence.....	30
I.5.4 Indice MAR (Multiple Antibiotic Resistance).....	30
I.5.5 Analyse statistique.....	30
II. Résultats et interprétation.....	32
II.1. Paramètres physiques.....	32
II.2. Dénombrement des coliformes totaux, fécaux et Salmonelles.....	33
II.3. Analyses bactériologiques.....	34
II.3.1. Isolement.....	34
II.3.2. Identification.....	34
II.4. Répartition totale des germes isolés.....	39
II.4.1. Répartition des entérobactéries détectées dans les effluents selon les différents sites de prélèvement.....	40
II.4.2. Distribution des entérobactéries dans l'ensemble des effluents étudiés.....	41
II.5. Antibiogramme.....	43
II.5.1. Résistance de l'ensemble des entérobactéries isolées des trois effluents vis-à-vis des antibiotiques.....	43
II. 5.2. Résistance globale des entérobactéries aux antibiotiques en fonction des sites.....	44
II.6. Résultats du test de synergie.....	68
II.7. Résultats du calcul de l'indice MAR.....	68
III. Discussion.....	71
Conclusion	76
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

L'eau constitue un élément essentiel dans la vie et l'activité humaine. Actuellement, l'eau participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles ce qui la rend un élément récepteur exposé à tous les genres de pollution. Dès lors, l'eau sera considérée comme un transporteur potentiel de maladies (**Prescott et al., 1999**).

Les principales sources de contamination des eaux de surface sont les effluents hospitaliers et également les usines de fabrication de conditionnement des médicaments (**Basse et Garric, 2007**). Les effluents générés par les activités hospitalières sont évacués au même titre que les rejets urbains classiques vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable et surtout vers les eaux de surface (**Coralie et al., 2002**).

Les effluents non traités générés par les activités hospitalières peuvent contribuer largement à la dissémination des bactéries multirésistantes (BMR) dans l'environnement. Les BMR des effluents proviennent essentiellement soit des produits biologiques (sang, urines, pus, etc...) des patients colonisés (**Akoua et al., 2004, Guessennd et al. 2008**), soit de transfert horizontal de gènes de résistance entre les souches multi-résistantes infectieuses et les souches environnementales (**Thomas et al., 2007**). Ces BMR généralement responsables des infections nosocomiales peuvent se retrouver dans l'environnement en particulier dans les eaux de surface (**Senka et al., 2003 ; Mehmet et al., 2008**) et être impliquées dans les infections communautaires (**Theresa et al., 1984, Rhazi et al., 2007**).

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries à Gram négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts (**Mirabaud, 2003**). Les espèces de cette famille ont été depuis une vingtaine d'années largement exposées à une utilisation extensive des antibiotiques. Revers de la médaille, elles n'ont pas été épargnées par la résistance croissante aux molécules les plus fréquemment utilisées (**Péan et al., 2001**).

En effet, la présence de micro-organismes pathogènes entériques dans les milieux aquatiques peut être une source de maladie lorsque l'eau est utilisée pour boire, ou pour des activités récréatives ou pour l'irrigation. Le risque sanitaire est augmenté si les bactéries entériques pathogènes présentes dans les eaux sont résistantes aux antibiotiques car les infections humaines causées par ces bactéries pourraient être difficiles à traiter avec des médicaments (**Amaya et al., 2012**).

Au cours de la dernière décennie, le nombre d'études portant sur la résistance aux antibiotiques dans les effluents d'origine anthropique n'a cessé de croître, soulignant l'intérêt de la communauté scientifique pour l'étude de la dissémination de l'antibiorésistance via les

effluents anthropiques. En Algérie, très peu de travaux existent, nous citerons ceux d'**Alouache *et al.*, (2012), Benhalima *et al.*, (2015) et Khaldi *et al.*, (2015).**

Comme dans tous les pays en voie de développement, en Algérie, les effluents liquides issus des hôpitaux sont en partie rejetés dans les cours d'eau (principalement les oueds). C'est dans ce contexte que cette étude a été réalisée, elle avait pour but d'une part de quantifier, d'isoler et d'identifier les entérobactéries issues des eaux usées générées par trois établissements hospitaliers (Frantz Fanon, Ben Bouali ex Ben Boulaid et Brahim Tirichine ex Fabourg) dans la wilaya de Blida et d'autre part d'étudier le profil de résistance des différentes bactéries isolées vis-à-vis de 20 antibiotiques.

DISCUSSION

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. Elles sont très répandues, certaines ne sont retrouvées que dans l'environnement, en particulier dans les milieux humides. La plupart des genres comportent des espèces pathogènes qui provoquent des troubles dont la gravité varie énormément d'une souche à l'autre. Certaines sont responsables de maladies des végétaux et d'autres pour l'animal (**Joly et Reynaud, 2007**).

Ce groupe a été proposé pour la première fois par Rahn en 1937 qui les dénomma *Enterobacteriaceae*. Si le nom de la famille est toujours maintenu, en revanche le classement des bactéries dans la famille a beaucoup évolué (**Joly et Reynaud, 2007**).

La découverte des antibiotiques a constitué un progrès médical extraordinaire, qui a permis d'améliorer le pronostic des infections. Cependant, une résistance vis-à-vis de ces substances s'est rapidement développée et a évolué jusqu'à constituer un problème de santé important à l'échelle mondiale. Les différents résultats sur les travaux réalisés sur la microbiologie des effluents hospitaliers mettent en évidence de façon systématique la présence de germes ayant acquis des caractères de résistance aux antibiotiques et de façon ponctuelle des souches typiquement hospitalières (**LEPRAT, 1998**).

On n'a longtemps pensé qu'*E. coli* et les autres coliformes mourraient rapidement dans l'environnement aquatique limitant de ce fait leur impact en tant que réservoir hydrique de gènes de résistance. La présence de bactéries résistantes est rapportée dans les eaux continentales et côtières polluées (**Kessie, 1998**), dans les rejets de traitement des eaux usées, dans les sédiments de piscicultures et dans les effluents d'hôpitaux (**Depaola, 1995**).

La température est un paramètre abiotique dont les variations sont généralement aisées à comprendre mais qui présente une grande importance écologique. Dans cette étude, les valeurs moyennes de la température des échantillons d'eau se trouvent dans la zone admissible où l'intervalle de la température moyenne de l'eau varie entre 0°C et 30°C (**Chapman, 1996**). L'élévation de la température s'accompagne toujours d'une modification des propriétés de l'eau, car elle agit sur la densité, la viscosité, la solubilité des gaz dans l'eau, la dissociation des sels dissous, le pH, de même que sur les réactions chimiques et biochimiques ainsi que sur le développement et la croissance des organismes vivants dans l'eau et particulièrement les microorganismes (**WHO, 1987**).

Le potentiel hydrogène (ou pH) est une mesure de l'activité chimique des ions hydrogènes H^+ . D'après **Belghyti et al., (2013)**, le pH indique l'alcalinité ou l'acidité des eaux. Son rôle est capital pour la croissance des microorganismes surtout à un pH variant entre 5,5-8,5. Les valeurs du pH enregistrées durant notre étude sont dans les normes comprises entre (5,5-8,5) à l'exception du 2ème prélèvement où nous avons enregistré une valeur de 2,22 dans les effluents de l'hôpital Frantz Fanon qui est inférieure à la norme. La

diminution du pH résulterait de l'activité bactérienne et de la décomposition de la matière organique (NEAL *et al.*, 2000).

Ce paramètre conditionne l'équilibre physico-chimique et dépend des facteurs multiples, dont la température et l'origine de l'eau (Chapmand et Kimstach, 1996).

Les coliformes totaux sont des entérobactéries qui incluent des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général (sols, végétation et eau). Ce groupe bactérien est utilisé comme indicateur de la qualité microbienne de l'eau parce qu'il contient notamment des bactéries d'origine fécale, comme *Escherichia coli* (CEAEQ, 2009b). La valeur la plus élevée ($1,8 \times 10^7$ UFC/100ml) obtenue dans les effluents des trois hôpitaux est proche à celle trouvée par Ekhaïse *et al.*, en 2008 ($1,9 \times 10^7$ UFC/100ml) sur l'influence des eaux usées rejetées de CHU de Benin.

Cette charge est due à l'enrichissement des eaux usées brutes en matières organiques. Elle peut être expliquée par le fait que les eaux usées présentent constamment des variations importantes : horaires, journalières et saisonnières. Leur taux dans les effluents hospitaliers est largement important par rapport à celui des eaux résiduaires urbaines cela pourrait être dû à l'enrichissement des effluents hospitaliers en matières organiques. En effet, plus un milieu aquatique est enrichi en matières organiques assimilables, directement (production primaire) ou indirectement (apports d'eaux usées, par exemple), plus le nombre de germes aérobies mésophiles s'accroît (Rheinheimer, 1985).

Les coliformes fécaux sont des indicateurs de contamination fécale des eaux. On les retrouve dans les eaux d'égouts ainsi que dans toutes les eaux naturelles et les sols ayant subi une contamination fécale récente (OMS, 1997). La concentration moyenne des coliformes fécaux trouvés, est proche en comparaison avec celle de Bernet et Fines en 2000 dans leurs travaux sur les effluents hospitaliers du CHU de Caen (France) où la concentration moyenne en germe était de 3×10^5 UFC/100ml et avec celles des germes dans la plupart des effluents hospitaliers rapportée par les différentes études. Dans ce contexte, on citera, par exemple, la concentration de 2×10^3 et 2×10^6 coliformes fécaux par 100 ml obtenues dans les effluents d'un hôpital d'une grande ville du Sud-Est de la France trouvées par Emmanuel en 2004 et qui sont comparables à celles obtenues dans cette étude ainsi proche à ceux trouvés ($4,5 \times 10^6$ UFC/100ml) par Sadek et al en 2013 à l'hôpital de Sidi Kacem (Maroc) sur la charge bactérienne des rejets hospitaliers.

La concentration des coliformes fécaux d'un effluent hospitalier pourrait nous renseigner sur le taux d'écotoxicité de ce dernier. Par ailleurs, Emmanuel (2004) considère que la concentration en coliformes fécaux est utilisée comme un indicateur indirect de la présence massive d'antibiotiques et / ou de désinfectants.

Toutefois les différentes concentrations en Coliformes totaux et en Coliformes fécaux au niveau des trois effluents hospitaliers échantillonnés, sont probablement liées, d'une part à la charge organique élevée favorisant ainsi la croissance des germes dans le milieu, et d'autre part au manque de précipitations sauf la fin de Février et début de Mars ou la charge

bactérienne à diminuer à cause de pluies. Les eaux pluviales contribuent à la dilution du milieu durant la période hivernale et printanière et par conséquent une diminution de la concentration de ces germes.

L'analyse bactériologique a permis d'identifier 48 souches d'entérobactéries. Une prédominance de *Klebsiella ornithinolytica* avec 10 souches (20,83%) suivie d'*E. coli* et *Citrobacter Koseri/ farmeri* avec 5 souches (10,41%), *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* et *Serratia odorifera* avec 4 souches (8,33%), *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* et *Serratia marcescens* 3 souches (6,25%) et deux souches (4,16%) pour *Klebsiella terrigena* et pour *Enterobacter sakazakii*.

Une souche (2,08%) pour *Citrobacter youngae*, *Citrobacter braakii*, *Leclercia adecarboxylata*, *proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri* et le genre de *Salmonella* qui est représenté par *Salmonella arizonae* et *Salmonella spp.* Cette répartition n'est pas la même que celle rapportée par **Guessennd et al., en 2013** ou *E. coli* était l'espèce la plus fréquemment rencontrée (34,7%) suivie de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* (32,7%), *Enterobacter aerogenes* (22,4%), *Enterobacter cloacae* (4,1%), *Citrobacter koseri* (4,1%) et *Klebsiella oxytoca* (2%).

La présence de germes pathogènes (*Salmonella*) isolées des effluents hospitaliers (Frantz Fanon et Ben Bouali) est également est similaire à celle rapportée par **El-Ogri et al ., (2016)** dans les effluents de l'hôpital de Rabat (Maroc).

L'étude des différents profils de résistance a permis de ressortir que toutes les souches d'entérobactéries ont une résistance importante vis-à-vis de la majorité des β - lactamines avec un pourcentage de 100% de résistance vis-à-vis de la pénicilline et l'amoxicilline/acide clavulanique ce qui est en accord avec les travaux d'**Islam et al., (2008)** qui présentent un taux similaire de résistance à ces antibiotiques.

A l'exception de l'imipenème qui présente un taux faible de résistance (39,58%) ce qui est similaire au taux de résistance déclaré à l'échelle mondiale (**Badal et al ., 2013 ; Chaudhuri et al ., 2011**). L'ensemble des résultats concordent avec ceux de **Guessennd et al., (2013)** à l'hôpital d'Abidjan.

Cette résistance aux β -lactamines est due principalement à la production de β -lactamases capables d'hydrolyser l'anneau β -lactame commun à cette classe d'antibiotiques (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006**).

Au cours des dernières décennies, la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR) a eu un impact important sur les établissements de santé (**Colodner et al., 2004**). Les BMR ont une place importante dans les infections nosocomiales, comme le montrent les résultats des enquêtes nationales de prévalence réalisées en France en 1994, 2001 ou 2006 (**Thiolet et al, 2007**). En 1998, leur surveillance et leur prévention sont devenues une des priorités nationales qui implique toute la communauté médicale.

L'observation de cette multi-résistance traduit bien la présence des BMR dans les effluents hospitaliers comme le montre les travaux de **Guessennd et al., (2008) et de Dadié et al., 2003**). Selon **Thomas et al., (2007)**, cela pourrait s'expliquer par la présence de faibles concentrations d'antibiotiques non métabolisés rejetés par l'hôpital.

Pour les aminosides, le taux de résistance vis-à-vis de la kanamycine était de 75%. Ce résultat est proche à celui trouvé par **Guessennd et al., en 2013**. Alors que pour la tobramycine et les quinolones (ofloxacine), avec un taux de résistance de 35,41% et 25% respectivement ne concordent pas avec les résultats de ce dernier.

Pour la famille des tétracyclines, la tétracycline et la doxycyclines les taux de résistance étaient de 81,25% et 54,16% respectivement. Ces résultats sont comparables à ceux d'**Islam et al., (2008)** et qui ont trouvé des similitudes avec nos résultats. Selon **Feron (1989)**, cette résistance est de type plasmidique et s'explique par une expulsion active de l'antibiotique hors de la cellule, donc une concentration intra-bactérienne insuffisante.

Une faible activité vis-à-vis du chloramphénicol (25%) qui ne concorde pas avec les résultats d'**Islam et al., en 2008**. Les macrolides (lincomycine), les sulfamides (triméthoprim/ sulfaméthoxazole) et les autres antibiotiques (vancomycine, acide fusidique et rifampicine) révèlent des taux de résistance très élevés.

Lorsque l'indice MAR est supérieur à 0,2, les isolats sont exposés à des sources de risque élevées de contamination où les antibiotiques sont fréquemment utilisés. L'indice MAR inférieur ou égale 0,2 cela signifie que les antibiotiques sont rarement ou jamais utilisés (**Krumperman, 1983**).

Dans notre étude, 100% des isolats bactériens ont montré une valeur MAR supérieur à 0,2 cela signifie que tous les isolats ont été exposés à plusieurs antibiotiques.

Les espèces bactériennes qui expriment la valeur la plus élevée (0,95) pour les différents effluents échantillonnés au cours de cette étude sont : Pour l'hôpital Frantz Fanon, c'est *Klebsiella oxytoca*, pour Ben Bouali, ce sont *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* et *Citrobacter Koseri/farmeri* et pour Brahim Tirichine c'est *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*. La valeur la plus faible est obtenue pour les eaux usées rejetées par Frantz Fanon (0,65) pour *Citrobacter youngae*, *Enterobacter sakazakii* et *Serratia odorifera 1* ; et 0,6 pour les souches isolées à Ben Bouali et à Brahim Tirichine pour *Klebsiella oxytoca* et *Enterobacter sakazakii* respectivement.

Nous supposons que ces valeurs très élevées obtenues par le calcul de cet indice sont en relation avec la consommation élevée des antibiotiques dans les trois sites.

Selon le service pharmacie de trois établissements hospitaliers Les principaux antibiotiques utilisés

- ✚ au niveau de CHU de Blida (Frantz Fanon et Ben Bouali) : ampicilline (AM), bactrime (SXT), céfacidal (CZ), céfizox (céftizoxime), imipenème (IPM), flagyl (MET), gentamycine, fortum (CAZ), ceftriaxone (CRO) et clarforan (CTX).
- ✚ Pour l'hôpital Brahim Tirichine : Clarforan (CTX), céfizox (céftizoxime), céfacidal (CZ), amoxicilline (AX), pénicilline (P), colistine (CT) et l'acyclovir.

Dans notre étude, les valeurs calculées de l'indice MAR des trois sites varie entre 0,67 pour les effluents de l'hôpital Ben Bouali et 0,75 pour ceux de l'hôpital Brahim Tirichine. Ce qui indique qu'elles sont supérieures à 0,4 ce qui signifie une source de risque élevée de contamination d'origine humaine à travers les urines, les fèces et les divers liquides biologiques (sueur, salive, vomissures ...) des patients hospitalisés.

Le danger qui caractérise les effluents hospitaliers c'est la présence des bactéries responsables des infections nosocomiales comme les *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et des bactéries multirésistantes aux antibiotiques comme les *salmonelles* présents dans les rejets humains (**Boillot, 2008**), les *staphylocoques*, les *Pseudomonas aeruginosa* (**Rapt, 1992**) ou certaines souches typiquement hospitalières.

Selon le service épidémiologique de CHU de Blida et concernant les infections nosocomiales de l'année 2014/2015, ils ont enregistré au niveau de service de chirurgie générale cinq cas infectés soit 12,8%, au niveau du service de chirurgie orthopédique et traumatologie deux cas soit 11,1%, neurochirurgie quatre cas soit 16,7%, pédiatrie dix cas soit 17,5%, neurologie deux cas (25%) et au niveau du service de réanimation deux cas (13,3%). Alors qu'à l'hôpital de Brahim Tirichine trois cas ont été enregistrés pour le pied diabétique et trois autres cas dans le service de pneumologie (légionellose).

Des études s'étalant sur plusieurs années pourraient être indispensables pour étudier les relations de cause à effet sur les origines de la contamination des effluents hospitaliers et la présence de malades atteints d'infections nosocomiales ainsi que la présence de résidus médicamenteux dans les effluents rejetés par les hôpitaux.

- **Test de confirmation ou test de Mac kenzie**

Le test de confirmation ou test de Mac Kenzie est basé sur la recherche de coliformes thermo-tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Escherichia coli est un coliforme thermotolérant qui entre autre :

- ❖ Produit de l'indole à partir du tryptophane à 44°C
- ❖ Donne un résultat positif à l'essai au rouge de méthyl
- ❖ Ne produit pas de l'acéthyl méthyl carbinol
- ❖ N'utilise pas le citrate comme source unique de carbone

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement de coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham. On chasse éventuellement le gaz présent dans les cloches de Durham et on mélange le milieu et l'inoculum.

Incubation

L'incubation se fait cette fois ci dans l'étuve à 44°C pendant 24 heures.

Lecture

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois

- Un dégagement gazeux
- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table N.P.P en tenant compte du fait qu'*Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C.

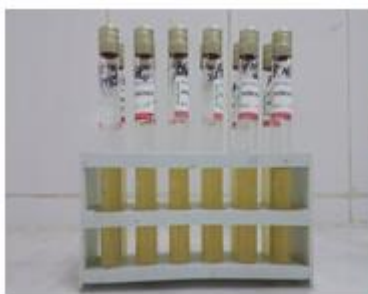
Test confirmatif



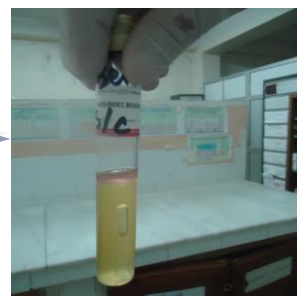
Quelques gouttes prises des tubes positifs BCPL et mises sur Schubert.



Incubation à 44°C pendant 24 heures.



Tubes positifs + quelques gouttes de Kovacs



Apparition d'un anneau rouge

Figure 10. Recherche des coliformes fécaux par la méthode de NPP sur milieu Schubert.

Pour la détermination du NPP nous avons utilisés la formule suivante :

$$N = \frac{\text{NPP}}{V_{\text{ensemencé}}} \times Fd$$

Avec Fd : facteur de dilution

I-5-2-3 Recherche de Salmonelles

✚ Mode opératoire

Jour 1. Premier enrichissement

Le premier enrichissement s'effectue sur milieu Sélénite-Cystéine D/C (SFB I) réparti à raison de 100ml par flacon. Ce dernier sera donc ensemencé à l'aide de 100 ml de l'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18-24 heures.

Jour 2. Deuxième enrichissement et isolement

Ce flacon fera l'objet :

D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu Sélénite en tubes (SFBII) à raison de 1 ml. D'autre part, d'un isolement sur gélose Héктоen (HI).L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

Jour 3.

D'une part, le tube de Sélénite (SFB II) fera l'objet d'un isolement sur gélose Héктоen (HII). D'autre part, prendre 1 ml de SFBII et introduire dans un tube Sélénite Cystéine (SFBIII) puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

Jour 4. Lecture de boîtes et identification

Après l'isolement de SFBII sur gélose Héктоen HIII, incubé à 37°C pendant 24 heures.

✚ Lecture

Les boîtes de gélose Hektoen feront l'objet de lecture sachant que les salmonelles apparaissent sous forme de colonies bleutées à centre noire, ces derniers subiront une identification biochimique.

I-5-2-4 Isolement

L'isolement consiste à réaliser un ensemencement en strie à la surface d'une gélose Hektoen à partir du milieu liquide BCPL positifs. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

I-5-2-5 Purification

Après une lecture morphologique, les colonies sont repiquées plusieurs fois sur le même milieu Hektoen jusqu'à purification.

I-5-2-6 Identification

On procède à l'identification des germes bactériens ciblés par le T.S.I et la Galerie API® Bio Mérieux et coloration de Gram.

Coloration de Gram

Sur une lame, déposer une goutte d'eau physiologique stérile. A l'aide d'une anse de platine stérilisée, prendre une colonie isolée, émulsionner les bactéries prélevées dans la gouttelette d'eau. Fixer à la chaleur, à environ 40°C pendant 10 à 15 minutes puis laisser la lame sécher.

- Déposer les lames sur le support au-dessus de l'évier.
- Couvrir les lames avec le violet de gentiane. Laisser agir 60 secondes. Rincer à l'eau courante. Enlever le surplus d'eau.
- Couvrir les lames avec le lugol pendant 1 minute. Rincer soigneusement avec l'eau du robinet. Enlever le surplus d'eau.
- Couvrir les lames avec l'alcool pendant 10 secondes. Rincer à l'eau du robinet. Enlever le surplus d'eau.
- Couvrir les lames avec la fuchsine. Laisser agir 60 secondes. Rincer à l'eau courante. Enlever le surplus d'eau.
- En suivant les règles d'utilisation du microscope, examiner les frottis colorés de bactéries en employant toute la gamme des objectifs du microscope.

Le test TSI (milieu triple sucres)

• Principe

Ce milieu permet d'étudier la fermentation de trois sucres (glucose, lactose, saccharose), d'apprécier la production ou non de H₂S et de noter la production ou non de gaz à partir du glucose.

• Technique

L'ensemencement est réalisé par piqûre centrale dans le culot puis par stries sur la pente, la lecture se fait après 24 heures d'incubation à 37°C.

• Lecture

La fermentation des sucres se traduit par le virage de la couleur de milieu au jaune, le dégagement de gaz se traduit par la formation des bulles de gaz dans la masse du culot, alors que la production d'H₂S se traduit par le noircissement du milieu.

Galerie API 20^E

• Principe

La galerie API 20NE est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif.

La galerie API 20NE comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

• Technique

Préparation de la galerie

- Mettre de l'eau distillée stérile sur le fond de la boîte (partie alvéolée) ;
- Placer la galerie sur le fond la boîte
- Recouvrir la boîte avec son couvercle
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

Préparation de l'inoculum

- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé
- Réalisez une suspension bactérienne en homogénéisation soigneusement

Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie à l'aide d'une pipette stérile
- Refermer la boîte d'incubation, incubé à 37°C pendant 24 heures

• Lecture

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (**Tableau XXXI, Annexe II**) et l'identification des souches est obtenue à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique.

I-5-2-8 Antibiogramme (Vedel, 2005 ; CA-SFM ,2010)

• Principe

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi-quantitatives (sensible S, intermédiaire I ou résistante R). Il est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique, obtenu par diffusion à partir de disques dans un milieu gélosé.

- **Technique**

Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture bactérienne pure et jeune (de 24H sur milieu gélosé), réaliser une suspension inoculum en eau physiologique équivalente à 0.5 Mac Farland.

Ensemencement

- A l'aide d'un écouvillon stérile essoré de la suspension, ensemercer toute la surface de la gélose Muller-Hinton en stries serrées (successivement 3 orientations décalées de 60°).

Application des disques

- Appliquer les disques d'antibiotiques.
Les antibiotiques utilisés (tableau III)

Tableau III : Nom et charge d'antibiotique utilisés.

Antibiotique	Charge de disque
Pénicilline (P10)	(10µg)
Ampicilline (AM10)	(10µg)
Oxacilline (OX10)	(10µg)
Imipenème (IMP 10)	(10µg)
Amoxicilline+acide clavulanique (AMC10)	(10µg)
Céfotaxime (CTX30)	(30µg)
Céfazoline (CZ30)	(30µg)
Kanamycine (K30)	(30µg)
Tobramycine (TOB10)	(10µg)
Tétracycline (TE30)	(30µg)
Lincomycine (L15)	(15µg)
Triméthoprime+sulfamides (SXT25)	(25µg)
Ofloxacine (OFX5)	(30µg)
Vancomycine (VA30)	(30µg)
Rifampicine (RP)	(20µg)
Acide fusidique (FA)	(10µg)
Doxycycline (DO)	(30µg)
Aztréonam (AT)	(30µg)
Ceftriaxone (CRO)	(30µg)
Chloramphénicol (C)	(30µg)

- à l'aide d'une pince stérile. La disposition des β -lactamines a été réalisée selon le schéma de Vedel (**Figure 11**).

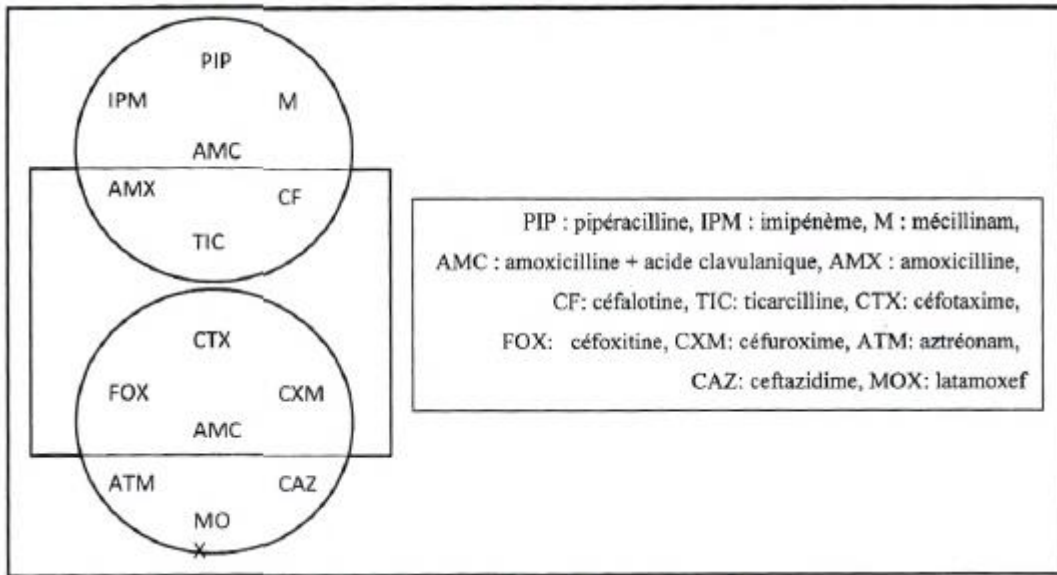


Figure 11.Schéma de Vedel (Vedel, 1998).

- Laisser les boîtes 20 minutes à température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique, puis les incuber pendant 18-24 heures à 37°C.
- **Lecture**
- La lecture se fait en mesurant avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition figurant dans le manuel « Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale » Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans l'Annexe, classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire et Résistante.
- Interpréter les phénotypes de résistance aux β -lactamines.

I-5-2-9 Test de synergie (Philippon et Arlet, 2006)

- **Principe**

La démonstration phénotypique de la présence de β -lactamase à spectre élargie consiste à mettre en évidence une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamase (l'acide clavulanique) et un disque de céphalosporine de 3ème génération.

- **Technique**

Appliquer sur une gélose Mueller Hinton, préalablement ensemencée par la souche à tester, un disque de ceftazidime (CAZ) et/ ou de céfotaxime (CTX) et un disque de ticarcilline + acide clavulanique (TCC), distant 1,5cm. Incuber pendant 18 heures à 37°C.

- **Lecture**

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne visible entre les deux disques.

I-5-3 Souches de référence

Afin de valider les différents tests effectués, nous avons utilisés une souche de référence provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie, qui est la suivante :

Souche	Référence
<i>E. coli</i>	NCTC 13167

I-5-4 Indice MAR (Multiple Antibiotic Résistance)

L'indice MAR a été recommandé par Krumperman (1983) dans le but d'évaluer le risque de la contamination de l'environnement par les antibiotiques.

- Pour les isolats

Indice MAR = a/b

a : nombre d'antibiotiques pour lequel l'isolat est résistant.

b : nombre d'antibiotiques testés.

Lorsque les valeurs de l'indice MAR sont supérieures à 0,2 ; elles indiquent une source de risque élevée de contamination ou les antibiotiques sont souvent utilisés.

Lorsque les valeurs de l'indice MAR sont inférieurs ou égales à 0,2 ; elles indiquent que la souche provient de sources ou les antibiotiques sont rarement utilisés.

- Pour les sites, l'indice MAR est un excellent outil qui nous permet d'analyser la prévalence relative des bactéries résistantes dans l'environnement.

Indice MAR = c/d x e

c : nombre d'antibiotique pour lequel tous les isolats sont résistants.

d : nombre des isolats présents dans le site.

e : nombre d'antibiotiques testés.

Lorsque les valeurs de l'indice MAR sont supérieures à 0,4 ; elles indiquent une source de risque élevée de contamination d'origine humaine.

Lorsque les valeurs sont inférieurs à 0,4 ; elles indiquent que la souche provient de sources non humaines.

I-5-5 Analyse statistique

Le logiciel qui a été utilisé pour l'analyse des résultats :

- Excel 2010

I. Matériel et méthodes

Des analyses physico-chimiques, bactériologiques et la détermination des profils de résistance des Entérobactéries dans différents échantillons d'eau provenant de divers effluents hospitaliers (hôpital de Frantz Fanon, Ben Bouali ex Ben Boulaid et Brahim Tirichine ex Fabourg) de la wilaya de Blida ont été réalisés du mois de Février jusqu'au mois de Mai 2016.

Les différentes analyses ont été effectuées au laboratoire de l'hygiène de la wilaya de Blida.

I.1. Matériel

Le matériel est représenté par la verrerie, les flacons de prélèvement, les boîtes de Pétri ou par les milieux de culture, les disques d'antibiotiques et les appareillages (Voir Annexe II).

Nous avons échantillonné les effluents liquides de plusieurs hôpitaux de la wilaya de Blida. Au total, 24 échantillons ont été prélevés chaque quinzaine et ont fait l'objet d'analyses bactériologiques.

I-2. Présentation de la zone d'étude et des sites de prélèvement

📍 Commune de Blida

La commune de Blida est située à 45 km de la capitale, à environ 229 mètres d'altitude. Elle s'étend sur une superficie de 53,3 km². Elle est limitée au Nord par les communes de Béni Tamou, Oued El Alleug et Béni Mered, au Sud par Bouarfa et Chréa, à l'Est par Ouled Yaïch et à l'Ouest par les communes de Chiffa et Bouarfa.

Le CHU de Blida a une capacité globale actuelle de 1613 lits et est composé de structures suivantes : Hôpital Frantz Fanon (986 lits), clinique Ben Bouali ex Ben Boulaid (189 Lits), clinique M'Hamed Yazid et clinique dentaire Zabana, ainsi d'autres hôpitaux, l'hôpital de Boufarik (183lits), l'hôpital de Meftah (247lits), l'hôpital d'El Affroun (69lits) et l'hôpital de Brahim Tirichine ex Fabourg (128 lits).

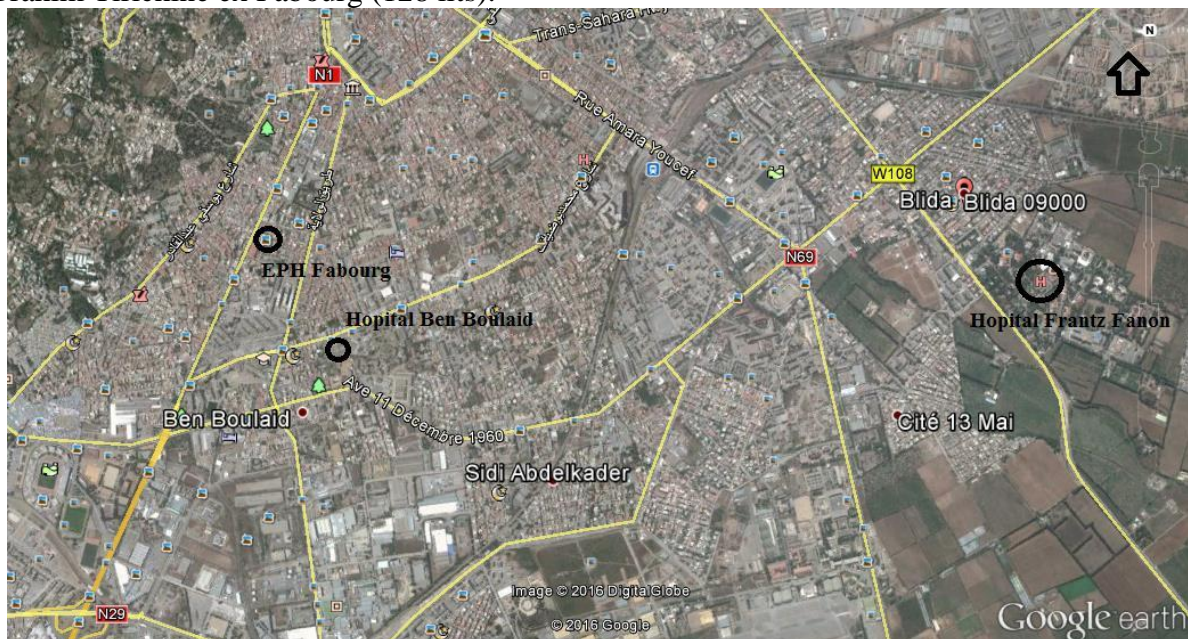


Figure 4. Localisation géographique des zones d'étude.

✚ Sites de prélèvements

Le premier site de prélèvement (figure 5) concerne les rejets liquides de l'égout principal de l'hôpital de Frantz Fanon provenant de tous les services.



Figure 5. Photo de l'égout principal de l'hôpital de Frantz Fanon.

Le deuxième site de prélèvement (figure 6) a concerné l'égout rassemblant les rejets liquides provenant du service de maternité et activités diverses de l'hôpital de Ben Bouali ex Ben Boulaid.



Figure 6. Photo de l'égout de l'hôpital de Ben Bouali ex Ben Boulaid.

Le troisième site de prélèvement (figure 7) concerne les rejets liquides de l'égout principal de l'hôpital de Brahim Tirichine (Fabourg) provenant de tous les services.



Figure 7. Photo de l'égout principal de l'hôpital de Brahim Tirichine (Fabourg).

I.3. Prélèvements

Avant tout prélèvement, la température de l'eau et le pH ont été mesurés *in situ* à l'aide d'un pHmètre originale.

Les prélèvements des effluents hospitaliers des différents centres hospitaliers (Frantz Fanon, Ben Bouali et Brahim Tirichine) ont été réalisés le matin entre 9h00 et 13h00.

Un flacon stérile est plongé à l'horizontal, puis on le redresse jusqu'à ce que le volume d'eau recueillie soit suffisant tout en gardant un volume d'air dans le flacon pour permettre une agitation correcte avant l'analyse.

On inscrit sur le flacon et sur la fiche toutes les informations concernant le prélèvement (site, lieu, date, heure, éventuels problèmes rencontrés...).

I-4. Transport et conservation

Les échantillons prélevés ont été conservés dans une glacière contenant des blocs réfrigérants et protégés d'une forte exposition à la lumière dans un délai qui ne dépasse pas 8 heures puis acheminés le plus rapidement possible au laboratoire de l'hygiène de la wilaya de Blida.

I.5. Méthodes

Durant cette étude, nous avons réalisé une recherche systématique des Entérobactéries englobant les coliformes totaux et les coliformes fécaux. L'organigramme présenté par la figure 8 résume les différentes étapes expérimentales :

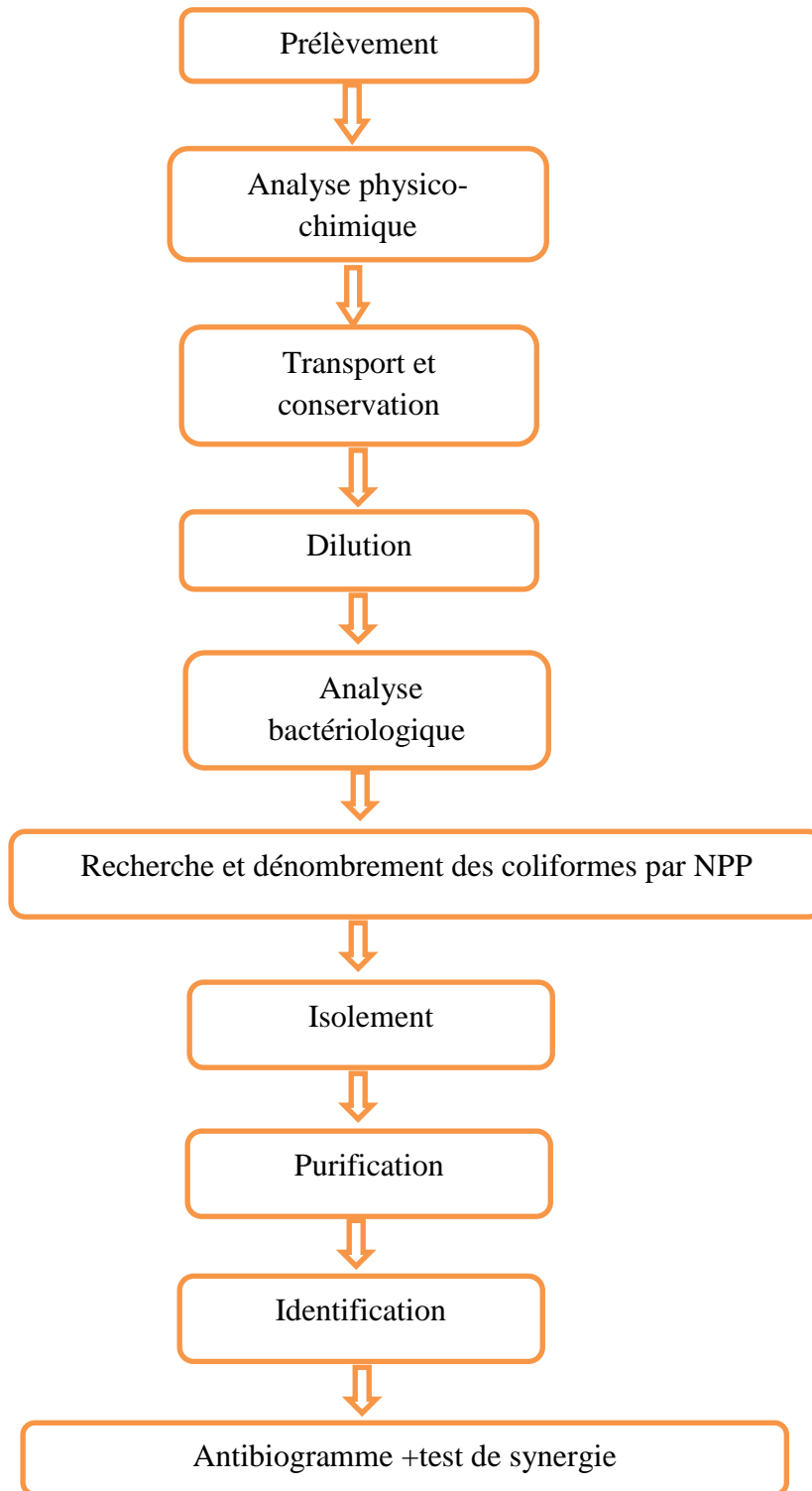


Figure 8 : Protocole de l'expérimentation.

I-5-1 Analyses physico-chimiques

❖ Mesure de la température et du pH

• La mesure de la température et du Potentiel d'Hydrogène (pH) se font in situ, le pH-mètre utilisé indique les valeurs du pH ainsi que de la température.

- 100ml d'eau à analyser a été prélevée et mise dans un bécher.
- L'électrode du pH-mètre doit être rincée à l'eau distillée, puis trempée dans le bécher contenant l'eau à analyser.

• Après stabilisation, les valeurs du pH et de la température sont notées.

I-5-2 Analyses bactériologiques

I-5-2-1 Dilutions

Les dilutions sont réalisées en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur développement (cas des tubes) ou d'effectuer le dénombrement des colonies (cas des boîtes).

Première dilution 10^{-1} : 1ml de l'échantillon à analyser pour 9ml d'eau physiologique stérile à pH=7.

Nous avons effectué une série de dilutions de 10^{-1} , 10^{-2} ,..... 10^{-6} respectivement.

I-5-2-2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

L'isolement et le dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux dans l'eau à analyser sont réalisés par la méthode de NPP (le Nombre le Plus Probable) en milieu liquide. Cette méthode fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des Coliformes totaux.
- le test de confirmation : appelé encore test de Mac Kenzie et réservé à la recherche des Coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

• Test de présomption

A partir de l'eau à analyser avec une dilution de 10^{-6} , porter aseptiquement :

- ❖ 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- ❖ 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- ❖ 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham, comme l'indique les figures.

Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.

Incubation

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Sont considérés comme positifs présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur 1/10 de la hauteur de la cloche)
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu)

Ces deux caractères étant témoin de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites.

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table N.P.P.

Test présomptif

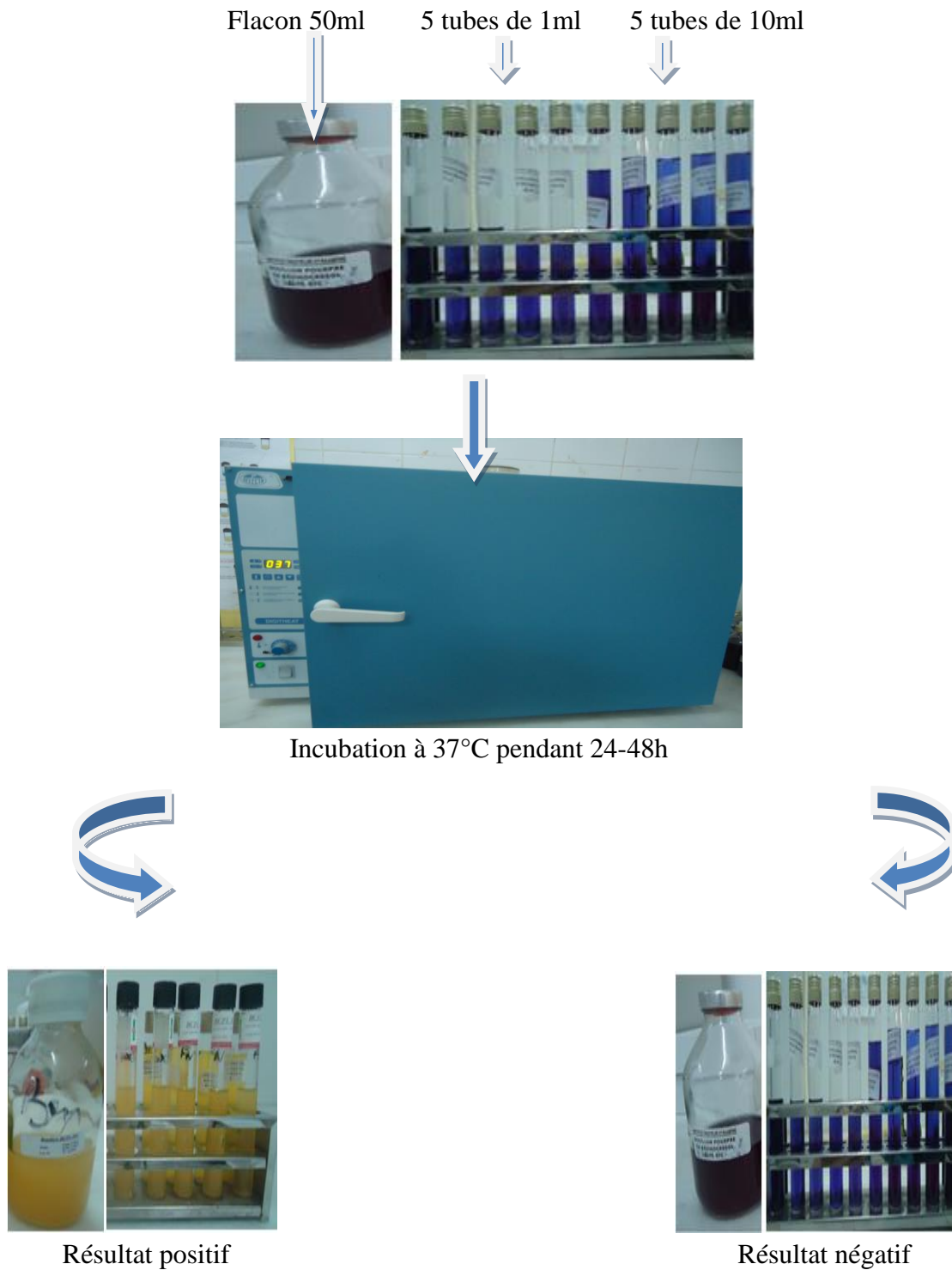


Figure 9. Recherche des coliformes totaux par la méthode de NPP sur le milieu BCPL.

II. RESULTATS ET INTERPRETATION

Cette étude a été réalisée durant une période s'étalant du mois de Février jusqu'au début du mois de Mai 2016 au laboratoire d'Hygiène. Au total 24 prélèvements ont été effectués à partir de trois effluents hospitaliers (Frantz Fanon, Brahim Tirichine et Ben Bouali).

II.1. Paramètres physiques

✚ Température

Les valeurs de la température des différents échantillons oscillent entre un minimum de 14,5°C et un maximum de 20,7°C. Au niveau des effluents de l'hôpital Frantz Fanon, la valeur la plus faible est de 15,6°C et la plus élevée est de 20,6 °C. Dans les eaux usées rejetées par l'hôpital Ben Bouali, nous avons enregistré une valeur minimale de 14,5°C et maximale de 20,7°C, alors qu'à Brahim Tirichine, les valeurs oscillent entre un minimum de 15,2°C et un maximum de 20,6°C (figure 12).

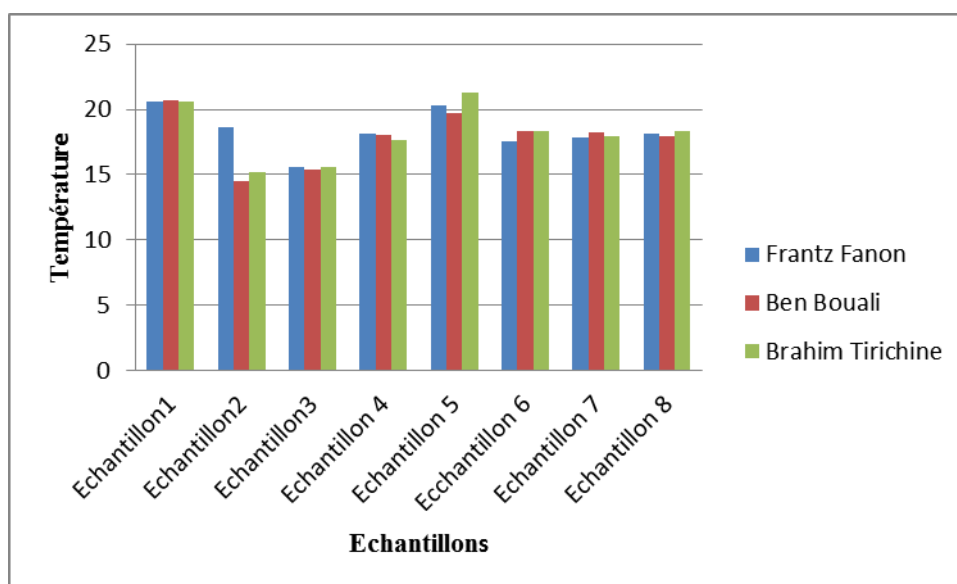


Figure 12 : Variation de la température couvrant chaque site.

La moyenne de la température des sites de prélèvement sont représentés par le tableau ci-dessous :

Tableau IV : Températures moyennes pour chaque site de prélèvement.

Site	Frantz Fanon	Ben Bouali ex Ben Boulaid	Brahim Tirichine ex Fabourg
Température moyenne (°C)	16,1	17,83	18,1

✚ pH

La figure ci-dessous, montre les variations des valeurs du pH enregistrées durant l'étude :

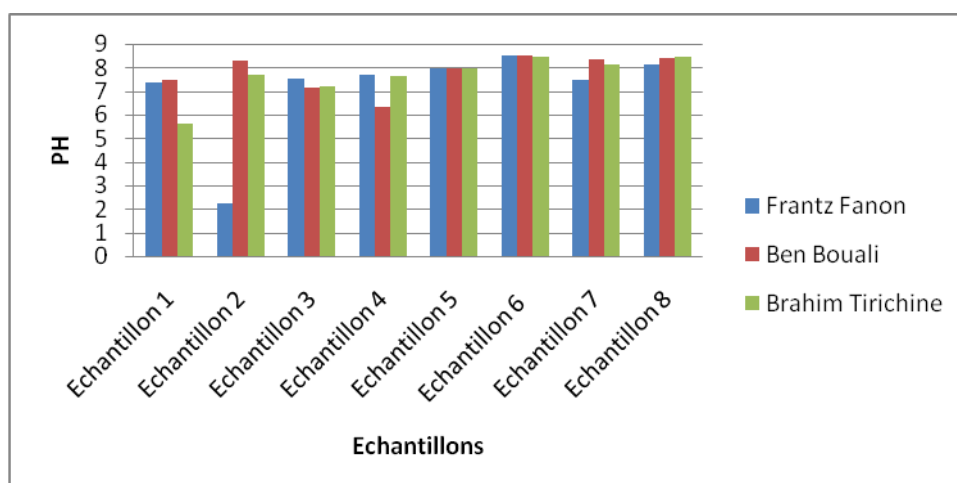


Figure 13 : Valeurs du pH enregistrées dans les différents sites de chaque prélèvement.

Le pH des effluents des différents CHU de Blida varie entre un minimum de 2,22 et un maximum de 8,50. La plus faible valeur est enregistrée au niveau des effluents du CHU Frantz Fanon et la plus élevée au niveau de l'hôpital de Ben Bouali. Alors, qu'à Brahim Tirichine, les valeurs de pH varient entre un minimum de 5,6 et un maximum de 8,45 (Figure 13).

II.2. Dénombrement des coliformes totaux, fécaux et des Salmonelles

Les résultats du dénombrement sont présentés dans le Tableau V.

Tableau V : Dénombrement des coliformes totaux, fécaux et des Salmonelles.

Paramètres	Date de prélèvement	Hôpital Frantz Fanon	Hôpital Ben Bouali	Hôpital Brahim Tirichine
Coliformes Totaux (UFC/100ml)	31/01/2016	$1,8 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$
	14/02/2016	2×10^6	2×10^6	7×10^6
	29/02/2016	$1,2 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$< 1 \times 10^6$
	13/03/2016	1×10^6	$1,2 \times 10^7$	1×10^6
	27/03/2016	3×10^6	$1,2 \times 10^7$	3×10^6
	10/04/2016	7×10^6	$1,2 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
	24/04/2016	3×10^6	4×10^6	1×10^6
	02/05/2016	5×10^6	5×10^6	7×10^6
Coliformes Fécaux (UFC/100ml)	31/01/2016	3×10^6	4×10^6	8×10^6
	14/02/2016	1×10^6	1×10^6	3×10^6
	29/02/2016	2×10^6	2×10^6	$< 1 \times 10^6$
	13/03/2016	1×10^6	5×10^6	1×10^6
	27/03/2016	1×10^6	3×10^6	1×10^6
	10/04/2016	3×10^6	2×10^6	2×10^6
	24/04/2016	1×10^6	4×10^6	1×10^6

	02/05/2016	5×10^6	3×10^6	2×10^6
Salmonelles (UFC/100ml)	10/04/2016	08	00	00
	02/05/2016	00	06	00

Coliformes totaux

Les coliformes totaux constituent un groupe hétérogène de bactéries d'origine fécale et environnementale. D'après le Tableau V, le nombre de coliformes totaux présent dans les effluents de l'hôpital Frantz Fanon varie entre 18×10^6 et 1×10^6 UFC/100ml avec une moyenne de $6,38 \times 10^6 \pm 2361,80$ UFC/100ml, entre 18×10^6 et 1×10^6 UFC/100ml avec une moyenne de $6,13 \times 10^6 \pm 2315,03$ UFC/100ml dans les eaux rejetées par l'hôpital Brahim Tirichine et entre 18×10^6 et 2×10^6 UFC/100ml avec une moyenne de $9,88 \times 10^6 \pm 2939,49$ UFC/100ml pour les effluents de l'hôpital Ben Bouali.

Coliformes fécaux

D'après le Tableau V, le nombre de coliformes fécaux oscille entre 5×10^6 et 1×10^6 UFC/100ml avec une moyenne de $2,12 \times 10^6 \pm 1363,58$ UFC/100ml pour les effluents rejetés par l'hôpital Frantz Fanon, entre 5×10^6 et 1×10^6 UFC/100ml avec une moyenne de $3 \times 10^6 \pm 1620,18$ UFC/100ml pour les eaux usées de l'hôpital Ben Bouali et entre 8×10^6 et 1×10^6 UFC/100ml et une moyenne de $2,25 \times 10^6 \pm 1403,12$ UFC/100ml pour les effluents de l'hôpital Brahim Tirichine.

Salmonelles

Durant cette étude, ce qui retient notre attention c'est l'absence des Salmonelles dans la plupart des prélèvements à l'exception des deux derniers qui se sont révélés positifs.

II.3. Analyses bactériologiques

II.3.1. Isolement

L'examen macroscopique des cultures a permis de déduire si les cultures sont mono ou polymicrobienne.

Dans notre cas, tous les prélèvements sont de nature polymicrobienne.

II.3.2. Identification

L'examen macroscopique des colonies suspectes a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau suivant :

Tableau VI: Examen macroscopique des colonies suspectes.

Colonies suspectes	Taille (cm)	Forme	Aspect	Opacité	Relief	Allure de contour	Consistance	Couleur
CS1 (n=3)	0,5	Ronde	Rugueux	Opaque	Plat	Uniforme	Grasse	Saumon
CS2 (n=4)	2	Irrégulier	Lisse	Opaque	Bombé	Irrégulier	Crémeuse	Saumon
CS3 (n=10)	0.2	Ronde	Lisse	Opaque	Bombé	Irrégulier	Crémeuse	Saumon
CS4 (n=2)	1	Ronde	Lisse	Opaque	Bombé	Uniforme	Crémeuse	Saumon
CS5 (n=2)	0,5	Ronde	Irrégulier	Opaque	Bombé	Uniforme	Sèche	Orange
CS6 (n=5)	1	Irrégulier	Rugueux	Opaque	Plat	Dentelée	Sèche	Saumon
CS7 (n=3)	0,3	Ronde	Lisse	Opaque	Bombé	Uniforme	Grasse	Orange
CS8 (n=5)	0.5	Ronde	Rugueux	Opaque	Plat	Uniforme	Crémeuse	Orange
CS9 (n=1)	0,3	Irrégulier	Irrégulier	Opaque	Plat	Uniforme	Sèche	Saumon
CS10 (n=1)	0,5	Irrégulier	Rugueux	Opaque	Plat	Régulier	Grasse	Noire
CS11 (n=3)	0.2	Ronde	Lisse	Opaque	Plat	Régulier	Sèche	Bleu-vert
CS12 (n=4)	0.1	Ronde	Lisse	Opaque	Bombé	Uniforme	Grasse	Orange
CS13 (n=1)	0,5	Ronde	Lisse	Opaque	Bombé	Uniforme	Grasse	Vert
CS14 (n=1)	1	Ronde	Lisse	Opaque	Surélevée	Uniforme	Sèche	Saumon
CS15 (n=1)	0 ,3	Irrégulier	Lisse	Opaque	Plat	Dentelée	Sèche	Transparente
CS16 (n=1)	0,5	Irrégulier	Lisse	Opaque	Plat	Dentelée	Sèche	Saumon
CS17 (n=1)	0,5	Ronde	Lisse	Opaque	Bombé	Uniforme	Grasse	Jaune-orangé

CS : Colonie suspecte

n : nombre de colonie

Coloration Gram

L'observation microscopique a permis de distinguer les bactéries selon leur morphologie (cocci et bacille) et de les diviser en deux groupes : Gram positif et Gram négatif.

Test TSI

Les résultats du test TSI sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Résultats de TSI des colonies suspectes.

	Glucose	Lactose	Saccharose	Gaz	H ₂ S
CS1 (n=3)	+	+	+	+	-
CS2 (n=4)	+	+	+	+	-
CS3 (n=10)	+	+	+	+	-
CS4 (n=2)	+	+	+	+	-
CS5 (n=2)	+	+	+	+	-
CS6 (n=5)	+	+	+	+	-
CS7 (n=3)	+	+	+	+	-
CS8 (n=5)	+	+	+	-	-
CS9 (n=1)	+	+	+	+	-
CS10 (n=1)	+	+	+	-	-
CS11 (n=3)	-	-	-	-	-
CS12 (n=4)	+	+	+	-	-
CS13 (n=1)	+	+	+	-	-
CS14 (n=1)	+	+	+	-	-
CS15 (n=1)	+	+	+	+	-
CS16 (n=1)	+	+	+	+	-
CS17 (n=1)	-	-	-	-	-

Galerie Api 20^E

Les résultats de l'identification des *Enterobacteriaceae* par l'Api 20^E sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau VIII : Identification par la galerie Api 20^E.

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	
CS1 (n=3)	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CS2 (n=4)	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CS3 (n=10)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
CS4 (n=2)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
CS5 (n=2)	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
CS6 (n=5)	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
CS7 (n=3)	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CS8	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

(n=5)																				
CS9 (n=1)	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
(n=1)																				
CS10 (n=1)	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
(n=1)																				
CS11 (n=3)	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(n=3)																				
CS12 (n=4)	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
(n=4)																				
CS13 (n=1)	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+
(n=1)																				
CS14 (n=1)	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
(n=1)																				
CS15 (n=1)	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
(n=1)																				

CS1 6 (n=1)	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
																				
CS1 7 (n=1)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+
																				

Le Tableau IX présente un récapitulatif de l'ensemble des entérobactéries isolées et identifiées dans les rejets liquides des trois hôpitaux.

Tableau IX : Espèces d'entérobactéries identifiées par la galerie api 20^E.

	Souches identifiées
CS1 (n=3)	<i>Klebsiella oxytoca</i>
CS2 (n=4)	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>
CS3 (n=10)	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
CS4 (n=2)	<i>Klebsiella terrigena</i>
CS5 (n=2)	<i>Enterobacter sakazakii</i>
CS6 (n=5)	<i>E.coli</i>
CS7 (n=3)	<i>Citrobacter freundii</i>
CS8 (n=5)	<i>Citrobacter Koseri/farmeri</i>
CS9 (n=1)	<i>Citrobacter youngae</i>
CS10 (n=1)	<i>Citrobacter braakii</i>
CS11 (n=3)	<i>Serratia marcescens</i>
CS12 (n=4)	<i>Serratia odorifera</i>
CS13 (n=1)	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
CS14 (n=1)	<i>Proteus vulgaris</i>
CS15 (n=1)	<i>Salmonella arizonae</i>
CS16 (n=1)	<i>Salmonella spp</i>
CS17 (n=1)	<i>Providencia rettgeri</i>

II.4. Répartition totale des germes isolés

Après identification biochimique par la galerie Api 20^E (Bio-Mérieux), 48 espèces appartenant aux entérobactéries ont été identifiées parmi un total de 55 (**Figure 14**).

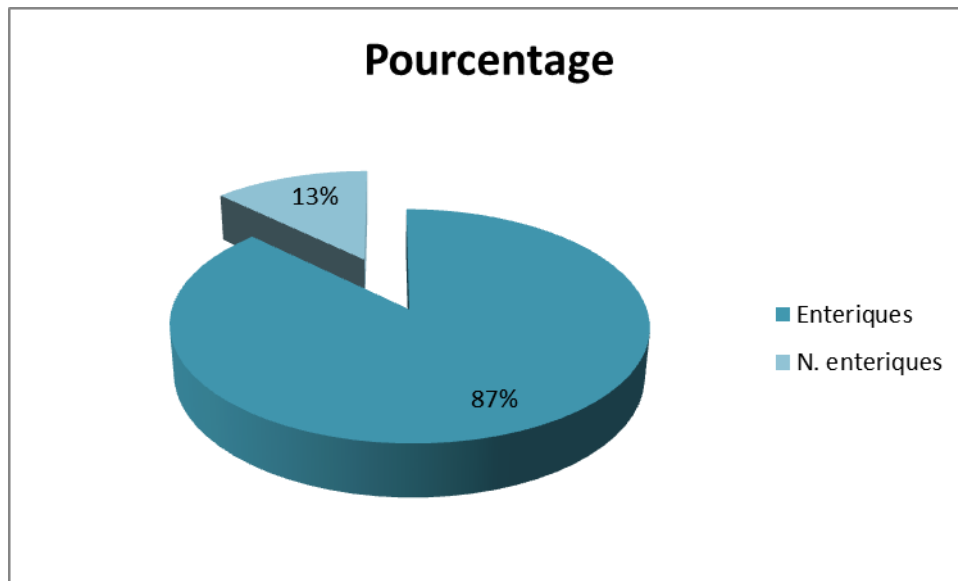


Figure 14 : Fréquence des bactéries identifiées dans les trois effluents.

La distribution des bactéries détectées montre une prédominance au niveau des effluents de l'hôpital Ben Bouali avec une fréquence de 44% (24souches), suivie par les effluents de l'hôpital Frantz Fanon 31% (17 souches) et des eaux usées rejetées par l'hôpital Brahim Tirichine 25% (14souches).

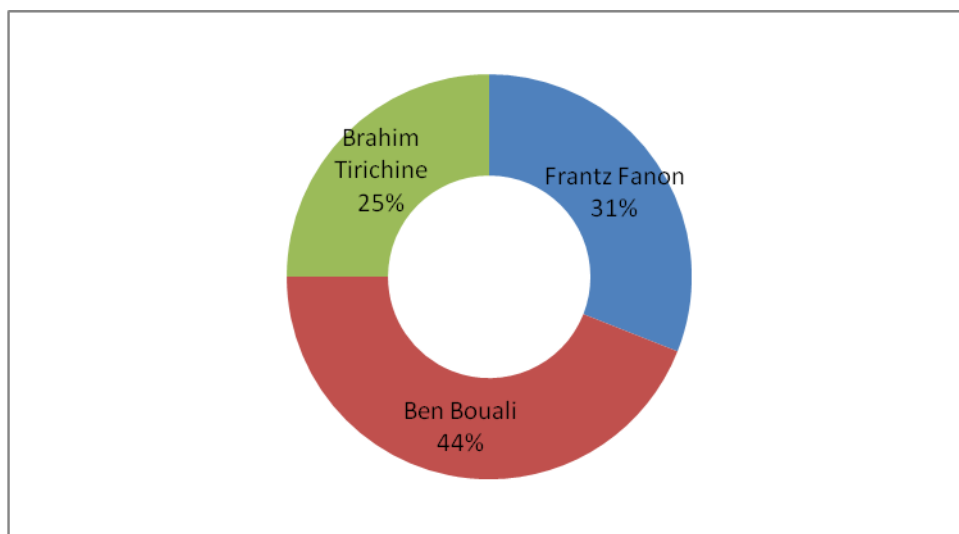


Figure 15 : Fréquence des bactéries en fonction du site de prélèvement.

II.4.1. Répartition des entérobactéries détectées dans les effluents selon les différents sites de prélèvement

La répartition des souches d'entérobactéries identifiées est variable selon le site de prélèvement. Parmi ces entérobactéries, 16 souches (33%) proviennent des effluents de l'hôpital de Frantz Fanon, 11 souches (23%) de l'hôpital de Brahim Tirichine et 21 souches (44 %) sont détectées au niveau des eaux usées rejetées par l'hôpital Ben Bouali (figure16).

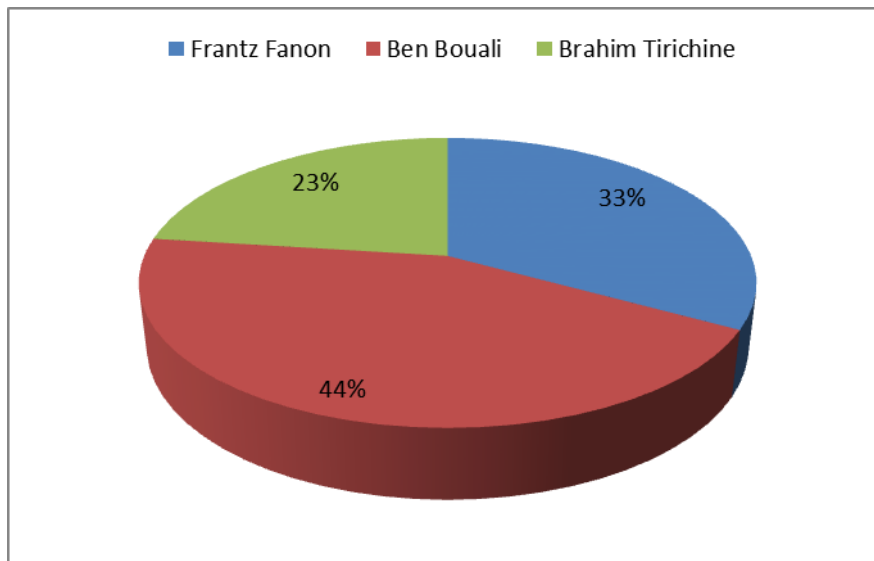


Figure 16: Distribution des souches d'entérobactéries détectées dans les effluents selon le site de prélèvement.

II.4.2. Distribution des entérobactéries dans l'ensemble des effluents étudiés

Une prédominance de *Klebsiella ornithinolytica* avec dix souches (20,83%) suivie d'*E. coli* et *Citrobacter Koseri/ farmeri* avec cinq souches (10,41%), *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* et *Serratia odorifera* avec quatre souches (8,33%), *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* et *Serratia marcescens* trois souches (6,25%) et deux souches (4,16%) pour *Klebsiella terrigena* et *Enterobacter sakazakii* ont été notées.

Une souche (2,08%) pour *Citrobacter youngae*, *Citrobacter braakii*, *Leclercia adecarboxylata*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri* et le genre *Salmonella* qui est représenté par *Salmonella arizonae* et *Salmonella spp* ont été également répertoriées (figure 17).

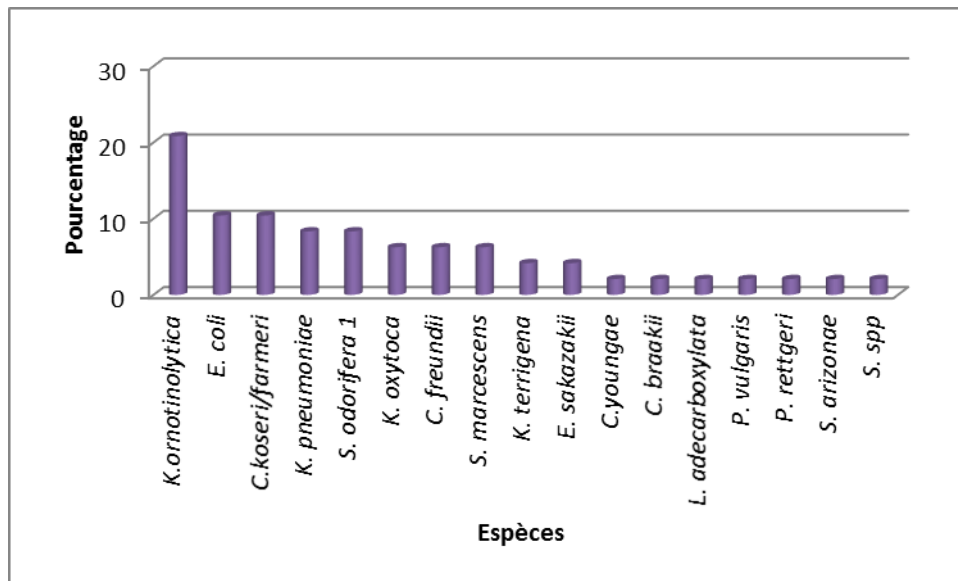


Figure 17 : Répartition de l'ensemble d'espèces d'entérobactéries.

La figure 18 illustre la répartition des souches identifiées au niveau des effluents de chaque site. Nous notons :

- Dans les effluents de l'hôpital Frantz Fanon : 3 souches (18,75%) de *Klebsiella ornithinolytica* et *E. coli*, 1 souche (6,25%) pour *Citrobacter Koseri/farmeri*, *Serratia odorifera 1*, *Klebsiella terrigena*, *Enterobacter sakazakii*, *Citrobacter youngae* et *Salmonella arizonae*.
- Dans les effluents de l'hôpital Ben Bouali : 4 souches (19,04%) pour *Klebsiella ornithinolytica* et *Citrobacter Koseri/farmeri*, 2 souches (9,52%) pour *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*, *Serratia odorifera 1* et *Citrobacter freundii*, 1 souche (4,76%) pour *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter braakii*, *Leclercia adecarboxylata*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri* et *Salmonella spp*.
- Dans les eaux usées rejetées par l'hôpital Brahim Tirichine : 3 souches (27,27%) pour *Klebsiella ornithinolytica*, 2 souches (18,18%) pour *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*, 1 souche (9,09%) pour *Serratia odorifera 1*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella terrigena* et *Enterobacter sakazakii*.

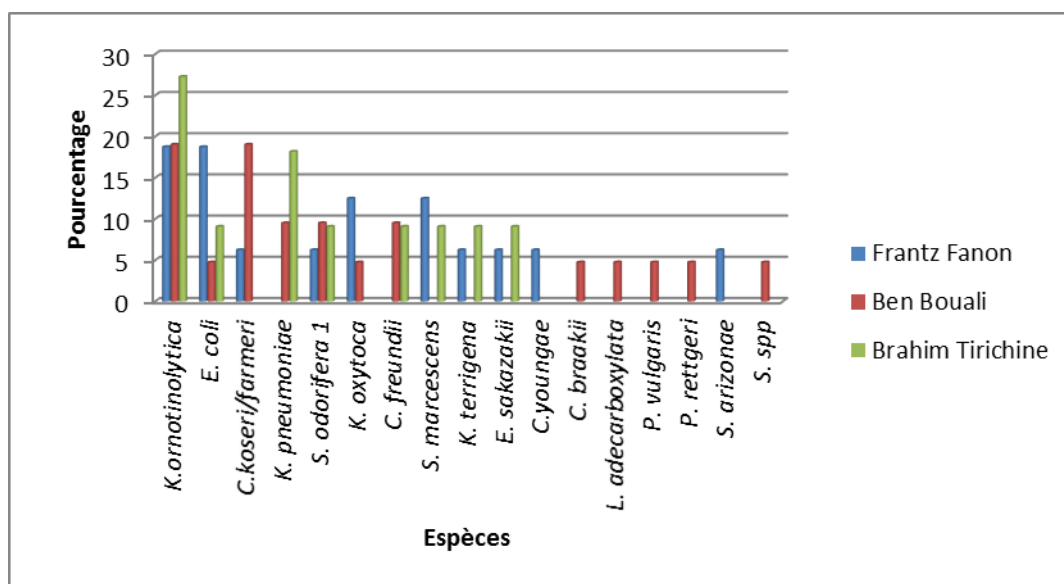


Figure 18 : Répartition de l'ensemble d'espèces d'entérobactéries dans chaque site.

II.5. Antibiogramme

Toutes les souches identifiées ont été testées vis-à-vis de 20 molécules d'antibiotiques, appartenant à 8 familles différentes dont 9 β -lactamines, 2 aminosides, 1 phénicol, 2 tétracyclines, 1 macrolide, 1 sulfamide et associations, 1 quinolone et 3 ATB divers (Voir Tableau X, annexe II).

II.5.1. Résistance de l'ensemble des entérobactéries isolées des trois effluents vis-à-vis des antibiotiques

Les résultats illustrés (voir annexe III) ont fait ressortir l'émergence de souches résistantes aux différentes familles d'antibiotiques.

Les souches d'entérobactéries ont montré une résistance importante vis-à-vis de la majorité des β -lactamines à l'exception de l'imipénème.

Les taux de résistance étaient les suivants : Pénicilline, Amoxicilline/ Acide clavulanique (100%), Ampicilline /dérivés (97,91%) ; Céfazoline (89,58%); Céfotaxime (89,58%) ; Oxacilline (87,5%); Céftriaxone (50%); Aztréonam (66,66%) et l'Imipénème (39,58%).

Pour les aminosides, le taux le plus élevé était pour la Kanamycine (75%) suivie de la Tobramycine (35,41%). Pour les Phénicoles (Chloramphénicol), le taux était de 25% (figure 19).

Pour les Tétracyclines, un taux de résistance de 81,25% vis-à-vis de la Tétracycline et de 54,16% vis-à-vis de la Doxycycline ont été observées.

Concernant les Sulfamides (Triméthoprim/sulfaméthoxazole), les acrolides (Lincomycine) et les quinolones (Ofloxacine), les taux de résistance étaient de 95,83%, 93,73% et 25% respectivement.

Pour les autres antibiotiques, un taux de résistance de 95,83%, vis-à-vis de l'acide Fusidique et de la Vancomycine et un taux de résistance de 77,08% pour la Rifampicine ont été enregistrés.

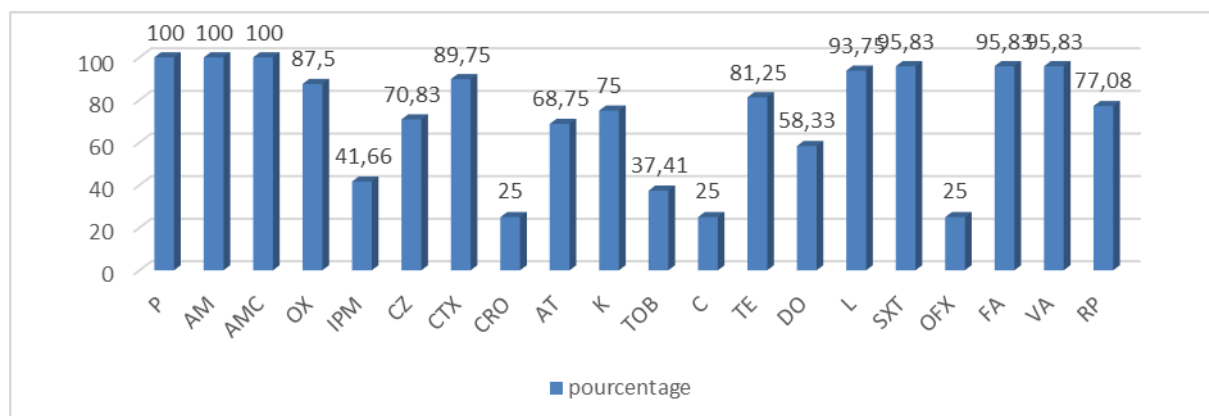


Figure 19 : Taux de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques testés.

Pénicilline (P), Ampicilline(AM), Amoxicilline/ acide clavulanique (AMC), Oxacilline (OX), Imipenème (IPM), Céfazoline (CZ), Céfotaxime (CTX), Céftriaxone (CRO), Aztréonam (AT) , Kanamycine (K), Tobramycine (TOB), Chloramphénicol (C), Tétracycline (TE), Doxycycline (DO), Lincomycine (L), Triméthoprimé/ sulfaméthoxazole (SXT), Ofloxacin (OFX), Acide fusidique (FA), Vancomycine (VA), Rifampicine (RP).

II. 5.2.Résistance globale des entérobactéries aux antibiotiques en fonction des sites

L'analyse globale des résultats de l'antibiogramme a montré une différence de taux de résistance en fonction du site (Tableau XI). En effet, les taux de résistance les plus importants (100%) correspondent à la résistance vis-à-vis de la Pénicilline dans tous les sites de prélèvement ainsi qu'à l'Oxacilline au niveau des effluents de l'hôpital Frantz Fanon, Ampicilline, Amoxicilline/Acide clavulanique, Céfazoline et Céfotaxime au niveau des eaux usées rejetées par l'hôpital Brahim Tirichine, Acide fusidique au niveau des effluents des hôpitaux Frantz Fanon et Brahim Tirichine, vancomycine et Triméthoprimé/sulfaméthoxazole au niveau des effluents des hôpitaux Ben Bouali et Brahim Tirichine.

La fréquence des taux de résistance sont proches pour les trois sites de prélèvement. Pour la famille des β -lactamines, les pourcentages de résistance les plus élevés (80%-100%) ont été observés vis-à-vis de l'Ampicilline, Amoxicilline/Acide clavulanique, Céfazoline et Céfotaxime.

Un pourcentage de résistance qui varie entre 50% à 80% a été noté vis-à-vis de l'Aztréonam et un faible pourcentage a été observé pour la Céftriaxone (0%-50%).

Pour les Aminosides, le pourcentage de résistance vis-à-vis de la Kanamycine était élevé au niveau des effluents de l'hôpital Brahim Tirichine (90,90%).

Dans les eaux rejetées par l'hôpital Frantz Fanon, les souches ont montré une résistance élevée vis-à-vis de la Tobramycine (56,25%).

Dans le cas de la famille des macrolides (Doxycycline), le pourcentage de résistance était élevé (100%) dans l'hôpital de Brahim Tirichine et un pourcentage moyen à Ben Bouali (57,14%) et 43,75% à Frantz Fanon.

Concernant le Chloramphénicol et la Rifampicine, le pourcentage de résistance est proche pour les effluents des trois hôpitaux.

Tableau XI : Pourcentage de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques testés dans les différents sites de prélèvement.

Famille	ATB (%)	Frantz Fanon	Ben Bouali	Brahim Tirichine
β- lactamines	P	100	100	100
	AM	93,75	100	90,90
	AMC	93,75	100	81,81
	OX	100	90,47	63,63
	IPM	37,5	33,33	63,63
	CZ	93,75	85,71	100
	CTX	87,5	90,47	100
	CRO	31,25	42,85	09,09
Aminosides	AT	68,75	61,90	90,90
	K	68,75	66,66	90,90
Phénicoles	TOB	56,25	28,57	18,18
	C	25	19,04	27,27
Tétracycline	TE	75	76,19	81,81
	DO	43,75	57,14	100
Macrolides	L	93,75	90,47	90,90
Sulfamides	SXT	87,5	100	100
Quinolones	OFX	25	19,04	18,18
Autres	FA	100	90,47	100
	VA	87,5	100	100
	RP	75	76,19	81,81

Résistance de *Klebsiella ornithinolytica*

L'analyse des 10 profils de résistance des souches de *Klebsiella ornithinolytica* isolées à partir des eaux usées de l'hôpital Frantz Fanon (3 souches), Ben Bouali (4 souches) et Brahim Tirichine (3 souches), montre des taux de résistance très élevés (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/Acide clavulanique, Tétracycline, Acide fusidique, Vancomycine et Triméthoprim/ sulfaméthoxazole dans les trois sites de prélèvement .

Un taux de résistance très élevée (90%) vis-à-vis de l'imipénème et de la Céfazoline résultant de 100% de résistance à Brahim Tirichine et Ben Bouali et 66,66% à Frantz Fanon, pour le Kanamycine, 100% de résistance à Frantz Fanon et Brahim Tirichine et 66,66% à Ben Bouali.

Klebsiella ornithinolytica a montré une résistance :

- de 80% vis-à-vis de la Rifampicine résultant des 100% de résistance dans les effluents de l'hôpital de Ben Boulaid et 66,66% dans les eaux rejetées par les deux autres hôpitaux.
- Lincomycine résultant de 100% de résistance dans les eaux usées rejetées par l'hôpital Frantz Fanon et Brahim Tirichine et 50% au niveau des effluents de Ben Bouali.
- Et pour la Doxycycline, résultant de 100% de résistance dans les effluents de l'hôpital Brahim Tirichine, 75% à Ben Bouali et 66,66% à Frantz Fanon (Tableau XII).

L'Aztréonam avec une résistance globale de 70%, résultant de 100% de résistance dans les effluents de l'hôpital de Brahim Tirichine, 75% à Ben Bouali et 33,33% à Frantz Fanon.

Un taux moyen de résistance (50%) pour l'Oxacilline, résultant de 100% de résistance des effluents au niveau de l'hôpital Frantz Fanon, 50% à Ben Bouali et de 100% de sensibilité dans les eaux usées de l'hôpital Brahim Tirichine.

Le Chloramphénicol avec un taux de résistance de 30%, résultant de 50% de résistance des effluents au niveau de Ben Bouali, 33,33% à Frantz Fanon et 100% de sensibilité à Brahim Tirichine.

Globalement, un faible taux de résistance (20%) a été obtenu vis-à-vis de la Tobramycine résultant de 33,33% à Frantz Fanon, 25% à Ben Bouali et 100% de sensibilité à Brahim Tirichine et l'Ofloxacin résultant de 33,33% au niveau des hôpitaux de Frantz Fanon et Brahim Tirichine, 100% de sensibilité à Ben Bouali.

Concernant la Céftriaxone, *Klebsiella ornithinolytica* montre un très faible taux de résistance (10%) résultant de 33,33% dans les effluents de l'hôpital Frantz Fanon et 100% de sensibilité dans les deux autres hôpitaux.

Tableau XII : Pourcentage de *Klebsiella ornithinolytica* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site d'étude.

Famille	ATB(%)	Frantz Fanon			Brahim Tirichine			Ben Bouali			
β-lactamines	P	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	AM	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	AMC	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	OX	100	100	100	0	0	0	0	100	100	0
	IPM	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	CZ	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100
	CTX	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100
	CRO	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aminosides	AT	100	0	0	100	100	100	0	100	100	100
	K	100	100	100	100	100	100	100	0	100	100
Phénicoles	TOB	0	100	0	0	0	0	0	0	100	0
	C	0	100	0	0	0	0	100	100	0	0
Tétracyclines	TE	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	DO	100	100	0	100	100	100	100	100	0	100
Macrolides	L	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0
Sulfamides	SXT	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Quinolones	OFX	0	100	0	0	0	100	0	0	0	0
Autres	FA	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	VA	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	RP	0	100	100	100	100	0	100	100	100	100

Les souches de *Klebsiella ornithinolytica* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance sauf quelques différences sont observés (Tableau XIII) :

Tableau XIII: Phénotype de résistance de *Klebsiella ornithinolytica*.

Espèce	β-lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracyclines	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
K. or 1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, CRO, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA
K. or 2	P, AM, AMC, OX, IPM, CZ, CTX	K, TOB	C	TE, DO	L	SXT	OFX	FA, VA, RP
K. or 3	P, AM, AMC, OX, IPM	K	-	TE	L	SXT	-	FA, VA, RP
K. or 4	P, AM, AMC, IPM, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP

K. or 5	P, AM, AMC, IPM, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP
K. or 6	P, AM, AMC, IPM, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	OFX	FA, VA
K. or 7	P, AM, AMC, IPM, CZ, CTX	K	C	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP
K. or 8	P, AM, AMC, IPM, OX, CZ, CTX, AT	-	C	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP
K. or 9	P, AM, AMC, IPM, OX, CZ, CTX, AT	K, TOB	-	TE	-	SXT	-	FA, VA, RP
K. or 10	P, AM, AMC, IPM, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	-	SXT	-	FA, VA, RP

Résistance d'*E. coli*

Les cinq souches d'*E. coli* isolées, trois souches des effluents de l'hôpital Frantz Fanon, une souche à Brahim Tirichine et Ben Bouali présentent une résistance totale de 100% vis-à-vis de la Pénicilline, l'Oxacilline, Triméthoprim/sulfaméthoxazole, l'Acide fusidique et la Rifampicine .

Un pourcentage de résistance important (80%) pour l'Ampicilline, l'Amoxicilline/acide clavulanique, Lincomycine résultant de 100% de résistance dans les effluents des hôpitaux de Frantz Fanon et Ben Bouali et 100% de sensibilité dans les eaux usées de l'hôpital Brahim Tirichine ont été notés.

Pour les antibiotiques suivants : kanamycine, Doxycycline, Céfotaxime, Tétracycline, l'Ofloxacin et la Vancomycine, un taux global de résistance de 80% résultant de 100% au niveau des eaux usées de l'hôpital de Ben Bouali et Brahim Tirichine et de 66,66% à Frantz Fanon ont été observés.

Pour la Tobramycine, résultant de 100% de résistance à Frantz Fanon et Brahim Tirichine et 100% de sensibilité à Ben Bouali ont été notés (tableau XIV).

Les isolats d'*E. coli* présentent un pourcentage de 60% pour l'Imipenème, résultant de la résistance (100%) dans les effluents de l'hôpital Brahim Tirichine, 66,66% à Frantz Fanon et 100% de sensibilité à Ben Bouali. Pour la céfazoline, résultant de 100% de résistance dans les eaux usées de l'hôpital Brahim Tirichine, 66,66% à Frantz Fanon et de 100 % sensibilité à Ben Bouali.

Le Chloramphénicol montre une résistance de 40% résultant de la résistance de 100% dans les effluents issus de l'hôpital Brahim Tirichine, 33,33% à Frantz Fanon et de 100 % sensibilité à Ben Bouali.

Un faible taux de résistance (20%) pour Céftriaxone résultant 100% de résistance dans les effluents rejetés par l'hôpital Ben Bouali et de 100% sensibilité dans les effluents des deux autres hôpitaux. Pour l'Aztréonam résultant de 100% de résistance dans les effluents de la structure hospitalière Brahim Tirichine et de 100% sensibilité dans les eaux usées des deux autres hôpitaux.

Tableau XIV : Pourcentage d'*E. coli* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site d'étude.

Famille	ATB (%)	Frantz Fanon			Ben Bouali	Brahim Tirichine
β-lactamines	P	100	100	100	100	100
	AM	100	100	100	100	0
	AMC	100	100	100	100	0
	OX	100	100	100	100	100
	IPM	100	0	100	0	100
	CZ	0	100	100	0	100
	CTX	0	100	100	100	100
	CRO	0	0	0	100	0
Aminosides	AT	0	0	0	0	100
	K	100	0	100	100	100
Phéniocolés	TOB	100	100	100	0	100
	C	0	100	0	0	100
Tétracyclines	TE	100	100	0	100	100
	DO	0	100	100	100	100
Macrolides	L	100	100	100	100	0
Sulfamides	SXT	100	100	100	100	100
Quinolones	OFX	0	100	100	100	100
Autres	FA	100	100	100	100	100
	VA	100	100	0	100	100
	RP	100	100	100	100	100

Les souches *d'E. coli* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance toutefois on note quelques différences (Tableau XV) :

Tableau XV: Phénotype de résistance d'*E. coli*.

Espèces	β -lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
E. coli 1	P, AM, AMC, OX, IPM,	K, TOB	-	TE	L	SXT	-	FA, VA, RP
E. coli 2	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX	TOB	C	TE, DO	L	SXT	OFX	FA, VA, RP
E. coli 3	P, AM, AMC, OX, IPM, CZ, CTX	K, TOB	-	DO	L	SXT	OFX	FA, RP
E. coli 4	P, AM, AMC, OX, CTX, CRO	K	-	TE, DO	L	SXT	OFX	FA, VA, RP
E. coli 5	P, OX, IPM, CZ, CTX, AT	K, TOB	C	TE, DO	-	SXT	OFX	FA, VA, RP

Résistance de *Citrobacter Koseri/farmeri*

L'étude des cinq souches de *Citrobacter Koseri/farmeri* isolées des effluents issus de l'hôpital de Ben Bouali (4 souches) et de ceux de l'hôpital de Frantz Fanon (1 souche) révèlent des taux de résistance (100%) très élevées vis-à-vis de la Pénicilline, l'Ampicilline, l'Amoxicilline/ Acide clavulanique, l'Oxacilline, Céfazoline, Céftriaxone, Aztréonam, Lincomycine, Triméthoprim/ sulfaméthoxazole, acide Fusidique et Vancomycine pour les deux sites de prélèvement.

Un taux de résistance élevé (80%) pour le céfotaxime, kanamycine, tétracycline et la rifampicine résultant de 100% de résistance à Frantz Fanon et 75% à Ben Bouali a été observé

Pour les aminosides (tobramycine), un taux de résistance global de 60%, résultant de 75% de résistance dans l'hôpital de Ben Bouali et 100% de sensibilité dans l'hôpital de Frantz Fanon. Cependant, un taux de résistance de 40% pour la famille de tétracycline (doxycycline) résultant de 50% de résistance dans l'hôpital de Ben Bouali et de 100% de sensibilité dans Frantz Fanon a été noté (tableau XVI).

Le chloramphénicol est actif sur les souches de *Citrobacter Koseri/farmeri*.

Tableau XVI : Pourcentage de résistance de *Citrobacter Koseri/farmeri* vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement.

Famille	ATB (%)	Frantz Fanon	Ben Bouali			
β- lactamines	P	100	100	100	100	100
	AM	100	100	100	100	100
	AMC	100	100	100	100	100
	OX	100	100	100	100	100
	IPM	0	0	0	100	0
	CZ	100	100	100	100	100
	CTX	100	100	100	0	100
	CRO	100	100	100	100	100
	AT	100	100	100	100	100
Aminosides	K	100	100	100	100	0
	TOB	0	0	100	100	100
Phénicoles	C	0	0	0	0	0
Tétracyclines	TE	100	0	100	100	100
	DO	0	0	100	0	100
Macrolides	L	100	100	100	100	100
Sulfamides	SXT	100	100	100	100	100
Quinolones	OFX	0	0	0	0	100
Autres	FA	100	100	100	100	100
	VA	100	100	100	100	100
	RP	100	100	0	100	100

Les souches de *Citrobacter Koseri/farmeri* présentent également presque tous les mêmes phénotypes de résistance à l'exception de quelques différences qui sont observés (Tableau XVII):

Tableau XVII : Phénotype de résistance de *Citrobacter Koseri/farmeri*.

Espèces	β-lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
C. Kf 1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, CRO, AT	K,	-	TE	L	SXT	-	FA, VA, RP
C. Kf 2	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, CRO, AT	K	-	-	L	SXT	-	FA, VA, RP
C. Kf 3	P, AM, AMC, OX, IPM, CZ, CTX,	K, TOB	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA

	CRO, AT							
C. Kf 4	P, AM, AMC, OX, IPM CZ, CRO, AT	K, TOB	-	TE	L	SXT	-	FA, VA, RP
C. Kf 5	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, CRO, AT	TOB	-	TE, DO	L	SXT	OFX	FA, VA, RP

Résistance de *Serratia odorifera* 1

Selon le Tableau XVIII, quatre souches de *Serratia odorifera* 1 ont été isolées : une souche des effluents de l'hôpital de Frantz Fanon, deux souches de Ben Bouali et une seule souche de Brahim Tirichine.

Elles présentent globalement les mêmes taux de résistance (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/ acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline, Céfotaxime, Aztréonam, Kanamycine, Lincomycine, Triméthoprim/ sulfaméthoxazole et Vancomycine pour l'ensemble des sites de prélèvement.

Un taux moyen de résistance (50%) vis-à-vis de la Tétracycline et de l'Acide fusidique, résultant de 100% de résistance dans les effluents issus des hôpitaux de Frantz Fanon et de Brahim Tirichine et de 100% de sensibilité dans ceux issus de l'hôpital de Ben Bouali est observé.

Un taux faible de résistance global (25%) pour le Chloramphénicol, l'Ofloxacin résultant de 50% de résistance à Ben Bouali et de sensibilité dans les deux autres hôpitaux et pour la rifampicine qui résulte de 100% au niveau de l'hôpital de Brahim Tirichine et de 100% de sensibilité dans les deux autres hôpitaux est noté.

L'imipénème, Ceftriaxone, Tobramycine et Doxycycline s'avèrent très efficaces contre *Serratia odorifera* 1.

Tableau XVIII : Pourcentage de résistance de *Serratia odorifera* 1 vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement.

Famille	ATB (%)	Ben Bouali		Frantz Fanon	Brahim Tirichine
β- lactamines	P	100	100	100	100
	AM	100	100	100	100
	AMC	100	100	100	100
	OX	100	100	100	100
	IPM	0	0	0	0
	CZ	100	100	100	100
	CTX	100	100	100	100
	CRO	0	0	0	0
Aminosides	AT	100	100	100	100
	K	100	100	100	100
Phénicoles	TOB	0	0	0	0
	C	0	100	0	0
Tétracyclines	TE	0	0	100	100
	DO	0	0	0	0
Macrolides	L	100	100	100	100
Sulfamides	SXT	100	100	100	100
Quinolones	OFX	100	0	0	0
Autres	FA	0	0	100	100
	VA	100	100	100	100
	RP	0	0	0	100

Les souches de *Serratia odorifera* 1 présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance sauf quelques différences sont observés (Tableau XIX), surtout au niveau de la résistance à la Tétracycline, Chloramphénicol, Ofloxacin et la Rifampicine.

Tableau XIX : Phénotype de résistance de *Serratia odorifera* 1.

Espèces	β-lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
S. odo 1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	K	-	-	L	SXT	OFX	VA
S. odo 2	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	K	C	-	L	SXT	-	VA
S. odo 3	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	K	-	TE	L	SXT	-	FA, VA
S. odo 4	P, AM, AMC,	K	-	TE	L	SXT	-	FA, VA, RP

	OX, CZ, CTX, AT							
--	--------------------	--	--	--	--	--	--	--

✚ Résistance de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*

Au total, quatre souches de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* ont été isolées des effluents dont deux souches des eaux usées de l'hôpital de Ben Bouali et deux autres souches des effluents de Brahim Tirichine.

Elles présentent une résistance totale (100%) pour vis à vis des ATB suivant : Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/ Acide clavulanique, Céfazoline, Céfotaxime, Kanamycine, Doxycycline, Lincomycine, Triméthoprim/sulfaméthoxazole, Acide fusidique et Vancomycine.

Un taux de résistance élevé de 75% pour l'oxacilline résultant de 100% de résistance dans les effluents issus de l'hôpital de Ben Bouali et 50% de ceux de Brahim Tirichine. Pour l'Imipénème, Ceftriaxone, Aztréonam, Tétracycline et Rifampicine, un taux de résistance de 100% à Brahim Tirichine et 50% à Ben Bouali ont été observés.

Les isolats de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* présentent un pourcentage moyen de résistance (50%) vis-à-vis de la Tobramycine pour les deux sites de prélèvement.

Un taux faible de résistance de 25% pour le Chloramphénicol résultant de 50% de résistance dans les effluents de l'hôpital de Brahim Tirichine et 100% de sensibilité dans ceux l'hôpital de Ben Bouali est noté (tableau XX).

50% de résistance vis-à-vis de l'Ofloxacin a été observé dans les effluents de l'hôpital Ben Bouali

Tableau XX: Pourcentage de résistance de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement.

Famille	ATB (%)	Ben Bouali		Brahim Tirichine	
β- lactamines	P	100	100	100	100
	AM	100	100	100	100
	AMC	100	100	100	100
	OX	100	100	0	100
	IPM	0	100	100	100
	CZ	100	100	100	100
	CTX	100	100	100	100
	CRO	100	100	100	0
	AT	100	0	100	100
Aminosides	K	100	100	100	100
	TOB	100	0	100	0
Phénicoles	C	0	0	0	100
Tétracyclines	TE	100	0	100	100
	DO	100	100	100	100
Macrolides	L	100	100	100	100

Sulfamides	SXT	100	100	100	100
Quinolones	OFX	100	0	0	0
Autres	FA	100	100	100	100
	VA	100	100	100	100
	RP	0	100	100	100

Les souches de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance (Tableau XXI). La différence réside au niveau de la résistance aux tobramycine, chloramphénicol et l'ofloxacine.

Tableau XXI : Phénotype de résistance de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*.

Espèces	β -lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
K. pn1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, CRO, AT	K, TOB	-	TE, DO	L	SXT	OFX	FA, VA
K. pn 2	P, AM, AMC, OX, IPM, CZ, CTX, CRO	K	C	DO	L	SXT	-	FA, VA, RP
K. pn 3	P, AM, AMC, IPM, CZ, CTX, CRO, AT	K, TOB	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP
K. pn 4	P, AM, AMC, OX, IPM, CZ, CTX, AT	K	C	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP

Résistance de *Serratia marcescens*

Les souches de *Serratia marcescens* isolées à partir des effluents sont réparties comme suit : deux souches pour les effluents de l'hôpital Frantz Fanon et une seule souche pour ceux de Brahim Tirichine.

Elles montrent une résistance totale (100%) pour : Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/ Acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline, Lincomycine, Triméthoprimé/ sulfaméthoxazole et l'Acide fusidique dans les deux sites de prélèvement.

Un pourcentage de 66,66% pour : Céfotaxime, Aztréonam, Kanamycine, Tétracycline, Vancomycine résultant de 100% de résistance dans les effluents de l'hôpital Brahim Tirichine

et 50% dans ceux issus de Frantz Fanon et pour la Rifampicine, un taux de résistance de 100% dans les eaux usées de Frantz Fanon et une sensibilité de 100% dans ceux rejetés par Brahim Tirichine ont été observés.

Un taux faible de résistance 33,33% pour l'Imipenème, Tobramycine et chloramphénicol résultant de 50% de résistance des eaux usées issues de l'hôpital Frantz Fanon et 100% de sensibilité pour ceux de Brahim Tirichine est observé. Pour la Doxycycline et l'Ofloxacine, un taux de résistance de 100% pour les effluents de Brahim Tirichine et 0% pour ceux de Frantz Fanon est observé (tableau XXII).

Le Céftriaxone est le seul antibiotique efficace contre *Serratia marcescens*.

Tableau XXII: Pourcentage de résistance de *Serratia marcescens* vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement.

Famille	ATB (%)	Frantz Fanon		Brahim Tirichine
β- lactamines	P	100	100	100
	AM	100	100	100
	AMC	100	100	100
	OX	100	100	100
	IPM	0	100	0
	CZ	100	100	100
	CTX	0	100	100
	CRO	0	0	0
Aminosides	AT	100	0	100
	K	0	100	100
Phénicol	TOB	0	100	0
	C	0	100	0
Tétracycline	TE	100	0	100
	DO	0	0	100
Macrolides	L	100	100	100
Sulfamides	SXT	100	100	100
Quinolones	OFX	0	0	100
Autre	FA	100	100	100
	VA	0	100	100
	RP	100	100	0

Les souches de *Serratia marcescens* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance (tableau XXIII). La différence est au niveau de la résistance vis-à-vis de l'imipenème, tobramycine, chloramphénicol, l'ofloxacine, vancomycine et la rifampicine.

Tableau XXIII : Phénotype de résistance de *Serratia marcescens*.

Espèces	β -lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
S. mar 1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	-	-	TE	L	SXT	-	FA, RP
S. mar 2	P, AM, AMC, OX, IPM CZ, CTX	K, TOB	C	-	L	SXT	-	FA, VA , RP
S. mar 3	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	OFX	FA, VA

Résistance de *Klebsiella oxytoca*

Les trois souches de *Klebsiella oxytoca* isolées à partir des effluents de l'hôpital de Frantz Fanon (2souches) et de Ben Bouali (1 souche), montrent une résistance totale (100%) vis-à-vis de la Pénicilline ,Ampicilline, Amoxicilline/ Acide clavulanique , Oxacilline , Ceftriaxone , Doxycycline , Lincomycine , Acide fusidique et Vancomycine pour les deux sites de prélèvement .

Un taux de résistance important 66,66% a été noté vis-à-vis d'Imipenème et Rifampicine résultant de 100% de résistance à Ben Bouali et 50% à Frantz Fanon et pour Céfazoline, Céfotaxime, Aztréonam, Tobramycine, Ofloxacin résultant de 100% de résistance à Frantz Fanon et de sensibilité à Ben Bouali (tableau XXIV).

Les isolats expriment un faible pourcentage 33,33% de résistance global vis-à-vis de la Kanamycine, Chloramphénicol et Tétracycline résultant de 50% de résistance à Frantz Fanon et 100% de sensibilité à Ben Bouali.

Pour la Triméthoprim/ sulfaméthoxazole un taux de 100% de résistance à Ben Bouali et 100% de sensibilité à Frantz Fanon.

Tableau XXIV : Pourcentage de résistance de *Klebsiella oxytoca* vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement.

Famille	ATB (%)	Frantz Fanon		Ben Bouali
β- lactamines	P	100	100	100
	AM	100	100	100
	AMC	100	100	100
	OX	100	100	100
	IPM	0	100	100
	CZ	100	100	0
	CTX	100	100	0
	CRO	100	100	100
Aminosides	AT	100	100	0
	K	100	0	0
Phénicole	TOB	100	100	0
	C	100	0	0
Tétracycline	TE	0	100	0
	DO	100	100	100
Macrolides	L	100	100	100
Sulfamides	SXT	0	0	100
Quinolones	OFX	100	100	0
Autre	FA	100	100	100
	VA	100	100	100
	RP	100	0	100

Les souches de *Klebsiella oxytoca* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance (tableau XXV). La différence réside au niveau de la résistance vis-à-vis de la Kanamycine, Chloramphénicol, Tétracycline et la Triméthoprim/ sulfaméthoxazole.

Tableau XXV : Phénotype de résistance de *Klebsiella oxytoca*.

Espèces	β-lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
K. oxy 1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, CRO, AT	K , TOB	C	DO	L	-	OFX	FA, VA, RP
K. oxy 2	P, AM, AMC, OX, IPM CZ, CTX, CRO, AT	TOB	-	TE , DO	L	-	OFX	FA, VA
K. oxy 3	P, AM, AMC, OX, IPM, CRO	-	-	DO	L	SXT	-	FA, VA, RP

✚ Résistance de *Citrobacter freundii*

Citrobacter freundii a été retrouvée au niveau des effluents de l'hôpital de Brahim Tirichine (1 souche) et ceux de Ben Bouali (2 souches).

Comme toutes les entérobactéries, *Citrobacter freundii* présente une résistance totale (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/Acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline, Céfotaxime, Tétracycline, Lincomycine, Triméthoprim/sulfaméthoxazole, Acide fusidique et Vancomycine pour les deux sites de prélèvement .

Un taux de résistance important de 66,66% vis-à-vis de la Kanamycine résultant de 100% de résistance à Ben Bouali et 50% à Brahim Tirichine et un taux faible de 33,33% pour la Doxycycline, Rifampicine résultant de 50% de résistance à Ben Bouali et 100% de sensibilité à Brahim Tirichine et pour l'Aztréonam résultant de 100% de résistance à Brahim Tirichine et 50% à Ben Bouali (tableau XXVI).

L'Imipenème, Céftriaxone , Tobramycine, Chloramphénicol et Ofloxacine sont très efficace sur les isolats de *Citrobacter freundii*.

Tableau XXVI : Pourcentage de résistance de *Citrobacter freundii* vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement.

Famille	ATB (%)	Ben Bouali		Brahim Tirichine
β- lactamines	P	100	100	100
	AM	100	100	100
	AMC	100	100	100
	OX	100	100	100
	IPM	0	0	0
	CZ	100	100	100
	CTX	100	100	100
	CRO	0	0	0
	AT	100	0	0
Aminosides	K	100	0	100
	TOB	0	0	0
Phénicolé	C	0	0	0
Tétracycline	TE	100	100	100
	DO	100	0	0
Macrolides	L	100	100	100
Sulfamides	SXT	100	100	100
Quinolones	OFX	0	0	0
Autre	FA	100	100	100
	VA	100	100	100
	RP	100	0	100

Les souches de *Citrobacter freundii* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance (Tableau XXVII), la différence est au niveau de la résistance vis-à-vis de la Doxycycline et l'Aztréonam.

Tableau XXVII: Phénotype de résistance de *Citrobacter freundii*.

Espèces	β -lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
C. fr 1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP
C. fr 2	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX	-	-	TE	L	SXT	-	FA, VA
C. fr 3	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX	K	-	TE	L	SXT	-	FA, VA, RP

Résistance d'*Enterobacter sakazakii*

Dans les deux sites de prélèvement à savoir les effluents de l'hôpital Frantz Fanon et celui de Brahim Tirichine (Tableau XXVIII), les isolats d'*Enterobacter sakazakii* (2 souches) sont résistantes (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Oxacilline, Céfazoline, Céfotaxime, Aztréonam, Tétracycline, Lincomycine, Triméthoprim/ sulfaméthoxazole, acide Fusidique et Vancomycine.

Un taux de résistance de 50% vis-à-vis de l'Amoxicilline/Acide clavulanique, Kanamycine, Rifampicine résultant des 100% de résistance à Frantz Fanon et de 0% à Brahim Tirichine .

Les autres antibiotiques testés ont une excellente activité en inhibant la croissance des souches d'*Enterobacter sakazakii*.

Tableau XXVIII : Pourcentage d'*Enterobacter sakazakii* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

Famille	ATB (%)	Frantz Fanon	Brahim Tirichine
β - lactamines	P	100	100
	AM	100	100
	AMC	100	0
	OX	100	100
	IPM	0	0
	CZ	100	100
	CTX	100	100
	CRO	0	0

	AT	100	100
Aminosides	K	100	0
	TOB	0	0
Phénicoles	C	0	0
Tétracycline	TE	100	100
	DO	0	0
Macrolides	L	100	100
Sulfamides	SXT	100	100
Quinolones	OFX	0	0
Autres	FA	100	100
	VA	100	100
	RP	0	100

Les souches d'*Enterobacter sakazakii* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance (Tableau XXIX). La différence réside au niveau de la résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline/ Acide clavulanique, Kanamycine et la Rifampicine.

Tableau XXIX : Phénotype de résistance d'*Enterobacter sakazakii*.

Espèces	β -lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
E. sak 1	P, AM, AMC , OX, CZ, CTX, AT	K	-	TE	L	SXT	-	FA, VA
E. sak 2	P, AM, OX, CZ, CTX, AT	-	-	TE	L	SXT	-	FA, VA, RP

Résistance de *Klebsiella terrigena*

Les deux souches de *Klebsiella terrigena* isolées à partir des effluents des hôpitaux de Frantz Fanon et Brahim Tirichine, montrent une résistance totale (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/Acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline, Céfotaxime, Kanamycine, Aztréonam, Tétracycline, Doxycycline, Lincomycine, Thriméthoprimine/ sulfaméthoxazole, Acide fusidique, Vancomycine et Rifampicine (figure 20).

L'Imipenème (IPM), Céftriaxone (CRO), Tobramycine(TOB), Chloramphénicol (C) et Ofloxacin (OFX) sont les plus efficaces sur les isolats de *Klebsiella terrigena*.

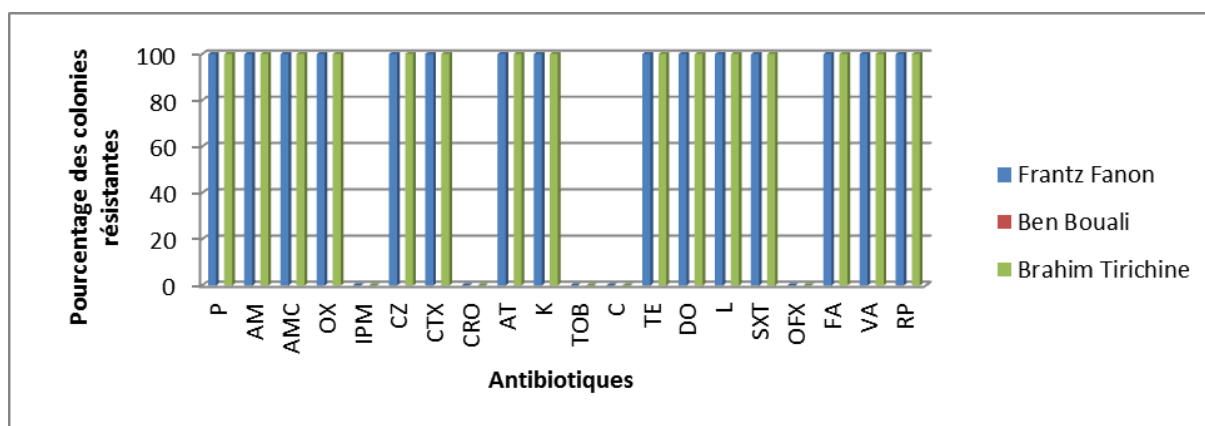


Figure 20: Pourcentage de résistance de *Klebsiella terrigena* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Tableau XXX : Pourcentage de *Klebsiella terrigena* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

Famille	ATB (%)	Frantz Fanon	Brahim Tirichine
β- lactamines	P	100	100
	AM	100	100
	AMC	100	100
	OX	100	100
	IPM	0	0
	CZ	100	100
	CTX	100	100
	CRO	0	0
	AT	100	100
Aminosides	K	100	100
	TOB	0	0
Phénicoles	C	0	0
Tétracycline	TE	100	100
	DO	100	100
Macrolides	L	100	100
Sulfamides	SXT	100	100
Quinolones	OFX	0	0
Autres	FA	100	100
	VA	100	100
	RP	100	100

Les souches de *Klebsiella terrigena* présentent presque tous les mêmes phénotypes de résistance (Tableau XXXI).

Tableau XXXI : Phénotype de résistance de *Klebsiella terrigena*.

Espèces	β -lactamines	Aminosides	Phénicoles	Tétracycline	Macrolides	Sulfamides	Quinolones	Autres
K. ter 1	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP
K. ter 2	P, AM, AMC, OX, CZ, CTX, AT	K	-	TE, DO	L	SXT	-	FA, VA, RP

✚ Résistance de *Citrobacter youngae*

La souche de *Citrobacter youngae* a été retrouvée uniquement dans les eaux rejetées par l'hôpital Frantz Fanon.

L'étude de l'antibiogramme révèle des taux de résistance très élevés (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/Acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline, Céfotaxime, Tobramycine, Tétracycline, Lincomycine, Thriméthoprim/ Sulfaméthoxazole, Acide fusidique, Vancomycine et Rifampicine (figure 21).

L'Imipénème, Céftriaxone, Aztréonam, Kanamycine, Chloramphénicol et l'Ofloxacin restent les plus efficaces pour *Citrobacter youngae*.

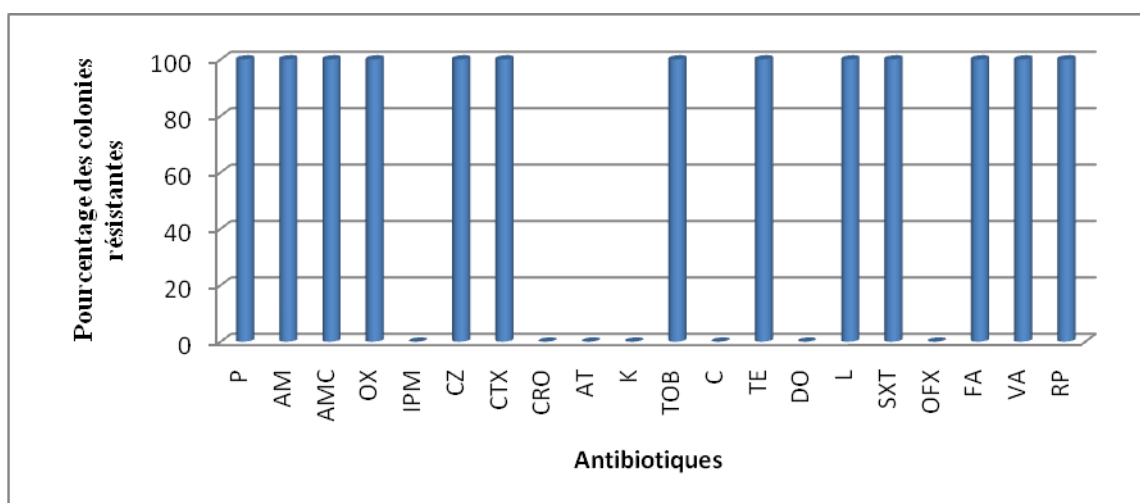


Figure 21 : Pourcentage de résistance de *Citrobacter youngae* vis-à-vis des antibiotiques testés.

✚ Résistance de *Citrobacter braakii*

La souche de *Citrobacter braakii* a été retrouvée au niveau des effluents de l'hôpital de Ben Bouali. L'étude de la résistance de cette souche révèle des taux de résistance très élevés (100%) vis-à-vis des β -lactamines (Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/ Acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline, Céfotaxime), Aminosides (Tobramycine), Tétracycline, Macrolides (Lincomycine), les Sulfamides (Thriméthoprine/ sulfaméthoxazole) et Acide fusidique, Vancomycine et Rifampicine (figure 22).

Les antibiotiques les plus efficaces sont : l'Imipenème, Céftriaxone, Aztréonam, Kanamycine, Chloramphénicol, Doxycycline et l'Ofloxacin.

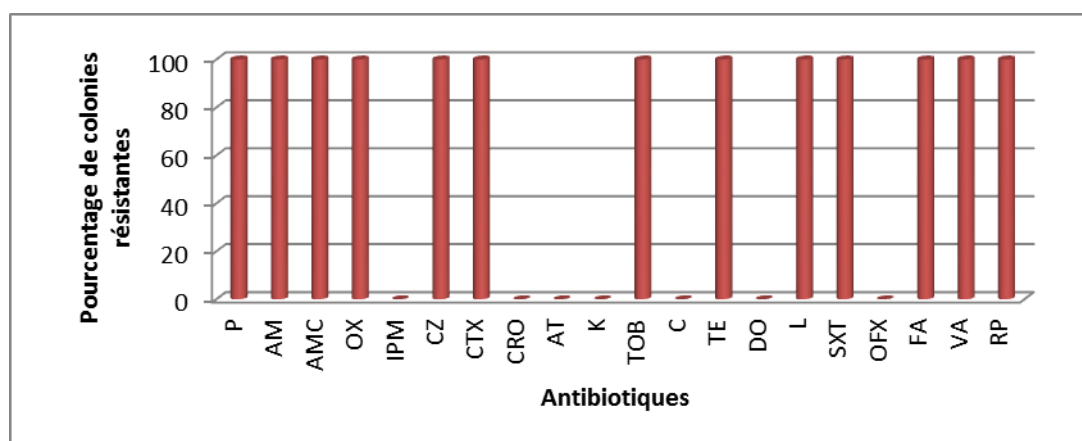


Figure 22 : Pourcentage de résistance de *Citrobacter braakii* vis-à-vis des antibiotiques testés.

✚ Résistance de *Leclercia adecarboxylata*

La souche de *Leclercia adecarboxylata* a été retrouvée au niveau des effluents de l'hôpital Ben Bouali.

L'étude de la résistance de cette souche révèle des taux de résistance très élevés (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/ acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline et Céfotaxime.

Pour les Aminosides, cette souche montre une résistance de 100% vis-à-vis de la Tobramycine et de la Kanamycine (figure 23).

Une résistance élevée (100%) à la Tétracycline, Lincomycine, Thriméthoprine/ sulfaméthoxazole, Acide fusidique, Vancomycine et Rifampicine a été enregistrée.

L'Imipenème, Céftriaxone, Aztréonam, Tobramycine, Chloramphénicol, Doxycycline et l'Ofloxacin restent les antibiotiques les plus efficaces pour *Leclercia adecarboxylata*.

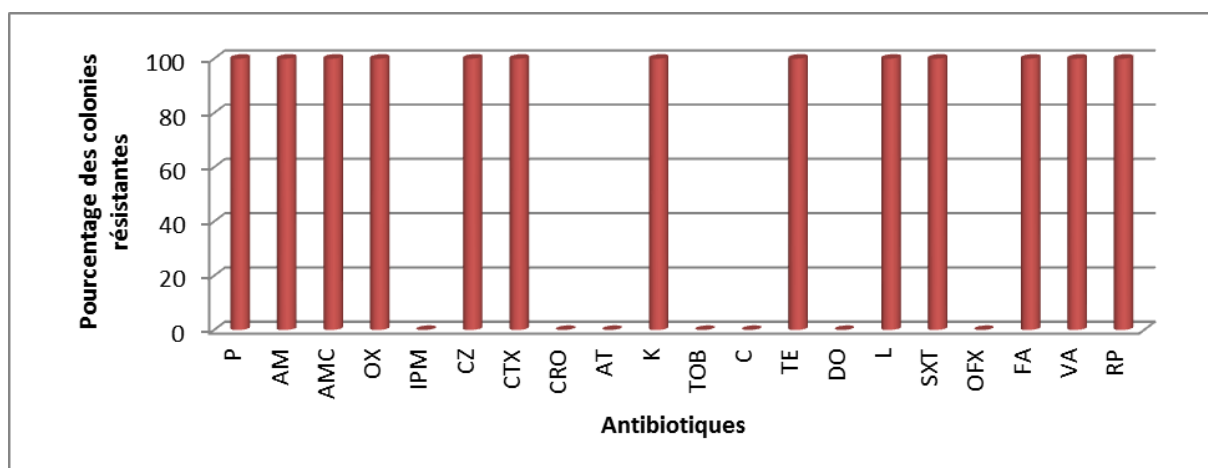


Figure 23 : Pourcentage de résistance de *Leclercia adecarboxylata* vis-à-vis des antibiotiques testés.

✚ Résistance de *Proteus vulgaris*

La souche de *Proteus vulgaris* a été retrouvée au niveau des eaux usées rejetées par l'hôpital Ben Bouali.

L'étude de la résistance de cette souche révèle des taux de résistance très élevés (100%) pour la Pénicilline, l'Ampicilline, l'Amoxicilline/Acide clavulanique, l'Oxacilline, la Céfazoline et la Céfotaxime.

Une résistance élevée (100%) au Chloramphénicol, Tétracycline, Lincomycine, Thriméthoprim/ sulfaméthoxazole, Acide fusidique, Vancomycine et Rifampicine a été observée (figure 24).

Une efficacité (100% de sensibilité) montrée pour l'Imipenème, Céftriaxone, Aztréonam, Kanamycine, Tobramycine, Doxycycline et l'Ofloxacin.

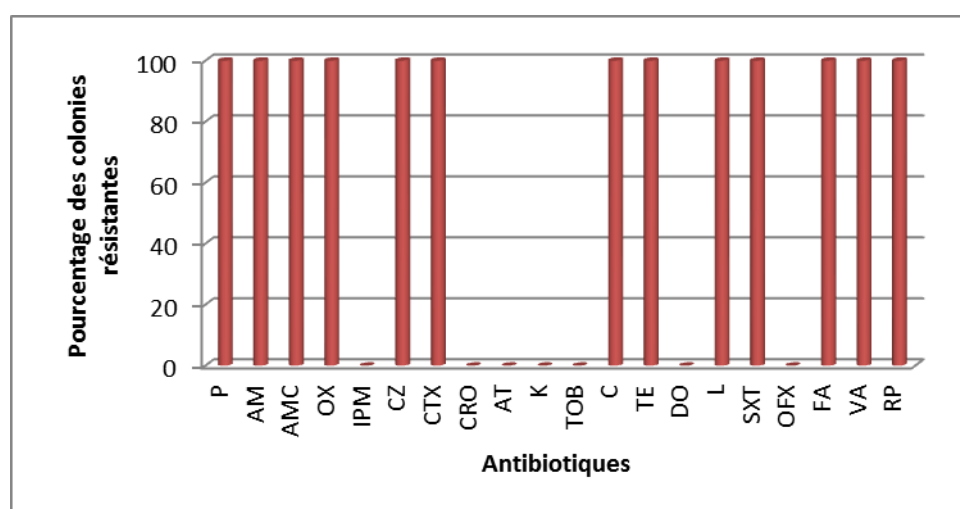


Figure 24: Pourcentage de résistance de *Proteus vulgaris* vis-à-vis des antibiotiques testés.

✚ Résistance de *Salmonella arizonae*

Salmonella arizonae a été isolée à partir des effluents de l'hôpital Frantz Fanon.

L'analyse de profil de résistance montre une résistance élevée (100%) vis-à-vis de la famille des β -lactamines (Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/ Acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline et Céfotaxime, Céftriaxone et Aztréonam (figure 25).

Pour les aminosides, cette souche révèle également une résistance élevée (100%) vis-à-vis de la Tobramycine et de la Kanamycine ainsi qu'à d'autres familles d'antibiotiques.

Les antibiotiques qui sont actifs sur cette souche sont : l'Imipénème, Chloramphénicol, Tétracycline, Doxycycline et l'Ofloxacin.

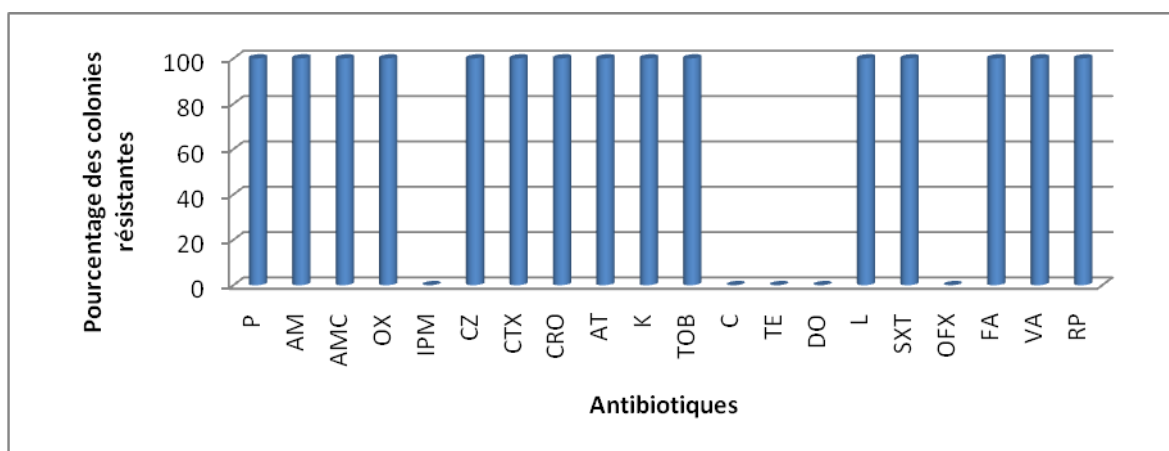


Figure 25 : Pourcentage de résistance de *Salmonella arizonae* vis-à-vis des antibiotiques testés.

✚ Résistance de *Salmonella spp*

Salmonella spp a été retrouvée uniquement au niveau des effluents de l'hôpital de Ben Bouali. Selon la figure 26, la souche de *Salmonella spp* présente un taux de résistance important (100%) vis à vis des β -lactamines (Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/ Acide clavulanique, Oxacilline, Céfazoline et Céfotaxime, Céftriaxone et Aztréonam).

Egalement, une résistance élevée (100%) pour les autres antibiotiques Tétracyclines, Doxycycline, Lincomycine, Thriméthoprimine/ Sulfaméthoxazole, Acide fusidique, Vancomycine et Rifampicine a été observée durant cette étude.

L'Imipénème, Kanamycine, Tobramycine, Chloramphénicol et l'Ofloxacin restent les ATB les plus efficaces.

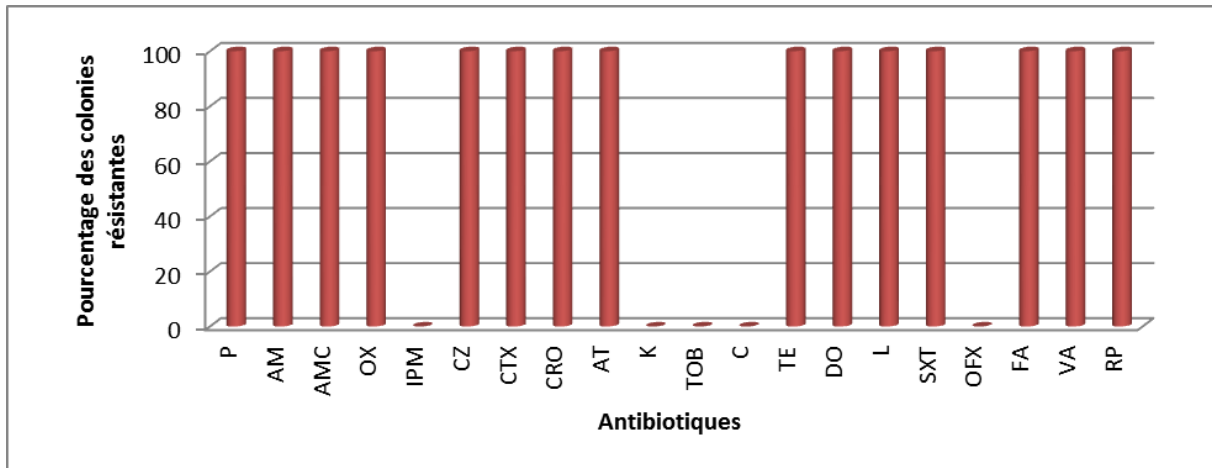


Figure 26 : Pourcentage de résistance de *Salmonella spp* vis-à-vis des antibiotiques testés.

🚩 Résistance de *Providencia rettgeri*

Providencia rettgeri a été isolée à partir des eaux usées de l'hôpital Ben Bouali et présente une résistance totale (100%) vis-à-vis de la Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline/Acide clavulanique, Oxacilline, Céfotaxime et Aztréonam (figure 27).

En ce qui concerne la Kanamycine, Tétracycline, Lincomycine, Thriméthoprim/Sulfaméthoxazole, Acide fusidique, Vancomycine et Rifampicine, le taux de résistance est également important (100%).

Les antibiotiques qui sont actifs sont l'Imipénème, Céfazoline, Tobramycine, Chloramphénicol, Doxycycline et l'Ofloxacin.

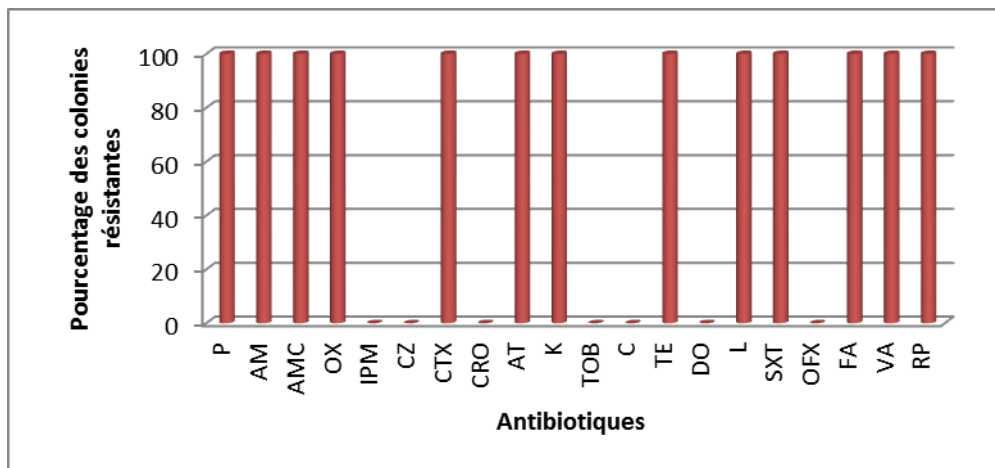


Figure 27 : Pourcentage de résistance de *Providencia rettgeri* vis-à-vis des antibiotiques testés.

II.6. Résultats du test de synergie

Durant cette étude, aucune souche n'a montré une image de synergie entre les céphalosporines de 3^{ème} génération et/ou l'Aztréonam et l'acide Clavulanique traduisant ainsi une BLSE négative (figure 28).

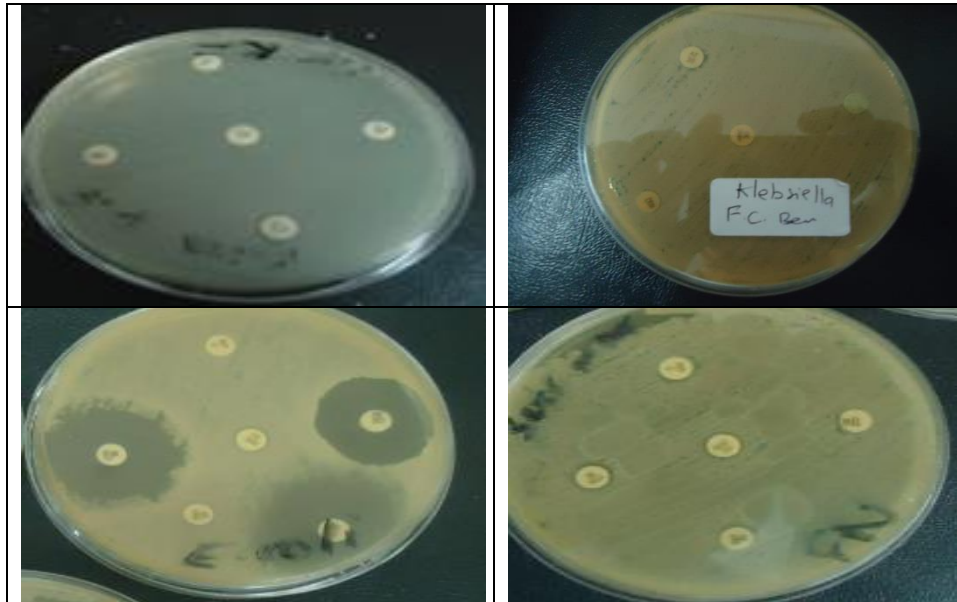


Figure 28 : Résultats du test BLSE.

II.7. Résultats du calcul de l'indice MAR

Nous avons calculé l'indice de MAR (Multiple Antibiotic Resistance) en fonction des isolats (figure 38) et en fonction des sites (figure 29).

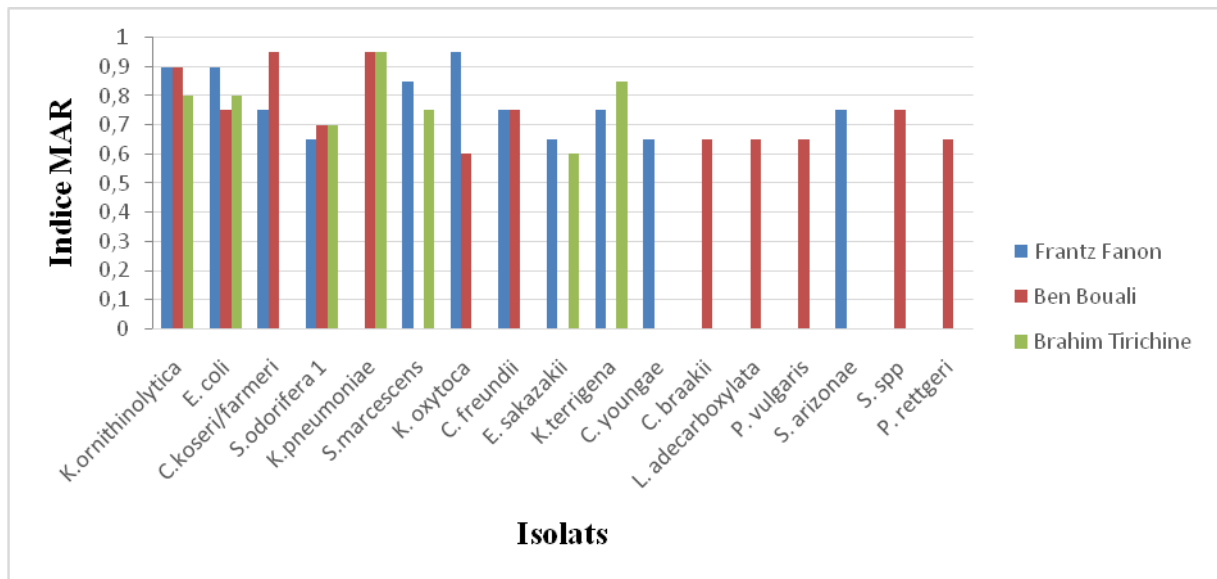


Figure 29 : Indice MAR calculé à partir des différents isolats.

Le calcul de l'indice MAR pour les isolats a permis de montrer que toutes les valeurs obtenues sont supérieures à 0,2.

Les espèces bactériennes qui expriment la valeur la plus élevée (0,95) sont :

- Pour les effluents de l'hôpital de Frantz Fanon, c'est *Klebsiella oxytoca*,
- Pour les effluents de l'hôpital Ben Bouali, ce sont *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* et *Citrobacter Koseri/farmeri*
- Et pour ceux de Brahim Tirichine, c'est *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*.

La valeur la plus faible est obtenue :

- Pour les souches isolées des effluents de l'hôpital Frantz Fanon (0,65) pour *Citrobacter youngae*, *Enterobacter sakazakii* et *Serratia odorifera 1* ;
- Et celles des hôpitaux Ben Bouali et Brahim Tirichine (0,6) pour *Klebsiella oxytoca* et *Enterobacter sakazakii* respectivement.

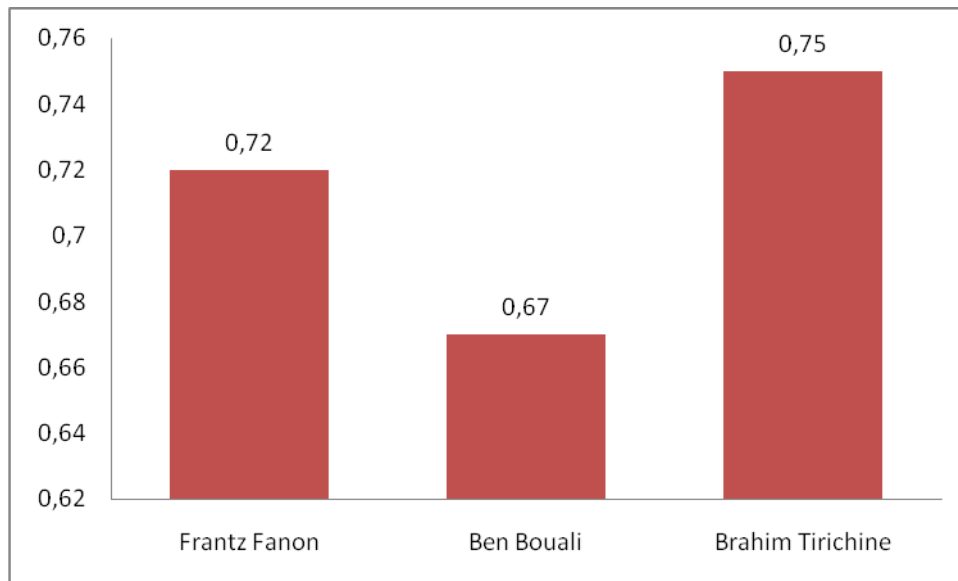


Figure 30 : Indice MAR calculé à partir des différents sites.

Les valeurs calculées de l'indice MAR des trois sites varient entre 0,67 pour les eaux usées rejetées par l'hôpital Ben Bouali et 0,75 pour les effluents de l'hôpital Brahim Tirichine.

CONCLUSION

L'antibiothérapie a permis de faire grandement reculer la mortalité liée aux maladies infectieuses bactériennes et à contribuer à la préservation de la santé. La face négative de ce progrès sanitaire est l'apparition croissante de bactéries multirésistantes du fait d'une utilisation massive et répétée de ces molécules. Ces BMR peuvent se retrouver dans les milieux aquatiques et peuvent constituer un réservoir ou un chemin de micro-organismes qui peuvent atteindre l'homme par la chaîne alimentaire ou par les activités de loisirs. Ceci est un problème de santé publique émergent qui exige l'évaluation de la résistance aux antibiotiques dans le milieu aquatique.

Dans cette étude, sur le plan bactériologique, les résultats révèlent une diversité d'entérobactéries identifiées avec une fréquence d'isolement de 87% à partir des effluents de trois établissements hospitaliers où *Klebsiella ornithinolytica* (20,83%) prédominait, suivie par *E. coli* et *Citrobacter Koseri/ farmeri* (10,41%), *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia odorifera 1* (8,33%), *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* et *Serratia marcescens* (6,25%) ainsi que *Klebsiella terrigena* et *Enterobacter sakazakii* (4,16%). Une faible fréquence d'isolement (2,08%) pour *Citrobacter youngae*, *Citrobacter brakii*, *Leclercia adecarboxylata*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Salmonella arizonae* et *Salmonella spp.*

Un grand nombre de souches a révélé des phénotypes de résistance vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques où les bêta-lactamines présentaient un pourcentage très élevé de 50% à 100% à l'exception de l'imipénème 39.58%. Les niveaux de résistance atteints vis-à-vis les bêta-lactamines sont associés à de nombreux mécanismes de résistance, parmi la production de bêta-lactamases où toutes les souches ont montré une BLSE négatif.

Pour les tétracyclines, le taux de résistance était de 54,16% à 81,25 %. Pour les aminosides, le taux le plus élevée était pour le kanamycine (75%) suivie de la tobramycine (35,41%). Pour les sulfamides et les macrolides, les taux de résistance étaient de 95,83%, 93,73% respectivement. Pour les quinolones et les phénicoles, l'activité inhibitrice est maintenue globalement avec un pourcentage faible de résistance (25%).

Concernant les autres familles d'antibiotiques, nous avons également obtenu un pourcentage alarmant de résistance vis-à-vis de l'acide fusidique et de la vancomycine avec 95,83% et vis-à-vis de la rifampicine (77,08%).

L'étude montre une grande consommation d'antibiotiques représentés par les valeurs obtenues par le calcul de l'indice MAR. En effet, 100% des isolats bactériens ont montré une valeur supérieure à 0,2 dans les trois effluents.

Les valeurs calculées de l'indice MAR des trois sites varient entre 0,67 et 0,75 ce qui indique une source de risque élevée de contamination d'origine humaine.

Recommandations et Perspectives

Afin d'assurer une surveillance régulière et cohérente des écosystèmes aquatiques et pour prévenir la diffusion des agents pathogènes dans l'environnement

- Il est nécessaire de surveiller la sensibilité vis-à-vis des antibiotiques à intervalles réguliers.
- Effectuer des traitements des eaux usées hospitalières avant le déversement de ces eaux dans l'environnement car le traitement de l'eau est essentielle non seulement pour tuer les bactéries pathogènes mais aussi pour arrêter le transfert des gènes de résistance entre ces bactéries.
- Etablir les normes de rejets spécifiques aux effluents hospitaliers.
- Analyse de contrôle des résidus médicamenteux afin de minimiser la consommation abusive des antibiotiques qui peut conduire à la dissémination de la résistance.

A l'avenir, la réduction de l'utilisation des antibiotiques chez l'homme couplée à des méthodes adaptées de traitement des effluents des hôpitaux doivent permettre de réduire la diffusion de l'antibiorésistance vers l'environnement aquatique.

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
1	Différents modes d'action d'antibiotiques	5
2	Cycle β - lactame	7
3	Classification de β - lactamines	8
4	Localisation géographique des zones d'étude	16
5	Photo de l'égout principal de l'hôpital de Frantz Fanon	17
6	Photo de l'égout de l'hôpital de Ben Bouali ex Ben Boulaïd	17
7	Photo de l'égout principal de l'hôpital de Brahim Tirichine ex Fabourg	17
8	Protocole de l'expérimentation	19
9	Recherche des coliformes totaux par la méthode de NPP sur le milieu BCPL	22
10	Recherche des coliformes fécaux par la méthode de NPP sur milieu Schubert	24
11	Schéma de Vedel	29
12	Variation de la température couvrant chaque site	32
13	Les valeurs du PH enregistrés dans les différents sites de chaque prélèvement	33
14	Fréquence des bactéries identifiées dans les trois effluents	40
15	Fréquence des bactéries en fonction du site de prélèvement	40
16	Distribution des souches d'entérobactéries détectées dans les effluents selon le site de prélèvement	41
17	Répartition de l'ensemble d'espèces d'entérobactéries	42
18	Répartition de l'ensemble d'espèces d'entérobactéries dans chaque site	43
19	Taux de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques testés	44
20	Pourcentage de résistance de <i>Klebsiella terrigena</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	62
21	Pourcentage de résistance de <i>Citrobacter youngae</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	63
22	Pourcentage de résistance de <i>Citrobacter braakii</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	64
23	Pourcentage de résistance de <i>Leclercia adecarboxylata</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	65
24	Pourcentage de résistance de <i>Proteus vulgaris</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	65
25	Pourcentage de résistance de <i>Salmonella arizonae</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	66
26	Pourcentage de résistance de <i>Salmonella spp</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	67
27	Pourcentage de résistance de <i>Providencia rettgeri</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	67
28	Résultats du test BLSE	68
29	Indice MAR calculé à partir des différents isolats	69

30	Indice MAR calculé à partir des différents sites	70
31	Table de NPP (table de Mac Grady)	Annexe II
32	Recherche des salmonelles	Annexe II



**LISTE DES
TABLEAUX**

Tableaux	Titre	Page
I	Les caractères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés	4
II	Les paramètres physico-chimiques et leur protocole d'exécution	Annexe I
III	Nom et charge des disques d'antibiotiques utilisés	28
IV	Températures moyennes pour chaque site de prélèvement	32
V	Dénombrement des Coliformes totaux, fécaux et des Salmonelles	33
VI	Examen macroscopique des colonies suspectes	35
VII	Résultats de TSI des colonies suspectes	36
VIII	Identification par la galerie api 20 ^E	37
IX	Espèces d'entérobactéries identifiées par la galerie api 20 ^E	39
X	Nom, abréviation et charge des disques d'antibiotiques utilisés	Annex II
XI	Pourcentage de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques testés dans les différents sites de prélèvement	45
XII	Pourcentage de <i>Klebsiella ornithinolytica</i> résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site d'étude	47
XIII	Phénotype de résistance de <i>Klebsiella ornithinolytica</i>	47
XIV	Pourcentage d' <i>E. coli</i> résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site d'étude	49
XV	Phénotype de résistance d' <i>E. coli</i>	50
XVI	Pourcentage de résistance de <i>Citrobacter Koseri/farmeri</i> vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement	51
XVII	Phénotype de résistance de <i>Citrobacter Koseri/ farmeri</i>	51
XVIII	Pourcentage de résistance de <i>Serratia odorifera 1</i> vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement	53
XIX	Phénotype de résistance de <i>Serratia odorifera 1</i>	53
XX	Pourcentage de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i> vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement	54
XXI	Phénotype de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	55
XXII	Pourcentage de résistance de <i>Serratia marcescens</i> vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement	56
XXIII	Phénotype de résistance de <i>Serratia marcescens</i>	57
XXIV	Pourcentage de résistance de <i>Klebsiella oxytoca</i> vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement	58
XXV	Phénotype de résistance de <i>Klebsiella oxytoca</i>	58
XXVI	Pourcentage de résistance de <i>Citrobacter freundii</i> vis-à-vis des antibiotiques testés couvrant chaque site de prélèvement	59
XXVII	Phénotype de résistance de <i>Citrobacter freundii</i>	60
XXVIII	Pourcentage d' <i>Enterobacter sakazakii</i> résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site	60
XXIX	Phénotype de résistance d' <i>Enterobacter sakazakii</i>	61
XXX	Pourcentage de <i>Klebsiella terrigena</i> résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site	62

XXXI	Phénotype de résistance de <i>Klebsiella terrigena</i>	63
XXXII	Tableau de lecture des résultats de la galerie api 20 ^E	Annexe II
XXXIII	Valeurs critique des diamètre des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries	Annexe II
XXXIV	Résultats de mesure des zones d'inhibition pour les entérobactéries détectées exprimés en millimètres	Annexe III

A

- ◆ **Akoua Koffi. C, Guessennnd.N, Gbonon. V, Faye Ketté. H, Dosso.M.2004.**Methicillin resistance of Staphylococcus in Abidjan 1998-2001 : A new problem.Medecine et maladies infectieuses ; 34(3) :132-6.
- ◆ **Alouache Souhila, Kada Mohamed, Messai yamina, Estepa Vanesa, Torres Carmen and Bakour Rabah (2012).** Antibiotic Resistance and Extended-Spectrum β -Lactamases in Isolated Bacteria from Seawater of Algiers Beaches (Algeria). Microbes Environ. Vol. 27, No. 1, 80–86,
- ◆ **Amaya. E, Reyes. D, Paniagua. M, Calderón. S, Rashid. M.-U, Colque. P, Kühn. I, Möllby. R, Weintraub. A, Nord. C. E (2012).** Antibiotic resistance patterns of Escherichia coli isolates from different aquatic environmental sources in Leon, Nicaragua. Clinical Microbiology and Infection, Volume 18 Number 9 : 347-354.
- ◆ **Avril .JL ., DABERNAT. H ., Denis F., Monteil H. 1992.** Bactériologie clinique. Paris : ISBN 2^{ème} edition. p 149-150-151.

B

- ◆ **Badal. R.E, Bouchillon. K.S, Lob.S.H, Hackel.M.A, Hawser.S and Hoban.D.J (2013).**Etiology, Extended-Spectrum Beta-lactamase Rates, and Antimicrobial susceptibility of Gram-negative Bacilli causing Intra-abdominal infections in patients in general Pediatric and Pediatric intensive care units-Global data from the study for monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMAR) 2008-2010, « *Pediatr Infect Dis J* ».
- ◆ **Belghiti M.L, Chahlaoui. A, Bengoumi.D, Moustaine.R. 2013.** Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de la nappe Plio-quaternaire dans la région de Meknès (Maroc).
- ◆ **Benhalima.L, Bensouilah.M, Ouzrout.R (2015).** Antibiotic-Resistant Bacteria Isolated from Waters of Messida Coastal Canal within an Agricultural Area (North-East Algeria). *Advances in environmental Biology*. 9(18) : 147-156.
- ◆ **Bernet.S et Fine.M. 2000.** Effluents du CHU de Caen : Etudes qualitatives et quantitative de la flore microbienne et recherche de bactéries multirésistantes. Poster, 5^{ème} journée du réseau régional d'hygiène et Basse Normandie, Caen.
- ◆ **Bonnet .R. 2006.** β -lactamines et Entérobactéries. Chapitre 15. Livre antibiogramme. Paris. ESKA: 2^{ème} édition. p 143.
- ◆ **Boillot. C. 2008.** Thèse : Evaluation des risques ectotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques.

- ◆ **Boillot.C.2008.** Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques. Biologie Contribution à l'amélioration de la phase « caractérisation des effets ». Thèse INSA de Lyon. Spécialité Sciences de l'environnement industriel et urbain, p 301.

C

- ◆ **Carbonnelle .B., Denis .F., Marmonier. A. 1987.** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. *SIMEP SA*. Paris. p.121-137.
- ◆ **Cavallo.J-D., Fabre. R., Jehl .F., Rapp. C., Garrabé. E. 2004.** Bêtalactamines. EMC Maladies infectieuses. 1 : 129-202.
- ◆ **Cattoir. V. 2012** .Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. Revue Francophone des laboratoires 445, 79-87.
- ◆ **CA-SFM. 2010.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>.
- ◆ **CEAEQ, (2009b).** Recherche et dénombrement simultané des coliformes fécaux et d'*Escherichia coli* dans l'eau potable avec le milieu de culture MI; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 20 p.
- ◆ **Chapman. D.1996.** Water Assessments : A guide to the use of Biota, Sediments and Water in environmental Monitoring seconded. Chapman and Hall, London, UK. pp 59-126.
- ◆ **Chaudhuri, B. Net al., (2011).** Incidence of ESBL producers amongst Gram- negative bacilli isolated from intra-abdominal infections across India (based on smart study, 2007 data), *J. Assoc physicians India* ; 59, pp.287-292.
- ◆ **Chen .L., Hainrichson .D., Bourdetsky. M., Mor. A., Yaron. S. et Baasov. T. 2008.** Structure–toxicity relationship of aminoglycosides: Correlation of 2'-amine basicity with acute toxicity in pseudo-disaccharide scaffolds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*; 16: 8940-8951.
- ◆ **Colodner R, Rock W, Chazan B, Keller N, Guy N, Sakran W, et alp. 2004.** Risk factors for the development of extended-spectrum bêta-lactamase-producing bacteria in Non hospitalized patients p *Eur J Clin Microbiol Infect Disp* ; 23:163-7p.
- ◆ **Coralie. D, Lescure. I, Payot .V, Rouland.G.2002.** Effluents des établissements hospitaliers et la maitrise de la diffusion des bactéries multirésistantes : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et gestion des boues, 10p.

D

- ◆ **Dadie A. T., Guessennd N., Tiekoura B., Faye-Kette H., Dosso M., 2003.** Résistance aux bêtalactamines d'Escherichia coli d'origine alimentaire et humaine isolés à Abidjan. *J.Sci. Pharma. Biol.* 4 (1) :62-69.
- ◆ **Delarass. C, Trebaol.B. 2003.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Paris : 2^{ème} édition. Tec & Doc Lavoisier, EM internationales.269P.
- ◆ **Depaola. 1995.** Effect of oxytetracycline- medicated feed on antibiotic resistance of Gram negative bacteria in catfish ponds. *Applied and Environmental Microbiology.*61.n°6.2335-2340.
- ◆ **Djelouat S. (2009).** Les entérobactéries : L'essentiel. [En ligne]. <http://knol.google.com/k/salim-djelouat/mes-knols/>. (Consulté le 11 Février 2016).
- ◆ **Doi Y. et Arakawa Y. 2007.** 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis*; 45: 88–94.
- ◆ **Doublet. A, Bousquet-Mélou. J, Madec .Y.** Le concept « One Health » en antibiorésistance et les flux de gènes. *Innovations Agronomiques* 24 (2012), 79-90.
- ◆ **Drlica, K. and Zhao, X. 1997** DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 377-392.

E

- ◆ **Ekhaise F.O., Omavwoya B.P., 2008.** Influence of wastewater discharged from university of Benin reaching Hospital (UBTH), Benin City on its receiving environment. *American-Eurasian J. Agric and Environ. Sci.*, 4 (4): 484-488.
- ◆ **El Rhazi.K, Elfakir. S, Berraho.N, Tachfouti. Z, Serhier. C, Kanjaa et Nejjari.2007.** Prévalence et facteurs de risque des infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès (Maroc).*Health Journal* volume 13 No.1 Janaury-February.
- ◆ **El-Ogri.F, Ouazzani.N, Boraâm.F & Mandi .L. (2016).**A survey of wastewaters generated by a hospital in Marrakech city and their characterization, Desalination and Water Treatment.
- ◆ **Emmanuel .E .2003.**Evolution des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers.247P.
- ◆ **Emmanuel. E, Perro.Y, Blanchard. J-M, Keck.G, Vemmande .P.2004.** Approche méthodologique de l'évaluation des risques écotoxicologiques des effluents hospitaliers vis-à-

vis de la STEP locale et de l'écosystème aquatique récepteur. *In* revue francophone d'écologie industrielle. N°35.36P.

- ◆ **Emmanuel. E, Prrodin. Y, Keck.G, Blanchard.J.M and Vermande.P. 2005.** Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. *J. Hazard. Mater*, 117 (1).
- ◆ **Ernest J., Joseph L., Melnick ., Edward A., Adelberg. 1973 .**Microbiologie médicale.4^{ème} édition.150-156p.

F

- ◆ **Feron, A. (1989).** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. La Madeleine : C et R. p 375.

G

- ◆ **Gangoue Pieboji J. 2007.** Caractérisation des β -lactamases et leur inhibition par les extraits des plantes médicinales. Centre d'ingénierie des protéines. Université de Liège. Thèse de doctorat. p 1-27.
- ◆ **Gattoir V. 2006.** Chloramphénicol, Fosfomycine, Acide fusidique et Polymyxines. Chapitre 28. Livre antibiogramme. ESKA : 2^{ème} édition. p 359-364.
- ◆ **Gellert, M., Mizuuchi, K., O'Dea, M. H., Itoh, T., and Tomizawa, J. I. 1977** Nalidixic acid resistance: a second genetic character involved in DNA gyrase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 74, 4772-4776.
- ◆ **Golsdein F.W. 2006.** Sulfamides et Triméthoprième. Chapitre 27. Livre antibiogramme. ESKA : 2^{ème} édition. p 341-348.
- ◆ **Guessennd N, Bremont S, Gbonon V, Kacou-NDouba A, Ekaza E, Lambert T, Dosso M, Courvalin P. (2008).** Resistance aux quinolones de type qnr chez les Enterobactéries.
- ◆ **Guessend. N.K, Ouattara. M.B, Ouattara. N.D, Nevry. R. K, Gbonon. V, Tiekoura. K. B, Dosso. M et le Ger BMR.2013.** Étude des bacteries multiresistantes des effluents hospitaliers de la ville d'Abidjan.

H

- ◆ **Hartemann P., Hautemaniere A et Joyeux M, 2005** La problématique des effluents hospitaliers. *Hygiène*, Vol. 13, n° 5, pp. 369-374

- ◆ **Hermesen E.D., Sullivan C.J. et Rotschafer J.C. 2003.** Polymyxins: pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical applications. *Infect Dis Clin North Am*;17(3): 545-62.
- ◆ **Hopkins, K. L., Davies, R. H., and Threlfall, E. J. 2005** Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int. J. Antimicrob. Agents* 25, 358-373.

I

- ◆ **Islam M. J., M. S. Uddin, M. A. Hakim, K. K. Das, M. N.Hasan. 2008.** Role of untreated liquid hospital waste to the development of antibiotic resistant bacteria. *J. Innov. Dev. Strategy.2* (2):17-21.

J

- ◆ **Joly B. et Reynaud A. 2007.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182.
- ◆ **JORA (Journal Officiel de la République Algérienne).1993.**Journal Officiel de la République Algérienne n°46 du 10 Juillet 1993 7-12.

K

- ◆ **Khaldi. A, Tir Touil Meddah. A and Meddah. B (2015).** Screening of the Multi-resistant Bacteria Isolated from Food, Clinical Infection and Environment Water: Characterization of β - lactamases (2015) *Clinical Microbiology & Case Reports*. 1 (3) : 1-5.
- ◆ **Kessie. 1998.** Plasmid profile and antibioresistance in coagulase- negative staphylococci isolated from polluted water. *Journal of Applied Microbiology*.84.417-422.
- ◆ **Krumperman, P.H. (1983).** Multiple antibiotic resistances indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of faecal contamination food. *Appl.Microb* ; 46 p 165-170.

L

- ◆ **Lavigne J-P. (2007).** Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.
- ◆ **Leprat.P. 1998.** Les rejets liquides hospitaliers; quels agents et quelles solutions techniques? Les assises Nationales QUALI BIO 1998 “Santé et Environnement hospitalier”, Caen, p. 10-13.

- ◆ **Li J., Nation R.L., Milne R.W., Turnidge J. D. et Coulthard K. 2005.** Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents*; 25: 11-25.
- ◆ **Lozniewski A., Rabaud C., Nancy .2010.** Resistance aux antibiotiques (PDF).

M

- ◆ **Magnet S, Blanchard J.S. (2005).** Molecular Insights into Aminoglycoside Action and Resistance. *Chem.Rev.*105 : 477-497.
- ◆ **Mansotte F., Jestin E. 2000.** Les rejets liquides des établissements de santé : caractérisation a 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 p73.
- ◆ **Martinez-Martinez, L., Pascual, A., and Jacoby, G. A. 1998** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 351, 797-799.
- ◆ **Mehmet. F-G, Hosoglu.S, Celal.A, Celen. M-K, Ustun.C.2008.** Surveillance of nosocomial infections in Dicle University Hospital : a ten year Experience. *Turk J Med* ; 38(6) :587-593.
- ◆ **Meyer A., Deiana J. et Bernard A. 2004.** Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés. Editions 2 Doin. p 430.
- ◆ **Mirabaud M. I. 2003.** Entérobactéries a bêta-lactaminases à spectre élargi en pédiatrie en 1996. La Faculté de Médecine de l'Université de Genève . Thèse de Doctorat en médecine

N

- ◆ **Nauciel C, Vildé JL 2005.** Bactériologie médicale 2^{ème} edition p59-63 et p 119-120.
- ◆ **Neal. C, Jarvie .H.P, Howarth. S.M, Whitehead. P.G, Williams.R. J, Neal. M, Harrow.M, Wickham.H. 2000.** The water quality of the River Kennet: initial observations on a lowland chalk stream impacted by sewage inputs and phosphorus remediation. *Sci. Total Environ.* 251-252: 477-495.
- ◆ **Nukaga M, Mayama K, Hujer A-M, Bonoma R-A, Knox J-R. (2003).** Ultrahigh resolution of class A bêta-lactamase: on the mechanism and specificity of the extended spectrum SHV-2 enzyme. *J.Mol.Biol.* 328:289-301.
- ◆ **Nicaido H. 2000.** "Crossing the envelope: how cephalosporin reach their targets." *Clin Microbiol Infect*; 6: 22-26.

O

- ◆ **OMS (Organisation Mondiale de la Santé) 1994.** Directives de la qualité de l'eau de boisson, 2^e ed., vol.1 : recommandations, OMS, Genève, p.8-30.
- ◆ **OMS ,2004.** World health organisation. Directives de qualité pour l'eau de boisson. 3^{eme} édition, volume 1 Recommendations.Genève, Suisse.110p.

P

- ◆ **Péan. Y, Goldstein F.W. et De Bels F. 2001 .** Evolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de la ville au cours des enquêtes Vigil 'Roc. Mal Infect ; 31 : 609-21
- ◆ **Perronne Christain. (1999).** Maladies infectieuses, volume 1. pp65.
- ◆ **Philippon A., et Arlet G. 2006.** β -lactamases de bacilles à Gram négative : le mouvement perpétuel ! Ann Biol Clin; 64 (1): 37-51.
- ◆ **Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., et al. (1979).** Les entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. Doins. Paris. p.109-187.
- ◆ **Prescott., Harley., Klein. (1999).** Microbiologie. De Boeck. Université, 981p.
- ◆ **Putman, M., van Veen, H. W., and Konings, W. N. 2000** Molecular properties of bacterial multidrug transporters. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64, 672-693.

R

- ◆ **Ramade, F. 1998.** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. . Ediscience International, Paris.
- ◆ **Rapt. F.1992.** Evaluation de la qualité microbiologique des eaux résiduaires hospitalières, mémoire de stage de maîtrise BOP option biologie végétale.
- ◆ **Rheinheimer.G.1985.** Aquatic Microbiology. 3rd (Ed). John Wiley & Sons, p 257.
- ◆ **Richard C., 1990.** « Entérobactéries rares et inhabituelles », Bulletin de l'Ass. Ane. El. Inst. Pasteur, 124, 17-25.

- ◆ **Robicsek, A., Strahilevitz, J., Jacoby, G. A., Macielag, M., Abbanat, D., Park, C. H., Bush, K., and Hooper, D. C. 2006** Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat. Med.* 12, 83-88.
- ◆ **Rodriguez-Villalobos H. et Struelens M.-J. 2006.** Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation*; 15: 205-213.

S

- ◆ **Sanae Sadek, F. Benel Harkati, K. Elkharrim, F. Jeddi, I. Rhiate Moufouad, M. Elmarkhi, A. Khadmaoui, S. Mouden, Z. Dakir, D. Belghyti.2013.** Environment and Renewable Energy Laboratory, Faculty of Sciences, Ibn Tofail University, Kenitra, Morocco.
- ◆ **Scheftel J.-M. 2008.** Entérobactéries Chapitre 7 - Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants. Sur le lien : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html>.
- ◆ **Senka .D, Vladimir. B .2003.**Horizontal gene transfer-emergncy multidrug resistance in hospital bacteria.*Acta Phamacol* ; 24(6) : 519-526.
- ◆ **Soussy CJ .2000.** Antibiotiques, Generalités.In : Freney J, Renaud F, Hansen W, Boillet C. Précis de bacteriologie clinique. Paris : ESKA- Alexandre Lacassagne.P : 557-569.
- ◆ **Sugino, A., Peebles, C. L., Kreuzer, K. N., and Cozzarelli, N. R. 1977** Mechanism of action of nalidixic acid: purification of Escherichia coli nalA gène product and its relationship to DNA gyrase and a novel nicking-closing enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 74, 4767-4771.

T

- ◆ **Teresa. C, Horan, John.W, White, William.R.1994.**Nosocomial infection surveillance. Surveillance summaries December 01,1986/35(SS-1) ; 17-29.
- ◆ **Thiolet JM, Lacavé L, Jarno P, Metzger MH, Tronel H, Gautier C, et alp.2007.** Prévalence des infections nosocomiales, France, 2006p *Bull Epidemiol Hebdp* 2007;(51-52):429-32p.
- ◆ **Tissot P. 2005.** Antibiothérapie 1 & 2. I F S I Année 2004 – 2005. Pharmacien- Hyères U/.Sur le lien : ifsi.chhyeres.fr/IMG/pdf/Antibiotherapie.pdf.
- ◆ **Thomas. S, Holger.V, Slike.K, Wolfagang.K, Katja. S, Berrd.J and Ursula.O.2007.** Detection of antibiotic- resistant bacteria and their resistance gènes in waster, surface water and drinking water biofilms, *FEMS Microbiology Ecology*.43(3) :325-335.

V

- ◆ **Van Bambeke F, Pharm SC, Tulkens P, Méd.2008.** Résistance des souches *d'Escherichia coli* et de *Klebseilla pneumoniae* isolées d'infections urinaires. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Faculté de médecine, de pharmacie et d'Odonto- Stomatologie. Département de pharmacie.
- ◆ **Vedel G. 1998.** Lecture interprétative de l'antibiogramme (interprétation phénotypique). In outil d'investigation microbiologique en réanimation. Edition Arnette. p 183-188.
- ◆ **Vedel G (2005).** Simple method to determine β -lactam resistance phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* using the disc agar diffusion test. Journal of antimicrobial chemotherapy. 56(4): 657-664.

W

- ◆ **W.H.O. 1987.** Global pollution and health results of related environmental.

Y

- ◆ **Young, 1993, Antimicrobial** resistance spread in aquatic environments, Journal of antimicrobial chemotherapy, 31,627-635.

I- *Enterobacteriaceae*

I-1 Définition

Cette famille regroupe une variété d'espèces bactériennes. La majorité de ces espèces sont des hôtes normaux du tube digestif. Elles sont retrouvées dans le sol et l'eau, mais le plus souvent sur les muqueuses intestinales, ou elles se multiplient rapidement et montrent une résistance particulière aux antibiotiques à spectre large et les antibiotiques actifs sur les Gram+ (pénicillines, macrolides), ce qui justifie largement leur implication en pathologie infectieuse (Scheftel, 2008; Carbonnelle *et al.*, 1987).

I-2 Classification

Actuellement, les Entérobactéries sont classées sur la base de séquençage des ARN 5S et 16S dans :

- Domaine : Eubacteria
- Phylum XII : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : *Enterobacteriaceae* (Meyer *et al.*, 2004).

44 genres sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichiae*, *Klebsielleae*, *Proteae*, *Yersiniae* et *Erwiniae* (Larpen, 2000).

I-3 Habitat et pouvoir pathogène

Parmi les nombreuses espèces de la famille des *Enterobacteriaceae*, certaines sont trouvées dans l'environnement, d'autres chez les végétaux ou les animaux. Parmi les espèces qui peuvent être isolées chez l'homme, certaines (Shigelles) sont constamment pathogènes. D'autres espèces se comportent comme des bactéries pathogènes opportunistes responsables d'infections chez les malades fragilisés (Avril *et al.*, 1992).

I-4 Caractères bactériologiques

✚ Caractères morphologiques

Toutes les Entérobactéries ont une morphologie habituellement typique, sous forme de bacilles Gram négatif de 1 à 6µm de long sur 0,3 à 1µm de large, généralement polymorphes. Certaines espèces sont mobiles d'autres sont immobiles (Avril *et al.*, 1992).

✚ Caractères cultureux

Les *Enterobacteriaceae* sont des germes aéro-anaérobies facultatifs poussent facilement sur les milieux ordinaires en 18 heures. La température optimale de croissance est de 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5-8). Sur milieux gélosés, les colonies

d'Entérobactéries sont habituellement rondes, lisses, brillantes à contour régulier. En milieux liquides, elles occasionnent un trouble uniforme (**Carbonnelle et al., 1987 ; Pilet et al., 1979**).

✚ Caractères antigéniques

Au sein de chaque genre, on individualise des espèces par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Toutes les Entérobactéries possèdent des antigènes de paroi ou antigènes O qui correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) thermostables et résistants à l'alcool ou à l'acide. Les espèces mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique, constitués de flagellines et qui sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. Certaines souches possèdent en plus un antigène K qui masque l'antigène O, et qui correspond à une enveloppe polysidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux (**Richard, 1990**).

✚ Caractères biochimiques

Les caractères d'identification sont essentiellement biochimiques (**Tableau I**) et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation de tryptophane) ou la fermentation des sucres, la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (**Nauciel, 2000**).

Tableau I : Les caractères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés (**Djelouat, 2009**).

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP(Acétone)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+*
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+*
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

* à 20°C seulement, (+) : Résultat positif, (-) : Résultat négatif.

II- RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

La résistance aux antibiotiques acquise par le monde bactérien est un enjeu majeur de santé publique en raison de la multirésistance et de l'absence d'antibiotiques nouveaux (**Doublet *et al.*, 2012**). Elle est favorisée par l'usage des antibiotiques qui exercent une pression de sélection en privilégiant la croissance de souches résistantes ou en induisant l'expression de phénotypes inductibles (**Van Bambeke *et al.*, 2008**).

II-1 Définition

Les antibiotiques, sont définis, comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique (**Lavigne, 2007**), capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (**Perronne, 1999**).

Les antibiotiques agissent à un niveau précis dans les structures bactériennes et chaque famille possède son site d'action propre (**figure 1**) :

- Action sur la paroi bactérienne
- Action sur la structure de la membrane
- Action sur la synthèse protéique
- Action sur la synthèse de l'ADN
- Action sur le métabolisme de l'acide fossique (**Tissot, 2005**)

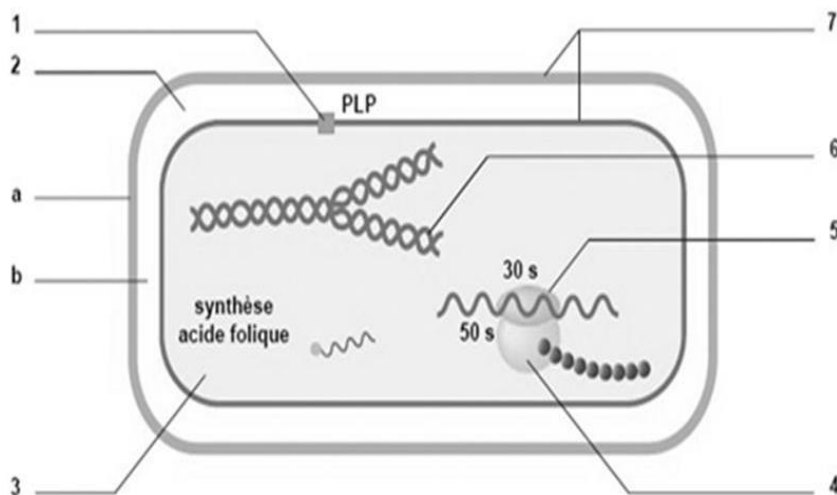


Figure 1. Cibles des principaux antibiotiques (**Benmouden et Hakkou, 2007**).

a. Paroi bactérienne ; b. Espace périplasmique ; 1. β -lactamine (PLP) ; 2. Glycopeptides (Dala); 3. Dihydroptérorate synthétase (sulfamides) ; 4. Fixation à la sous-unité 50 S du ribosome (macrolides, synergistines, lincosamides, phénicolés) ; 5. Fixation à la sous-unité 30 S du ribosome (aminosides, tétracyclines) ; 6. Acides nucléiques (quinolones, rifamycines, nitro-imidazolés) ; 7. Membranes cytoplasmiques (polymyxines).

Il existe sept classes majeures d'antibiotiques bactériens utilisés en milieu clinique : les β -lactamines, les glycolipides, les aminoglycosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfonamides (Nukaga *et al.*, 2003).

II-2 Mécanismes de résistance aux antibiotiques

II-2-1 Support génétique de la résistance

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques la résistance naturelle et la résistance acquise

- La résistance naturelle (intrinsèque) : est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique, stable transmise à la descendance (Lozniewski *et al.*, 2010).
- La résistance acquise : résulte d'une modification du patrimoine génétique, il peut s'agir d'une mutation ou d'une acquisition d'ADN étranger qui se fait le plus souvent par conjugaison (Nauciel et Vildé, 2005).

II-2-2 Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée de cet antibiotique (Lavigne, 2007).

Selon Cattoir (2004), les microorganismes ont développé trois types de mécanismes de résistance :

- Le premier est la production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques (b β -lactamases),
- Le second est la modification des cibles des antibiotiques empêchant l'action de ce dernier,
- Le dernier mécanisme est la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotiques. Ce phénomène peut être dû à un transport actif vers l'extérieur de la cellule via des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux.

II-3 Résistance des Entérobactéries aux β -lactamines

II-3-1 Définition de β -lactamines

Les β -lactamines sont parmi les antibiotiques les plus utilisés dans les traitements des infections causées par les *Enterobacteriaceae*. Ils constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, du fait de leur diversité, de leur faible toxicité, de leur activité bactéricide et d'un large spectre d'action (Bonnet, 2006).

La famille des β -lactamines comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β -lactame (Figure 2).

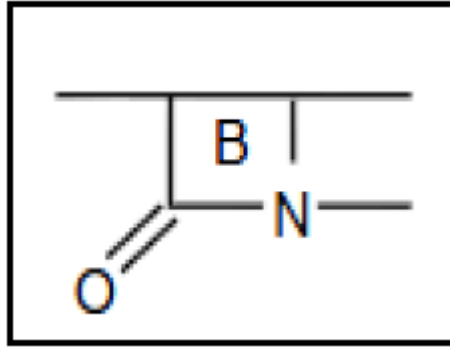


Figure 2. Cycle β - lactame (Cavallo *et al.*, 2004).

Qu'elles soient naturelles ou produites par héli-synthèse, les β - lactamines sont classées en fonction de la nature du noyau entrant dans la structure de base (Soussy, 2000).

II-3-2 Mécanisme d'action et la résistance aux β -lactamine

✚ Mécanisme d'action

L'effet direct des β -lactamines est l'inhibition de la synthèse de peptidoglycane. Elles présentent une analogie structurale avec la terminaison D-Ala-D-Ala du précurseur de péptidoglycane. Elles se fixent de manière covalente sur des protéines membranaires, appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ces protéines sont des enzymes impliquées dans la phase finale de la synthèse de peptidoglycane, c'est-à-dire l'étape de polymérisation à partir de sous-unités faites d'un disaccharide-peptide. L'activité enzymatique des PLP est inhibée par leur liaison avec β -lactamines (Nauciel et Vildé, 2005).

✚ Mécanisme de résistance aux β -lactamines

Selon Gangoue Pieboji (2007), les bactéries ont développé différents mécanismes pour contrecarrer l'action des β -lactamines: des mécanismes enzymatiques ou non enzymatiques.

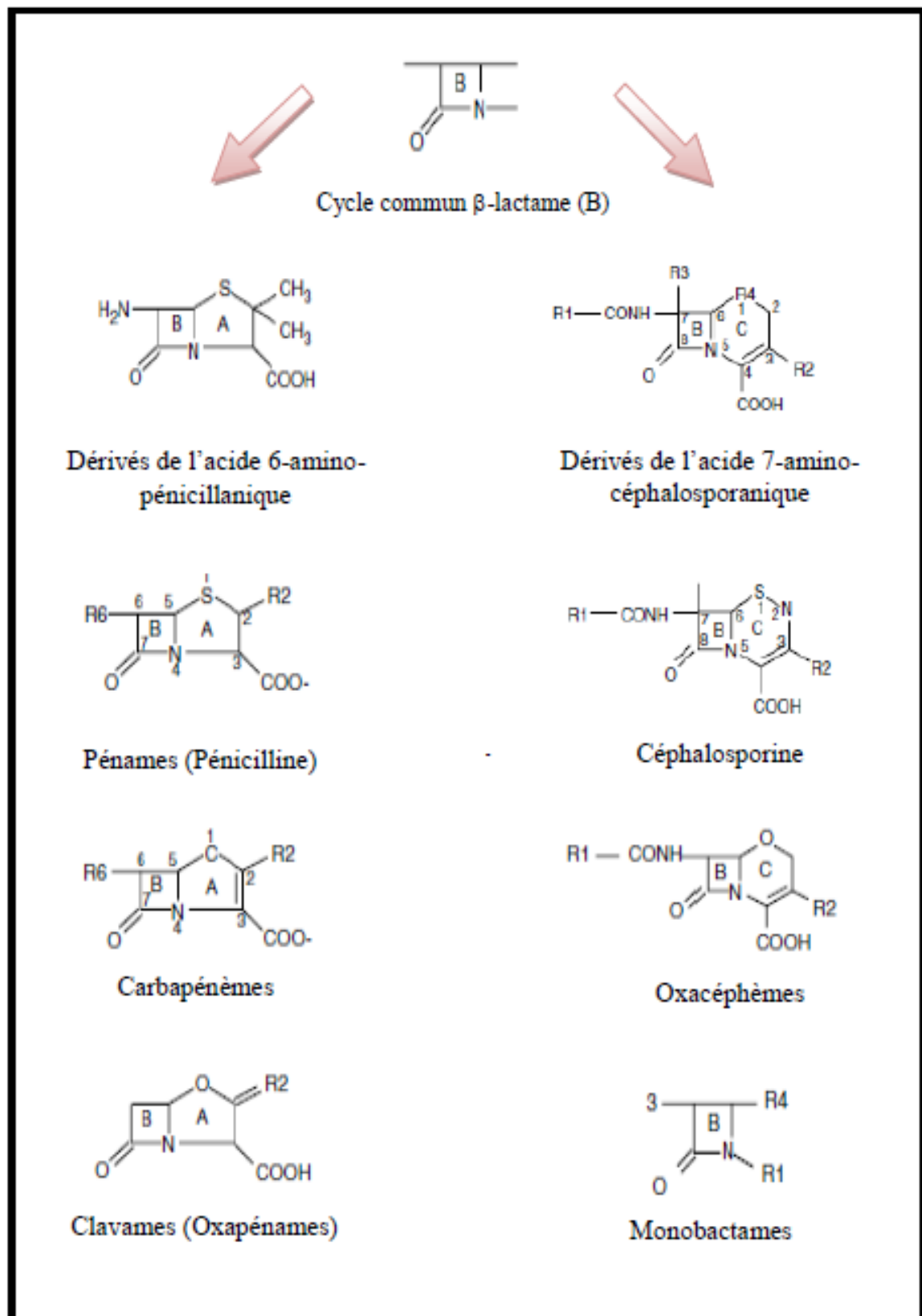


Figure 3. Classification de β -lactamines (Cavallo *et al.*, 2004).

- **La résistance enzymatique aux β -lactamines**

La résistance bactérienne aux β -lactamines est due principalement à la production d'enzymes (β -lactamases) capables d'hydrolyser l'anneau β -lactame commun à cette classe d'antibiotiques (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006**).

- **La résistance non enzymatique aux β -lactamines**

- **Modification de la cible PLP :**

Plusieurs facteurs peuvent concourir à la résistance par modification de la cible : la perte d'affinité des PLP pour les β -lactamines par mutation, acquisition de gènes ou fragments de gènes codant pour les PLP d'affinité diminuée ou hyperproduction de PLP normale. Cependant ce type de mécanisme de résistance reste très rare chez les entérobactéries (**Bonnet, 2006**).

- **Imperméabilité :**

Pour atteindre leurs cibles situées à la surface de la membrane cytoplasmique, les β -lactamines doivent diffuser aux travers de canaux spécialisés appelés porines. La diffusion est en fonction de la charge, de la masse moléculaire et de la polarité des molécules. Les β -lactamines touchées diffèrent selon la porine absente. La disparition de porine provoque l'augmentation des concentrations minimales inhibitrices de certaines β -lactamines (**Nicaïdo, 2000**).

- **Pompe à efflux :**

Chez les bactéries à Gram-négatif, l'imperméabilité de la membrane externe et les pompes à efflux jouent en synergie un rôle important dans la résistance intrinsèque de ces bactéries. Les mutations ou/et les modifications inductibles de ces mécanisme peut conduire à une diminution de l'afflux et l'augmentation de l'efflux des antibiotiques ainsi d'empêcher l'accès des antibiotiques à leur cible (**Li et al., 2007**).

II-4 Résistance aux aminosides

Les aminosides continuent à jouer un rôle important dans le traitement des infections sévères dues aux pathogènes à Gram négatif souvent en association avec les β -lactamines à large spectre (**Doi et Arakawa, 2007**). Ces antibiotiques agissent en se liant au site aminoacyl (site A) de l'ARN 16S de la petite sous unité ribosomale 30S et interfèrent avec la synthèse des protéines (**Magnet et Blanchard, 2005**). Le mécanisme de résistance principal est l'acquisition d'enzymes bactériennes qui modifient les antibiotiques par acétyltransférase (AAC), adényltransférase (ANT) ou phosphotransférase (APH) (**Chen et al., 2008**).

II-5 Résistance aux quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques de synthèse dont les cibles d'action sont les topoisomérase II (ADN gyrase) et topoisomérase IV (**Gellert et al. 1977; Sugino et al., 1977**). Leur large utilisation en médecine humaine et vétérinaire a conduit à l'émergence et à l'augmentation de la prévalence de la résistance acquise chez toutes les espèces bactériennes à travers le monde (**Cattoir, 2012**).

La résistance chromosomique aux quinolones chez les entérobactéries résulte essentiellement d'accumulation de mutations dans l'ADN gyrase (Gyr A) puis dans la topoisomérase IV (**Drlica et Zhao 1997**). Les mutations apparaissent quasi-exclusivement dans de courtes régions conservées, situées entre les acides aminés 67 et 106, appelées QRDR (Quinolone Résistance Determining Région) (**Hopkins et al., 2005**). De plus, la résistance chromosomique aux quinolones peut être associée à la diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux (**Putman et al. 2000**).

Le support de la résistance aux quinolones était supposé être uniquement chromosomique jusqu'en 1998 où, **Martinez- Martinez et al** ont décrit la première souche (*Klebsiella pneumoniae* UAB1) dont le support de la résistance est un plasmide transférable (pMG252). Le déterminant génétique de cette résistance est le gène *qnr* dont la caractéristique est d'être porté par différents types d'intégrons. L'importance de ce support est sa transférabilité et sa capacité à accélérer la diffusion de la résistance aux quinolones. Les gènes *qnr* ont été identifiés dans différentes espèces d'entérobactéries et souvent associés à la production de β -lactamases à spectre élargi (**Guessennd et al., 2008**).

En 2005, un second mécanisme de résistance plasmidique a été identifié. Il s'agit d'un variant de l'acétylase en 6-isoforme Ib dénommé AAC (6₋)-Ib-cr (pour *ciprofloxacin* resistance) et qui confère une résistance de bas niveau à la ciprofloxacin et à la norfloxacin par acétylation enzymatique (**Robicsek et al., 2006**).

II-6 Résistance aux autres antibiotiques

❖ Résistance aux Triméthoprime-Sulfaméthoxazole

Le sulfaméthoxazole est un sulfamide qui est analogue de l'acide para-amino-benzoïque, il inhibe la synthèse des folates en inhibant la dihydroptérate synthétase et le triméthoprime inhibe la synthèse des folates en inhibant la dihydrofolate réductase, il est surtout utilisé en association avec les sulfamides (**Nauciel et Vildé, 2005**).

L'association sulfamide-triméthoprime possède indiscutablement la plus grande diversité de mécanismes de résistance acquise et de leur support génétique : modification de la perméabilité, activation de pompes d'efflux, modification quantitative ou qualitative des cibles, contournement métabolique, hyperproduction de précurseurs, absence de certaines enzymes et toute une variété de gènes exogènes acquis par la bactérie (**Golsdein, 2006**).

❖ Résistance aux polymyxines

Il existe cinq molécules de polymyxine connus de manière séquentielle et nommées polymyxine A à E. Seules 2 sont disponibles pour un usage thérapeutique: polymyxine B et la polymyxine E (colistine) (**Hermesen et al., 2003**).

L'antibiotique le plus utilisé est la colistine. Elle n'agit que sur les bacilles à Gram négatif et elle reste cependant inactive sur les *Proteus*, *Providencia* et *Serratia* (**Nauciel et Vildé, 2005**).

La polymyxine B et la polymyxine E (colistine) sont deux polypeptides de base d'un groupe dérivé de *Bacillus polymyxa*. Les autres membres de groupe (A, C et D) sont trop toxiques pour l'usage (**Ernest et al., 1973**). Les polymyxines enrobent la membrane cellulaire bactérienne et détruisent sa fonction osmotique de barrière de perméabilité sélective (**Ernest et al., 1973**).

La résistance naturelle semble due à l'architecture de la paroi qui empêche la polymyxine d'interagir avec les groupements phosphates cibles du LPS. Quant à la résistance acquise, l'apparition de mutants au cours de traitement est très rare et il n'y a pas de plasmides de résistance décrits (**Li et al., 2005**). À noter, qu'il n'existe sans doute pas de phénomènes d'imperméabilité membranaire ou d'efflux actif à cause de leur haut poids moléculaire. Par contre, la résistance est totalement croisée entre la colistine et la polymyxine B (**Gattoir, 2006**).

❖ Résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines doivent leur nom à leur structure tétracyclique commune (noyau naphtacène -carboxamide), sur laquelle viennent se greffer des substituants en position 5, 6, 7. Ce sont des antibiotiques isolés pour la plupart de souches de *Streptomyces*, mais souvent produits aujourd'hui par hémisynthèse (**Van Bambeke et al., 2008**). Cette famille d'antibiotiques exerce une activité bactériostatique. Ce sont des antibiotiques à large spectre qui peuvent être administrés per os (**Nauciel et Vildé, 2005**).

Les tétracyclines inhibent la synthèse des protéines en inhibant la liaison du l'ARNt amino-acyl aux sous-unités 30S des ribosomes bactériens (**Ernest et al., 1973**).

La résistance aux tétracyclines provient essentiellement d'un défaut de concentration intracellulaire. Celui-ci peut trouver son origine dans deux mécanismes distincts :

- Le premier implique une diminution de l'activité du transporteur membranaire aux tétracyclines.
- Le second, qui est certainement le plus courant, consiste dans l'excrétion de l'antibiotique par des pompes. Ce mécanisme est extrêmement préoccupant dans la mesure où, décrit jusqu'il y a peu uniquement vis-à-vis des tétracyclines, il commence à se répandre pour d'autres classes d'antibiotiques (fluoroquinolones, β -lactames), conduisant à l'émergence de souches multirésistantes.

- Un autre mécanisme consiste dans la protection de la cible ribosomiale. Il est médié par la production de protéines cytoplasmiques auxquelles se lient les tétracyclines, prévenant ainsi leur interaction avec leur cible au niveau du ribosome (**Van Bambeke et al., 2008**).

III- EFFLUENTS HOSPITALIERS

III-1 Bactéries multirésistantes dans le milieu aquatique

L'utilisation des antibiotiques, à la fois en médecine humaine et vétérinaire, exerce une pression de sélection parmi les bactéries commensales ou pathogènes de l'homme ou de l'animal qui peuvent rejoindre l'environnement naturel, par exemple, dans les eaux continentales, côtières ou le sol, via les effluents d'élevages ou les eaux usées provenant d'activités humaines ou animales. Cela pourrait conduire à l'émergence et à la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques.

En ce qui concerne le milieu hydrique, la compréhension de l'évolution spatiale et/ou temporelle des profils d'antibiorésistance chez les bactéries aquatiques (bactéries indicatrices de contamination fécale et des bactéries de l'environnement) est particulièrement intéressante étant donné l'usage qui peut être fait de l'eau par l'homme (**Young, 1993**).

III-2 Problématique des effluents hospitaliers

Les effluents générés par les activités hospitalières peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement. Compte tenu de la nature et de l'importance des substances qu'ils contiennent comme les résidus médicamenteux, les réactifs chimiques, les antiseptiques, les détergents, les régulateurs et les fixateurs de radiographies.

En outre les effluents hospitaliers contiennent des bactéries potentiellement pathogènes, des virus et des champignons. En effet, ces effluents non traités peuvent contribuer largement à la dissémination des bactéries multi-résistantes (**Guessennd et al., 2013**).

III-2.1. Origine des effluents hospitaliers

Selon **Emmanuel (2004)**, d'un point de vue qualitatif, les effluents liquides hospitaliers peuvent être classés en trois grandes catégories :

- Les rejets d'origine domestique qui regroupent les eaux provenant des cuisines, de l'hygiène des patients non contagieux et du personnel.
- Les rejets assimilables à des effluents industriels qui sont générés par certains équipements spécifiques (blanchisseries, chaufferies, climatisations, ateliers, garages).
- Les effluents spécifiques aux établissements de santé qui sont générés par les activités de soins, d'analyse et de recherche.

Cette dernière catégorie est responsable de la singularité des effluents hospitaliers et nécessite à ce titre, d'être détaillée. Les rejets liquides spécifiques aux activités médicales comprennent principalement :

a) Les effluents des services de soins : qui contiennent des désinfectants (le glutaraldéhyde, l'hypochlorite de sodium, etc.), des détergents (surfactants cationiques non-ioniques et anioniques), des résidus médicamenteux (antibiotiques, anticancéreux, etc.), des rejets contenant des métaux (révélateurs et fixateurs de radiographies) ou encore des rejets

contenant des germes pathogènes qui sont souvent polyrésistants aux antibiotiques : germes présents dans les rejets humains (salmonelles, etc.), bactéries responsables d'infections nosocomiales (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, etc...), des virus et des parasites (Boillot, 2008).

b) Les effluents des services médico-techniques : qui proviennent des salles d'opération et dans lesquels on retrouve entre autres des liquides biologiques très chargés en matières organiques : sang, urines, selles, liquide gastrique, aspiration trachéo-bronchite, liquides d'épanchement péritonéal ou pleural, de drainage ou d'irrigation, etc... (Emmanuel, 2003).

c) Les rejets résultant de l'entretien du matériel médical et des locaux médicaux : qui contiennent des détergents, des détergents-désinfectants et des désinfectants avec des traces de matières organiques et des résidus médicamenteux (Boillot, 2008).

d) Les rejets des laboratoires de recherches et d'analyses qui regroupent une très grande variété de molécules : du sang, des crachats, des urines, des acides (acétique, lactique, citrique), des bases (soude, etc.), des solvants, des hydrocarbures benzéniques (toluène et xylène), des désinfectants (formol, alcool éthylique, eau de Javel), des colorants, des effluents des services de radiologie (eaux de rinçage des clichés chargées en résidus argentiques) et des rejets provenant de la pharmacie (préparation de la teinture d'iode, désinfectants, etc.) (Boillot, 2008).

III-2.2. Caractères physico-chimiques et microbiologiques des effluents hospitaliers

✚ Caractères physico-chimiques

Les eaux usées forment en général un milieu très complexe. La charge en agents polluants dans un effluent peut être évaluée à partir de certains paramètres (Ramade, 1998).

Le Tableau II (Voir annexe) fournit la liste des principaux paramètres physico-chimiques couramment utilisés dans la caractérisation des effluents.

✚ Caractères microbiologiques

Sur le plan microbiologique, les effluents hospitaliers seraient globalement moins chargés que les eaux usées urbaines (Mansotte, 2000). Le danger résiderait plus dans la présence de certaines bactéries multirésistantes vis-à-vis des antibiotiques et de certaines souches typiquement hospitalières (Hartemann *et al.*, 2005).

Parmi les germes témoins fréquemment rencontrés dans les effluents hospitaliers :

✓ Les coliformes thermotolérants

Ce terme désigne un groupe de coliformes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, capables de provoquer la fermentation du lactose à 44-45°C et comprend

le genre *Escherichia* et dans une moindre mesure certaines espèces de *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter* (Emmanuel et al., 2004).

✓ **Les streptocoques fécaux**

Le terme streptocoques fécaux désigne les streptocoques généralement présents dans les fèces de l'homme et des animaux (OMS ,1994).

✓ **Anaérobies sulfito-réducteurs :**

Ce groupe se compose de microorganismes anaérobies sporigènes, dont le plus caractéristique est *Clostridium perfringens*, normalement présent dans les fèces, mais en bien moins grand nombre qu'*E. coli* (Emmanuel et al., 2004).

✓ **Salmonelles :**

Selon Delarass et Trebaol (2003), les *Salmonella* sont classées dans la famille des *Enterobacteriaceae*, elles ont les propriétés générales de cette famille.

Annexe

Tableau II : Les paramètres physico-chimiques globaux et leur protocole d'exécution
(Emmanul, 2003).

Paramètres	Norme
MEST	NF EN 872
DBO	NF EN 1899-1, 05/98
pH	NF T90-008
Conductivité	NF EN 27888, ISO 7888
DCO	NF T 90-101
COT	EN 1484
Chlorures	ISO 10 304
Sulfates	ISO 10 304
Sulfures	Potentiométrie
P total	EN 1189
Azote Kjeldahl	ISO 25 663
Azote ammoniacal	NF T90-015
Nitrites	NF T 90-013
Nitrates	ISO 10 304
Métaux : Cd, As, Pb, Cu, Ni, Zn, Cr, Ag	ISO 11 885
Hg	NF T 90 -113
AOX dissous après filtration	ISO 9562

Matériels utilisés pour les analyses microbiologiques

+ Milieux de culture liquides :

- ✓ BCPL : Bouillon pourpre de Bromocrésol
- ✓ Schubert

+ Milieux de culture solides :

- ✓ Mueller Hinton
- ✓ Hektoen
- ✓ Milieu TSI
- ✓ Mac Conkey

+ Réactifs et colorants :

- ✓ Kovacs
- ✓ TDA (tryptophane désaminase)
- ✓ VP I et VP II (Voges-Proskauer)
- ✓ Violet de gentiane
- ✓ Fuchsine
- ✓ Lugol
- ✓ Alcool
- ✓ Huile de vaseline

+ Petits matériels :

- ✓ Bouteilles stériles de 250 ml
- ✓ Glacière
- ✓ Bloc réfrigérant
- ✓ Tubes à essai
- ✓ Portoir pour tubes à essai
- ✓ Pipettes pasteur
- ✓ Pipettes graduées
- ✓ Ecouvillons
- ✓ Anse d'inoculation et support
- ✓ Boîtes de Pétri stériles
- ✓ Eau physiologique stérile
- ✓ Lames et lamelles
- ✓ Microscope
- ✓ Pied à coulisse
- ✓ Pincés stériles
- ✓ Bec Bunsen
- ✓ Becher.

+ Appareillage

- ✓ Autoclave
- ✓ Bec bunsen
- ✓ Etuve (37°C et 44°C)

+ Réactifs et Additifs

- ✓ Additif SFB (Sélénite de sodium)
- ✓ Disques d'antibiogramme

Matériel utilisé pour les analyses physico-chimiques

+ Appareillage

- ✓ pH mètre.

Composition des différents milieux de cultures (Denis et al., 2007)

❖ Gélose Hektoen

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande..... 12,0 g
- Extrait autolytique de levure 3,0 g
- Lactose..... 12,0 g
- Saccharose 12,0 g
- Salicine..... 2,0 g
- Sels biliaires 9,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium 5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal 1,5 g
- Bleu de bromothymol 65mg
- Fuchsine acide 40 mg
- Agar bactériologique 13,5 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,6 \pm 0,2$.

❖ Milieu Muller-Hinton

- Infusion de viande de bœuf..... 300,0 ml
- Peptone de caséine 17,5 g
- Amidon de maïs 1,5 g
- Agar bactériologique.... 17,0 g
- pH = 7,4

❖ Gélose TSI

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone..... 14,0 g
- Extrait autolytique de levure..... 3,0 g
- Extrait de viande 3,0 g
- Glucose..... 1,0 g
- Lactose 10,0 g
- Saccharose 10,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium..... 0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal 0,3 g
- Rouge de phénol..... 24,0 mg
- Agar bactériologique..... 13,5 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,4 \pm 0,2$.

Annexe

❖ Bouillon au Sélénite de Sodium Cystéine (SFB)

- Peptone pancréatique de caséine.
- Lactose.
- Monohydrogénosélénite de Na.
- 1-Cystéine.
- Eau distillée.
- Ajuster pH à $7 \pm 0,2$.

❖ Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL)

Pour un litre de milieu :

- Peptone : 5,0 g
- Extrait de viande de bœuf : 3,0 g
- Lactose : 10,0 g
- Pourpre de bromocrésol : 25 mg
- Agar : 15 g
(pH = 6,8)

❖ Schubert

Pour un litre de milieu :

- Tryptone 10.00 g
 - Tryptophane 0.20 g
 - Acide glutamique 0.20 g
 - Mannitol 7.50 g
 - Sulfate de magnésium 0.70 g
 - Sulfate d'ammonium 0.40 g
 - Citrate de sodium 0.50 g
 - Chlorure de sodium 2.00 g
 - Phosphate disodique 4.12 g
 - Potassium dihydrogen phosphate 0.58 g
- pH à 25°C : 7.6 ± 0.2 .

Annexe

Tableau X : Nom, abréviation et charge des disques d'antibiotiques utilisés.

Famille d'antibiotique	Antibiotique	Abréviation	Charge de disque
β- lactamines	Pénicilline G	P	10µg
	Ampicilline et dérivés	AM	10µg
	Amoxicilline + AC. Clavulanique	AMC	10µg
	Oxacilline	OX	10µg
	Imipenème	IPM	10µg
	Céfazoline	CZ	30µg
	Céfotaxime	CTX	30µg
	Ceftriaxone	CRO	30µg
	Aztréonam	AT	30µg
Aminosides	Kanamycine	K	30µg
	Tobramycine	TOB	10µg
Phénicoles	Chloramphénicol	C	30 µg
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30µg
	Doxycycline	DO	30µg
Macrolides	Lincomycine	L	15µg
Sulfamidés et Associations	Triméthoprime+ Sulfamides	SXT	25µg
Quinolones	Ofloxacine	OFX	5µg
Divers	Rifampicine	RP	30µg
	Acide fusidique	FA	10µg
	Vancomycine	VA	30µg

Annexe

Tableau XXXII: Tableau de lecture des résultats de la galerie api 20^E.

Tests	Réactions/Enzymes	Résultats négatifs	Résultats positifs
ONPG	-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
ODC	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
CIT	Citrate utilisation	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/bleu
H ₂ S	H ₂ S production	Incolore/grisâtre	Dépôt noire/fin liseré
URE	Urease	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
		Jaune	Marron-rougeâtre
IND	Indole production Incolore	JAMES/immédiat	
		Vert-pâle/jaune	Rose
VP	Acetoin production	VP1 + VP2 /10 min	
		Incolore	Rose/rouge
GEL	Gelatinase	Aucune diffusion	Diffusion du pigment noire
GLU	Glucose fermentation/oxydation	Bleu / bleu-vert	Jaune/ jaune gris
MAN	Mannitol fermentation/oxydation	Bleu	Bleu-vert Jaune
INO	Inositol fermentation/oxydation		
SOR	Sorbitol fermentation/oxydation		
RHA	Rhamnose fermentation/oxydation		
SAC	Sacrose fermentation/oxydation		
MEL	Melibiose fermentation/oxydation		
AMY	Amygdalin fermentation/oxydation		
ARA	Arabinose fermentation/oxydation		

Annexe

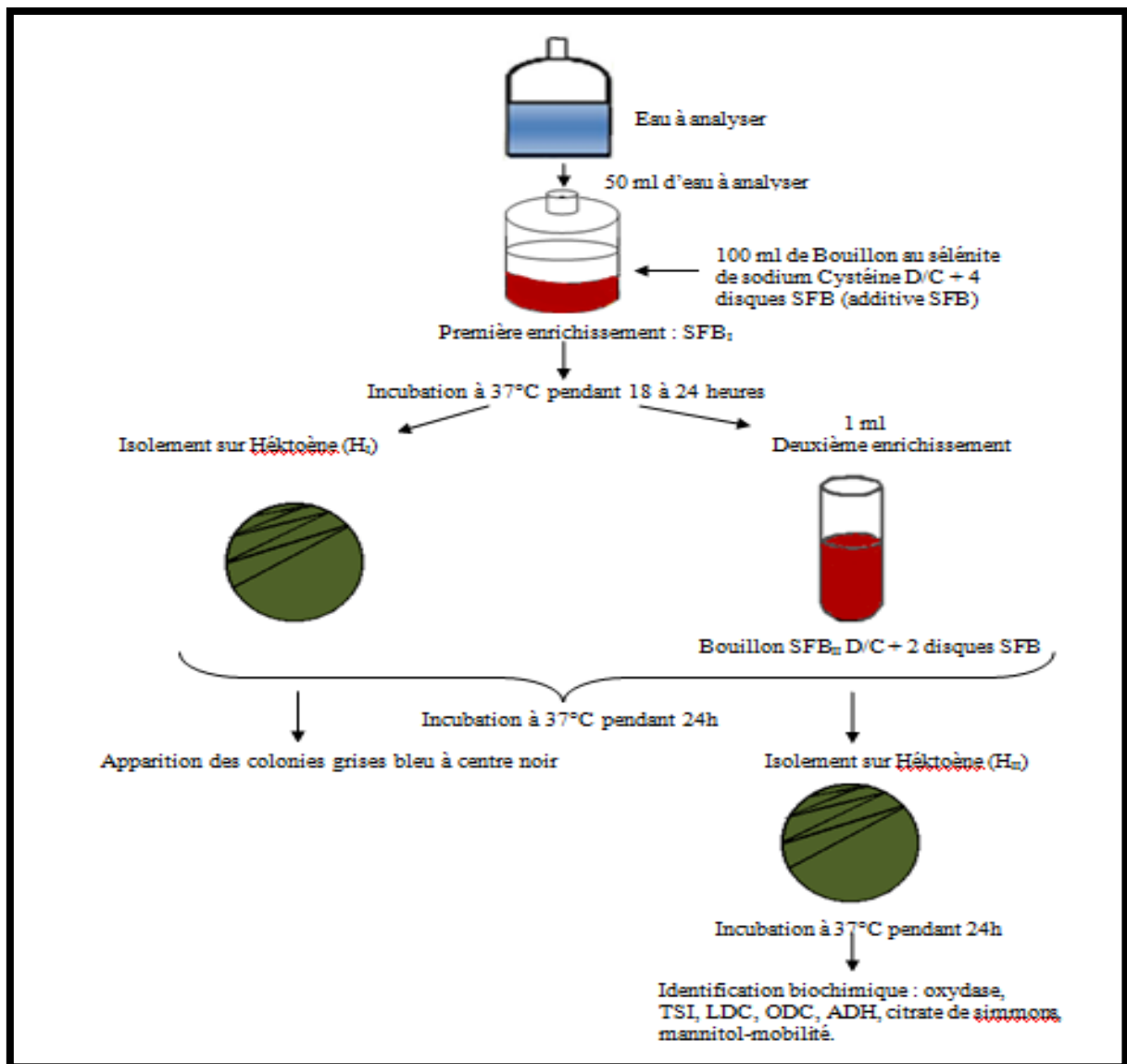


Figure 41 : Recherche des salmonelles.

Annexe

Tableau XXXIII : Valeurs critique des diamètre des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries (Rahal, 2008).

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour bacampicilline, pivampicilline. Cf. règles (1) et (2) Cf. règles (1) et (2).
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 16	
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 8/8	≥ 19	< 16	Cf. règle (1b).
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 16	Cf. règle (1b) et (5). Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1), (2) et (3).
Ticarcilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 24	< 22	
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1), (2) et (3).
Pipéracilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 16	
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	≥ 21	< 17	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Mécillinam	10 µg	≤ 8	> 8	≥ 24	< 22	
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	Déterminer la CMI en cas de résistance par diffusion à l'ertapénème avec sensibilité à l'imipénème.
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26	
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21	Cf. règles (4) et (5).

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Interprétation valable pour les céphalosporines injectables de 1ère génération (céfapirine, céfazoline). Interprétation également valable pour les céphèmes orales de 1ère génération (céfadroxil, céfalexine, céfradine, céfactor, cefatrizine, loracarbef) mais uniquement pour les souches isolées des urines.
Céfuroxime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 22	< 22	Non commercialisé en France
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfotétan	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftriaxone	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 26	< 19	
Céfépime	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Cefpirome	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22	
						Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.

Annexe

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Interprétation valable pour néomycine, framycétine, paromomycine.
Tobramycine	10 μg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (6), (9) et (11).
Amikacine	30 μg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (6) et (7).
Isépaamicine	30 μg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (6) et (7).
Gentamicine	15 μg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (6), (8) et (11)
Nétilmicine	30 μg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19	Cf. règles (6), (10) et (11)

Annexe

Tableau XXXIV: Résultats de mesure des zones d'inhibition pour les entérobactéries détectées exprimés en millimètres.

	K.pn	K.pn2	K.pn3	K.pn4	K.oxy	K.oxy2	K.oxy3	S.mar	S.mar2	S.mar3
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AMC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
OX	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
IPM	28	0	0	0	29	0	0	24	30	0
	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R
CZ	0	0	0	0	0	0	21	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
CTX	0	0	0	0	0	5	30	0	30	0
	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
CRO	0	0	25	0	0	0	0	30	29	18
	R	R	S	R	R	R	R	S	S	I
AT	0	0	0	26	0	0	25	0	0	18
	R	R	R	S	R	R	S	R	R	I
K	0	3	5	0	0	28	18	0	20	0
	R	R	R	R	R	S	I	R	S	R
TOB	4	0	17	22	0	0	28	14	28	0
	R	R	I	S	R	R	S	I	S	R
C	25	27	0	28	0	26	28	23	35	0
	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R
TE	0	0	0	24	28	0	24	0	0	25
	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S
DO	0	0	0	0	0	4	0	0	18	20
	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S
L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
SXT	0	0	0	0	25	30	0	0	0	0
	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R
OFX	0	22	24	17	0	0	36	0	28	11
	R	S	S	I	R	R	S	R	S	I
FA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
VA	0	0	0	0	0	0	0	4	26	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
RP	19	0	0	0	4	28	0	14	0	0
	I	R	R	R	R	S	R	I	R	R

Annexe

	Esc	Esc 2	Esc3	Esc4	Esc5	C .KF	C.KF2	C.KF3	C.KF4	C.KF5
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AM	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R
AMC	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R
OX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IPM	0	36	30	0	0	29	28	29	0	28
	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S
CZ	29	27	0	0	0	0	0	0	0	0
	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
CTX	28	0	0	0	0	0	0	0	16	0
	S	R	R	R	R	R	R	R	I	R
CRO	35	5	29	27	25	0	0	0	0	0
	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R
AT	25	28	21	23	0	0	0	0	0	0
	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
K	0	0	15	0	0	5	7	0	0	15
	R	R	I	R	R	R	R	R	R	I
TOB	0	22	0	0	0	20	15	0	0	0
	R	S	R	R	R	S	I	R	R	R
C	27	16	0	29	0	27	30	30	22	23
	S	I	R	S	R	S	S	S	S	S
TE	0	0	0	29	0	0	26	5	0	0
	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
DO	12	0	0	0	0	15	19	0	14	0
	I	R	R	R	R	I	I	R	I	R
L	0	0	0	0	29	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
SXT	0	0	0	0	0	3	0	0	0	4
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
OFX	27	0	0	0	0	14	29	19	28	0
	S	R	R	R	R	I	S	I	S	R
FA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
VA	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
RP	0	0	5	0	0	4	0	12	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R

Annexe

	K.or	K.or2	K.or3	K.or4	K.or5	K.or6	K.or7	K.or8	K.or9	K.or10
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AMC	0	0	0	0	4	0	8	0	5	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
OX	16	27	13	3	0	0	0	0	27	14
	I	S	I	R	R	R	R	R	S	I
IPM	0	0	0	0	30	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
CZ	0	0	0	0	0	0	0	24	0	3
	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
CTX	0	0	0	0	0	0	0	30	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
CRO	27	22	23	25	5	25	29	35	22	30
	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
AT	27	0	0	0	0	0	22	27	0	0
	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
K	0	0	0	24	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
TOB	17	16	18	28	23	0	0	30	16	17
	I	I	I	S	S	R	R	S	I	I
C	0	30	34	0	17	30	0	35	30	26
	R	S	S	R	I	S	R	S	S	S
TE	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
DO	0	0	0	0	0	9	0	10	0	0
	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R
L	0	0	0	0	0	10	0	0	11	0
	R	R	R	R	R	I	R	R	I	R
SXT	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
OFX	24	24	24	34	25	30	0	36	25	4
	I	I	I	S	I	S	R	S	I	R
FA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
VA	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
RP	0	0	0	3	10	0	0	0	0	11
	R	R	R	R	I	R	R	R	R	I

Annexe

	S odo	S odo	S odo	S odo	C fre	C fre	C fre	E saka	E saka
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AM	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AMC	0	0	0	0	0	0	0	15	0
	R	R	R	R	R	R	R	I	R
OX	0	0	5	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IPM	30	28	29	25	28	26	15	26	15
	S	S	S	S	S	S	I	S	I
CZ	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CTX	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CRO	30	28	14	15	27	14	22	20	22
	S	S	I	I	S	I	S	S	S
AT	0	0	0	0	18	0	19	0	0
	R	R	R	R	I	R	I	R	R
K	9	6	0	0	3	0	16	12	0
	R	R	R	R	R	R	I	I	R
TOB	22	27	23	16	17	17	24	16	15
	S	S	S	I	I	I	S	I	I
C	16	6	36	18	22	24	30	23	24
	I	R	S	I	S	S	S	S	S
TE	12	10	5	0	0	0	3	5	6
	I	I	R	R	R	R	R	R	R
DO	9	8	20	15	15	0	29	23	22
	I	I	S	I	I	R	S	S	S
L	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
SXT	0	0	0	3	0	0	0	2	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
OFX	0	20	28	15	28	20	26	20	21
	R	S	S	I	S	I	S	I	I
FA	20	22	0	0	0	0	5	0	0
	S	S	R	R	R	R	R	R	R
VA	0	3	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R
RP	24	25	11	0	0	0	12	3	18
	S	S	I	R	R	R	I	R	I