République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université 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 de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Domaine: S.N.V

Filière: Sciences biologiques

Option: Microbiologie-bactériologie

Théme:

Identification et étude de l'antibiorésistance des bactéries isolées de différents échantillons d'eau

Présenté par :

Soutenu publiquement:

Mme SAFRI Soumia

Le 29 Juin 2016

Melle SALEM Widded

Devant le jury composé de

Mme MEKLAT A. **Présidente** MCA Université Blida 1

Mme BOKRETA S. **Examinatrice** MAB Université Blida 1

Mme HAMAIDI F. **Promotrice** MCA Université Blida 1

Mr KAIS H. **Co-promoteur** Ingénieur Université Blida 1

Année Universitaire: 2015/2016



Nous remercions ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné le courage, la santé et les moyens pour réaliser ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont en premier lieu à notre promotrice Mme HAMAIDI. F, qui a bien voulu accepter l'encadrement de notre travail, elle nous a aidées avec ses orientations éclairantes accompagnées d'une grande gentillesse.

Nous remercions notre co promoteur Mr KAIS. H, pour son aide et sa disponibilité à chaque fois que nous avions besoin de lui.

Nous voudrons remercier Mme MEKLAT. A qui nous a honorés d'avoir accepté de présider le jury. Nous remercions également Mme BOKRETA. S d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe du laboratoire d'hygiène de BLIDA: Mr Hamida, Mme Ben Ahmed, Mlle Khadidja, Mlle Nawel et en particulier Mr Teffahi Djamel qui nous a beaucoup approvisionné en milieux et réactifs nécessaires, et de ne nous avoir jamais privé de son savoir.

Nous remercions l'ensemble des enseignants pour tous ce qu'ils nous ont appris.

Nous remercions tous nos camarades de la section pour tous les souvenirs que nous avons gardés de cette étape de notre vie.

Et enfin un grand merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Ma mère, symbole d'amour et de don

Mon père à qui je dois ma réussite

Mon cher époux

Mes frères Ibrahim, Ayoub et ma petite sœur Asmaa Ma grande famille sans exception Mes beaux-parents

Mes beaux-frères et belles sœurs

Toutes mes amies : Hadjira, Nesrine, Rania, Khaoula Ma chère binôme Widded

Mes camarades de la promotion 2015/2016

Soumia



Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Mon cher père qui m'a inculqué les justes valeurs, appris le sérieux et la rigueur.

Mon irremplaçable maman qui m'a apporté depuis toujours son amour, sa tendresse et son soutien.

Mon frère Abdennour et ma sœur Nawel ainsi que son époux

Toute ma grande famille (oncles, tantes, cousins et cousines)

Mes amis (es): Meriem, Farida, Hanna, Samah, Ahlem, F/Z, Lydia, Abderrahmane.

Ma binôme Soumia

Mes camarades de la promotion 2015/2016



Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des Abréviations

Page
INTRODUCTION1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE
I.POLLUTION DE L'EAU
I.1. Définition de la pollution de l'eau
I.2. Origine de la pollution
I.3. Effet de la pollution
I.4. Maladies à transmission hydrique d'origine bactérienne4
II.CARACTERISTIQUES MICROBIOLOGIQUES DES EAUX
II.2. Germes pathogènes
III. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET CONTAMINATION DES EAUX PAR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES
III.1. Résistance aux antibiotiques
III.1.2. Définition des antibiotiques
III.1.3. Mode d'action des antibiotiques
III.1.4. Mécanismes de résistance10
III.1.5. Mécanismes biochimiques de résistance bactérienne aux agents antimicrobiens11

III.2. Contamination des eaux par les bactéries multirésistantes12
DADTIE EVDEDIMENTALE
PARTIE EXPERIMENTALE
I. Matériel et méthodes14
I.1. Présentation des sites de prélèvements14
I.2. Fréquence et mode de prélèvement
I.3. Transport et conservation des échantillons
I.4.Matériel
I.5. Analyses bactériologiques
I.5.1.Préparation des dilutions
I.5.2.Recherche et dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécale
I.5.3.Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs25
I.5.4. Recherche des Salmonelles
I.5.5. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>
I.5.6.Recherche des Vibrions cholériques
I.5.7.Recherche des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
I.6. Identification biochimique des bactéries31
I.7. Antibiogramme32
I.8. Souche de références
I.9. Indice MAR
I.10. Analyse statistique35
II. Résultats et discussion36
II.1. Résultats des analyses bactériologiques36
II.2. Identification des souches isolées des eaux des différents sites de prélèvement42
II.3. Répartition des entérobactéries détectées selon les sites de prélèvements49
II.4. Distribution de l'ensemble des entérobactéries

II.5.Antibiogramme	52
II.5.1. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques testés	52
II.5.2.Résistance des germes pathogènes aux antibiotiques testés	69
II.6. Résultats de l'indice MAR	71
Conclusion	75
Références bibliographiques	
Annexes	

Résumé

La présente étude a été effectuée pour évaluer d'une part la qualité bactériologique et d'autre part l'antibiorésistance des bactéries isolées de différents échantillons d'eaux prélevés dans deux stations de l'oued Beni Aza et des effluents ainsi que les eaux épurées de la station d'épuration de Chenoua.

L'analyse effectuée s'est portée d'abord sur la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, et les germes non spécifiques de contamination fécale qui sont les Anaérobies – Sulfito-Réducteurs ensuite sur les bactéries pathogènes comme les *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, salmonelles et les vibrions.

La recherche des bactéries pathogènes montre une fréquence de (100 %, 40 %) pour les *Pseudomonas aeruginosa*, (0 %, 40 %) pour *Staphylococcus aureus*, (0 %, 20 %) pour *Salmonella* dans la station n°1 et n°2 de l'oued Beni Aza respectivement, et une absence totale de *Vibrio cholerae*.

Dans la STEP, nous avons noté uniquement la présence de *Salmonella* (100%) dans les eaux usées brutes, ainsi que l'absence de tous les germes pathogènes dans les eaux épurées.

Un total de 35 bactéries entériques a été dénombré, 15 sont isolées des eaux de l'oued, et 20 de la STEP. Les eaux du oued ont montré une prédominance d'*Enterobacter sakazakii* et de *Klebsiella spp* avec 3 souches (20 %), tandis que *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia odoriferal* étaient beaucoup plus isolées dans les stations d'épuration avec 3 souches (15 %).

Les résultats de l'antibiogramme montrent que les entérobactéries présentent des profils variables. En général, les bactéries testées montrent une très forte sensibilité vis-à-vis de la Tobramycine (100 %) et une résistance majoritaire pour les β -lactamines utilisés.

De plus, l'étude de l'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* a révélé une résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline + Acide clavulanique, de la Vancomycine et de l'Acide fusidique.

Les résultats du calcul de l'indice MAR ont montré que les isolats bactériens ont une valeur supérieur à 0,2 ce qui indique une possibilité que toutes les souches ont été exposés à plusieurs antibiotiques. Appliqué aux sites, les valeurs de cet indice varient entre 0,45 et 0,63, indiquant ainsi que les eaux des sites étudiés sont contaminés par des fèces humaines.

Mots clés : Eaux, oued Beni Aza, STEP Chenoua, bactéries pathogènes, *Enterobacteriaceae*, résistance, antibiogramme, MAR (Multiple Antibiotic resistance).

Abstract

The aims of the present study were to evaluate the bacteriological quality and the antibiotic resistance of the isolated bacteria of various samples of waters taken of the Beni Aza wadi and from the wastewater-treatment plant of Chenoua.

This analysis concerned the quantification of the fecal indicator bacteria which are: total coliforms, fecal coliforms and fecal streptococci, and the not specific germs of faecal contamination which are the Anaerobic - Sulfito- Reducers. Also, we analyzed pathogens bacteria like *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and *Vibrio*.

The results showed that the pathogenic bacteria presented a frequency of (100%, 40 %) for *Pseudomonas aeruginosa*, (0%, 40 %) for *Staphylococcus aureus*, (0%, 20%) for *Salmonella* in the station 1 and 2 of the Beni Aza wadi respectively, and the absence of *Vibrio cholerae*.

In the wastewater-treatment plant, we noted a presence of *Salmonella* (100%) in influent wastewater, and the absence of all the pathogenic in treated waters.

A total of 35 enteric bacteria was counted, 15 are isolated in the waters of the wadi, and 20 in the wastewater treatment plant. The wadi showed that *Enterobacter sakazakii* and *Klebsiella spp* were presented with 3 strains (20%). *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia odorifera1* were much more isolated in wastewater treatment 3 (15%).

The results of antibiogram showed that enterobacterial presented variable profiles. Generally, the tested bacteria showed a very strong sensitivity for the Tobramycin (100%) and a majority resistance for the β -lactams.

Furthermore, the study of the *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* resistance for antibiotics revealed a resistance towards the Amoxicilline + Clavulanique acid, the Vancomycin and Fusidic acid.

All the isolates had a very high multiple antibiotic-resistance index (MAR), suggesting that the origin of the isolates to be of high antibiotic usage. The values calculated for sites varied between 0.45 and 0.63, indicating that sites are contaminated by human feces.

Key words: Waters, Beni Aza wadi, wastewater-treatment plant of Chenoua, pathogenic bacteria, *Enterobacteriaceae*, resistance, antibiogram, MAR (Multiple Antibiotic resistance).

ملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم الجودة البكتريولوجية ودراسة مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية من طرف البكتيريا المعزولة من عينات المياه المأخوذة من واد بني عزة ومحطة معالجة مياه الصرف لشنوة.

التحاليل تمحورت حول تحديد كمية البكتيريا الدالة على التلوث الغائطي مثل Anaérobie وهي وfécaux : streptocoques fécaux عن الاحياء الدقيقة الغير الخاصة بالتلوث الغائطي و هي sulfito : réducteurs.

تظهر دراسة البكتيريا المسببة للأمراض تكرار بنسبة (0%، 0%) بالنسبة ل Staphylococcus aureus، (<math>00%)، 08، 09%) بالنسبة ل Salmonella6 في المحطة رقم 1 ورقم 2 لواد بنسبة ل 08، 09%) بالنسبة ل 09،

لاحظنا وجود (100٪) لنوع Salmonella في مياه الصرف الغير المعالجة، وغياب تام لكل البكتيريا المسببة للأمراض في المياه المعالجة .

نتائج فحص المضادات الحيوية بينت ان البكتيريا تبدي انماطا متنوعة.

بصفة عامة البكتيريا المختبرة اظهرت حساسية عالية للتوبر اميسين، ومقاومة طاغية للبيتا لكتامين المستعملة

بالإضافة الى ذلك، تظهر دراسة مقاومة المضادات الحيوية بالنسبة لStaphylococcus aureus و Staphylococcus aureus و Pseudomonas aeruginosa مقاومة للا موكسيسيلين + حمض الكلافولانيك، فانكوميسن و حمض الفوسيديك.

نتائج المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية اسفرت عن ظهور قيمة اكبر من 0،2 ، مما يؤكد امكانية ان كل السلالات عرضت الى عدة مضادات حيوية مع ذلك قد ادى الكشف عن المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية للبكتيريا المعزولة من مياه واد بني عزة و محطة معالجة مياه الصرف لشنوة الى الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية و النشاطات المختلفة للانسان,

الكلمات المفتاحية: ماء، واد بني عزة، محطة معالجة الصرف لشنوة، ، البكتيريا المسببة للأمراض ، العصيات المعوية، مقاومة، المقاومة، المتعددة للمضادات الحيوية.

Liste des abréviations

AM: Ampicilline

AMC: Amoxicilline + acide clavulanique

ATCC: American Type Culture Collection

ASR: Anaérobies Sulfito-Réducteurs

BCPL: Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol

BHIB: Brain-Heart Infusion Broth

BLSE: Béta Lactamses à Spectre Elargi

C: Chloramphénicol

CF: Coliformes Fécaux

CT: Coliformes Totaux

CTX: Céfotaxime

CZ: Céfazoline

EB: Eau Brute

EE: Eau Epurée

EPA: Eau Peptonée Alcaline

FA: Acide Fusidique

GNAB: Gélose Nutritive Alcaline et Biliée

IMP: Imipenème

L: Lincomycine

MAR: Multiple Antibiotic Resistance

MT: Métronidazole

NPP: Nombre le Plus Probable

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

SFB: Bouillon sélénite-cystéine

SF: Streptocoques Fécaux

STEP: Station d'épuration des eaux usées

TOB: Tobramycine

UFC: Unité Formant Colonie

Liste des tableaux

N° de	Titre	
tableau		Page
I	Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau.	Annexe II
II	Principaux mécanismes d'actions des antibiotiques.	9
III	Description des stations de prélèvement au niveau de l'oued	
IV	Résultats des coliformes totaux	36
${f V}$	Résultats des coliformes fécaux	37
VI	Résultats des streptocoques fécaux	38
VII	Nombre des bactéries pathogènes isolées à partir de la satation n° 1 de l'oued	41
VIII	Nombre des bactéries pathogènes isolées à partir de la station n° 2 de l'oued	41
IX	Nombre des bactéries pathogènes isolées à partir des eaux usées brutes de la STEP	41
X	Examen macroscopique des colonies suspectes	42
XI	Illustration de l'identification par galerie Api 20E des espèces d'entérobactéries	43
XII	Illustration de l'identification par galerie biochimique classique des espèces d'entérobactéries	47
XIII	Espèces identifiées	48
XIV	Tableau récapitulatif	51
XV	Pourcentage de <i>Proteus mirabilis</i> résistant aux antibiotiques testés	53
	couvrant chaque site	
XVI	Pourcentage de Serratia odorifera 1 résistant aux antibiotiques testés 55	
	couvrant chaque site	
XVII	Pourcentage de <i>Pantoea ssp2</i> résistant aux antibiotiques testés 56	
******	couvrant chaque site	
XVIII	Pourcentage de <i>Klebsiella ornithinolytica</i> résistant aux antibiotiques	57
XIX	testés couvrant chaque site Pourcentage de <i>Citrobacter freundii</i> résistant aux antibiotiques	59
AIA	testés couvrant chaque site	39
XX	Pourcentage de Salmonella spp résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site	61
XXI	Pourcentage d' <i>Enterobacter sakazakii</i> résistant aux antibiotiques	62
AAI	testés couvrant chaque site	
XXII	Pourcentage d' <i>Escherichia coli</i> résistant aux antibiotiques testés 65	
**************************************	couvrant chaque site	
XXIII	Pourcentage de <i>Kebsiella spp</i> résistant aux antibiotiques testés 66	
VVIII	couvrant chaque site	
XXIV	Comparaison des taux de résistance obtenus dans cette étude dans la STEP, avec la littérature.	67
XXV	Comparaison des taux de résistance obtenus dans cette étude dans	68
	l'oued, avec la littérature.	

X/X/X/I	Nombre de résistance de l'ensemble des bactéries à un ou plusieurs 68		
XXVI	Nombre de résistance de l'ensemble des bactéries à un ou plusieurs		
	antibiotiques		
XXVII	Diamètre de zone d'inhibition de S.aureus vis-à-vis de la	70	
	pénicillinase G		
XXVIII	Table de NPP (table de Mac Grady)	Annexe II	
XXIX	Table de lecture de la galerie Api 20 E	Annexe II	
XXX	Noms, abréviations et charge d'antibiotiques utilisés	Annexe II	
XXXI	Normes microbiologiques des rejets des eaux usées	Annexe II	
XXXII	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI Annex		
	pour les <i>Entérobactéries</i> .		
XXXIII	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI Annex		
	pour Staphyloccocus spp.		
XXXIV	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI Annex		
	pour Pseudomonas aeruginosa.		
XXXV	Résultats des analyses bactériologiques de l'oued Beni Aza Annexe		
	III		
XXXVI	Résultats des analyses bactériologiques de la STEP de Chenoua Annexe		
	III		
XXXVII	Résultats de mesure des zones d'inhibition pour les Entérobactéries	Annexe	
	détectées, exprimés en millimètre.		
XXXVIII	Résultats de mesure des zones d'inhibition pour les Pseudomonas	Annexe	
	détectées, exprimés en millimètre III		
XXXIX	Résultats de mesure des zones d'inhibition pour Staphylococcus	Annexe	
	aureus détectées, exprimés en millimètre	III	

Liste des figures

N° de	Titre	
figure		
01	Action des antibiotiques sur la structure de la bactérie	9
02	Présentation de la zone d'étude	
03	Localisation géographique des sites de prélèvements de l'Oued Beni	
	Aza	
04	Oued Beni Aza Site 1	16
05	Oued Beni Aza Site 2	17
06	Station d'épuration de Chenoua	17
07	Point de prélèvement de l'eau brute	16
08	Point de prélèvement de l'eau épurée	18
09	Principe de la dilution	19
10	Résultat positif du milieu BCPL	21
11	Repiquage sur milieu Schubert	22
12	Apparition d'un anneau rouge	23
13	Résultat positif du milieu ROTHE	24
14	Résultat sur milieu EVA-LITSKY	25
15	Lecture des résultats des spores d'Anaérobies-Sulfito-Réducteurs	26
16	Résultat d'une catalase positive	28
17	Coagulase positive	29 31
18	1	
19	Galerie Api 20 E ensemencée	
20	Lecture de l'antibiogramme	
21	Variation des A.S.R dans les eaux de l'oued	40
22	Variation des A.S.R dans les effluents bruts et traitées de la STEP	
23	Répartition des Entérobactéries détectées dans les deux sites de prélèvements de l'oued Beni Aza	49
24	Répartition des Entérobactéries détectées dans les deux sites de	49
24	prélèvements au niveau de la STEP	47
25	Répartition de l'ensemble des espèces d'Entérobactéries des eaux	50
	échantillonnées à partir de l'oued Beni Aza	
26	Répartition de l'ensemble des espèces d'Entérobactéries issues	51
	des effluents bruts et traités de la STEP	
27	Pourcentage de Serratia marcescens résistant aux antibiotiques	54
	testés (n=1)	
28	Pourcentage global de Serratia odorifera1 résistant aux	54
•	antibiotiques testés (n=4)	
29	pourcentage de résistance de <i>Pantoea ss1</i> aux antibiotiques testés 55	
20	(n=1)	
30	pourcentage de résistance de <i>Pantoea ssp2</i> aux antibiotiques testés 56	
21	(n=2)	
31	Pourcentage de <i>Klebsiella ornithinolytica</i> résistant aux antibiotiques	57
22	testés (n=3)	50
32	Pourcentage de <i>Kelbsiella pneumoniae</i> résistant aux antibiotiques	58
	testés (n=2)	

33	Pourcentage d' <i>Enterobacter amnigenus2</i> résistant aux antibiotiques	
	testés (n=1).	
34	Pourcentage de Citrobacter freundii résistant aux antibiotiques	
	testés (n=3)	
35	Pourcentage de <i>Providencia alcalifaciens rustigianii</i> résistant aux	60
	antibiotiques testés (n=1)	
36	Pourcentage de <i>Salmonella spp</i> résistant aux antibiotiques testés	61
	(n=2)	
37	Pourcentage d'Enterobacter sakazakii résistant aux antibiotiques	62
	testés (n=5)	
38	Pourcentage de Serratia fonticola 1 résistant aux antibiotiques testés	63
	(n=1)	
39	Pourcentage de Citrobacter braakii de résistant aux antibiotiques	63
	testés (n=1)	
40	Pourcentage d'Escherichia coli résistant aux antibiotiques testés	64
	(n=2)	
41	Pourcentage de <i>Kebsiella spp</i> résistant aux antibiotiques testés (n=4)	65
42	Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques testés (n=2)	69
43	Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques testés 70	
	(n=4).	
44	Indice MAR calculé à partir des différents isolats	71
45	Indice MAR calculé à partir des quatre sites	71
46	Indice MAR calculé à partir des différents pathogènes	72
47	Indice MAR calculé à partir des sites.	72
48	Recherche des Salmonelles Anne	
		II
49	Recherche des Vibrions cholériques	Annexe
	•	II

Introduction

'eau est une ressource limitée, indispensable à la vie humaine et animale. Elle intervient également dans toutes les activités humaines et dans le développement socioéconomique de tout pays (HOUESSOU, 2009).

Elle constitue aussi le patrimoine d'une nation. L'eau est une préoccupation constante de toutes les époques et de tous les lieux. Au cours des dernières décennies, les problèmes relatifs à la protection et à l'utilisation des ressources en eau se sont accentués dans le monde. Ces problèmes affectent aussi bien les pays en voie de développement, aux ressources économiques limités, que les pays développés (GARTET et al., 2001).

Au cours de ces 10 dernières années, la problématique de la résistance aux antibiotiques s'est étendue au-delà des contextes cliniques et vétérinaires. Ainsi, le milieu environnemental est devenu de plus en plus étudié à la fois comme récepteur et source de l'antibiorésistance (STALDER, 2012).

Selon **WISE** (2002), les antibiotiques sont des molécules très utilisés en médecine humaine et vétérinaire, dont la consommation a été estimée entre 100 000 et 200 000 tonnes/ an à l'échelle mondiale. Après ingestion, les antibiotiques sont métabolisés dans des proportions allant de 20 à 80%. Une quantité non négligeable de leur principe actif est excrétée principalement au niveau des urines et collectée au niveau des eaux usées en milieu urbain, ou rejetée directement dans l'environnement dans le cas des élevages.

Bien que l'utilisation pour la médecine humaine ne représente environ que 35% de l'usage total, plusieurs études ont montré que les antibiotiques utilisés, sont régulièrement détectés dans les effluents (LINDBERG et al., 2006; MIAO et al., 2004), De nombreux travaux ont montré que les types de traitements appliqués en station d'épuration n'était pas toujours à même de traiter les microcontaminants, en particulier les molécules les plus hydrophiles (BATT et al., 2007; LINDBERG et al., 2005). Ces composés ont donc pu être détectés dans les eaux de surface en aval des rejets des stations d'épuration.

La présence de ces composés dans les rejets pourraient être à l'origine de différents problèmes : risque de perturbation des traitements biologiques du fait d'une action sur les bactéries impliquées dans ces traitements (AL-AHMAD et al., 1999) et surtout la sélection ou le maintien de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques (KLEINER et al., 2007; OBST et al., 2006; KUMMERER et HENNINGER, 2003).

C'est dans ce contexte que cette étude a été menée et son objectif principal était d'une part l'évaluation bactériologique des eaux de surface de l'oued Beni Aza (wilaya de Blida) et

des eaux usées et traitées au niveau de la STEP de Chenoua (Wilaya de Tipaza) dans le but d'estimer le degré de pollution microbienne par la quantification des germes indicateurs de contamination fécale : les coliformes et les streptocoques fécaux, ainsi que la recherche de germes pathogènes tels que : les Salmonelles, les Staphylocoques, les Vibrions cholériques, les Anaérobies Sulfito-Réducteurs et les *Pseudomonas* et d'autre part ,nous avons testé plusieurs antibiotiques sur les bactéries isolées en se basant sur leur spectre d'action dans le but était d'en évaluer le degré de dissémination des bactéries résistantes aux antibiotiques dans le milieu aquatique.

I. POLLUTION DE L'EAU

Le problème de la pollution des eaux est devenu l'un des aspects les plus inquiétants de la dégradation du milieu naturel et pourrait constituer à long terme, un réel danger pour l'avenir de l'humanité. En effet, depuis quelques années, une dégradation progressive de la qualité des eaux et des nappes souterraines due à la multiplication de rejets d'eaux usées a été constaté (**BELAID**, **2010**).

I.1. Définition de la pollution de l'eau

Selon **GUIRAUD** (1998), c'est la contamination de l'eau par des substances étrangères, comme les micro-organismes, des produits chimiques, des déchets industriels ou autres, dues à des déversements, écoulements, rejets, dépôts directs ou indirects de matière de toute nature et, plus généralement, tout à fait susceptible de provoquer ou d'accroitre la dégradation des eaux en modifiant leurs caractéristiques chimiques ou biologiques.

I.2. Origine de la pollution

D'après **GAUJOUS** (1995), selon l'origine des substances polluantes, quatre catégories de pollution sont à distinguer :

4 Pollution domestique

Elle provient des habitations. Elle est en général, véhiculée par le réseau d'assainissement. La pollution domestique se caractérise par la présence en germes fécaux, des teneurs élevées en matières organiques, en sels minéraux et des détergents (GAUJOUS, 1995). Elle peut être responsable de l'altération des conditions de transparence et d'oxygénation de l'eau ainsi que du développement de l'eutrophisation dans les rivières (FAURIE et al., 2003).

Pollution industrielle

Tous les rejets résultant d'une utilisation de l'eau autre que domestique sont qualifiés de rejets industriels. Cette définition concerne les rejets des usines, mais aussi les rejets d'activités artisanales ou commerciales : blanchisserie, restaurant, laboratoires d'analyses médicales, etc... (BAUMONT, 2005).

Pollution agricole

L'agriculture est une source de pollution des eaux qui n'est pas du tout négligeable car elle apporte les engrais et les pesticides. Elle est la cause essentielle des pollutions diffuses (BONTOUX, 1993). Cette pollution est véhiculée, soit par les eaux de ruissellement, soit par les eaux d'infiltration et concerne donc les eaux superficielles et les eaux souterraines (MARCEL, 1989).

4 Pollution naturelle

Divers phénomènes naturels sont aussi à l'origine de la pollution des eaux (GROSCLAUD, 1999).

I.3. Effets de la pollution sur l'eau

Selon **DEPONTANEL** et GUIDICELLI (1993), parmi les principaux effets de la pollution de l'eau, on cite :

- ✓ La dégradation de la qualité de l'eau en la rendant impropre aux usages souhaités.
- ✓ Les maladies à transmission hydrique.
- ✓ La destruction des organes bienfaisants et le bouleversement du processus d'autoépuration et éventuellement la modification de façon défavorable du milieu vivant.

Dans le même contexte, on peut citer le phénomène de l'eutrophisation. C'est une fertilisation excessive des eaux due à un apport massif de composés azotés et phosphorés provenant de l'activité agricole et des rejets domestiques et industriels (RYBARCZYK et al., 1996).

I.4. Maladies à transmission hydrique d'origine bactérienne

Au cours du 19^esiècle, les maladies d'origine hydrique ont été responsables de vastes épidémies de dysenterie, fièvre typhoïde, choléra, entre autres (BALBUS et al., 2002; ANGELO et al., 1997).

Aujourd'hui, ces maladies sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé des populations des pays en voie de développement. Ces maladies sont le plus souvent transmises par voie féco-orale, et la contamination de l'homme se réalise soit par consommation d'eau de boisson, soit par consommation d'aliments contaminés par l'eau, soit encore lors d'un bain ou d'un contact avec des eaux à usage récréatif (GEORGE et SERVAIS, 2002).

Toutefois les maladies à transmission hydrique recouvrent un large éventail de manifestations pathologiques détaillées dans le Tableau I (Voir annexe II).

II. CARACTERISTIQUES MICROBIOLOGIQUES DES EAUX

II.1.Germes indicateurs de contamination fécales

✓ Coliformes

Selon MADIGAN et MARTINKO (2007), les coliformes sont définis comme des bactéries en forme de bacilles, à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatifs, non sporulées, qui fermentent le lactose avec production de gaz en 48 heures à 37°C. La plus part des coliformes appartiennent aux groupes des bactéries entériques qui comprennent: *Escherichia coli*, un habituel du tractus digestif, ainsi que *Klebsiella pneumoniae*, moins fréquent du tube digestif et pathogène.

Parmi les bactéries d'origine fécale, on distingue deux groupes de coliformes :

- O Coliformes totaux (CT): les bactéries coliformes existent dans les matières fécales mais se développent également dans les milieux naturels (sols, végétation, eaux naturelles). Les eaux traitées ne doivent pas contenir des coliformes. Cependant, l'absence de ces dernières ne signifie pas nécessairement que l'eau ne présente pas un risque pathogène car les kystes de certains parasites sont plus résistants à la désinfection que les coliformes (POTELON et ZYSMAN, 1998).
- O Coliformes fécaux (CF): ou encore appelés « coliformes thermo-tolérants ». Ce sont des bactéries qui possèdent les mêmes propriétés que les coliformes totaux, avec en plus production d'indole à partir du tryptophane à 44°C (DELARRAS, 2010). Ils correspondent le plus souvent à *Escherichia coli*. C'est un bon indicateur de contamination fécale récente liée à la présence humaine (SATIN et SELMI, 2006).

✓ Streptocoques fécaux (SF)

Le genre *Streptococcus* rassemble des espèces bactériennes qui ont en commun un certain nombre de caractères. Ce sont des cocci à Gram positif, sphériques ou ovoïdes, disposés en paires pour former des diplocoques et pouvant se présenter sous forme de chainettes parfois longues, ils ne sporulent pas. (**AVRIL** et *al.*, 1992).

D'après **EMMANUEL** (2003) et **AVRIL** et *al.*, (1992), le terme 'Streptocoques fécaux ' désigne les streptocoques ubiquistes généralement présents dans les fèces de l'homme et des animaux et qui sont à l'origine de contamination des eaux et des aliments. Tous possèdent l'antigène du groupe D de Lancefield. Du point de vue taxonomique, ils appartiennent aux genres *Enterococus* et *Streptococus*.

II.2. Germes pathogènes

✓ Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR)

Ce sont des bacilles à Gram positif, catalase négative, immobiles, anaérobies stricts, capsulés ou sporulés, fermentant le glucose et le lactose et capable de réduire le sulfite de sodium en sulfure (HASLAY et LECLERCQ, 1993; BLOCK, 1982).

Hôtes nombreux de l'intestin, ils peuvent également être d'origine tellurique. Dans l'eau, les formes sporulées; plus résistantes que les formes végétatives permettent de déceler une contamination fécale ancienne. Elles sont mises en évidence par culture à 37°C en 48 heures (BONNEFOY et *al.*, 2002) donnant des colonies entourées d'un précipite noir (BLOCK, 1982).

✓ Salmonelles

Selon **DELARRAS** et **TERBAOL** (2003), les salmonelles 'genre *Salmonella*' sont classées dans la famille des *Enterobacteriaceae*. Elles ont les propriétés générales des bactéries de cette famille. Les salmonelles engendrent la fièvre typhoïde qui est due à *Salmonella typhi* tandis que la fièvre paratyphoïde est liée à *Salmonella paratyphi* A et à certaines souches de *Salmonella paratyphi* B.

Les salmonelles peuvent être présentes dans l'eau des égouts agricoles et domestiques, dans les eaux douces, y compris les eaux potables et les nappes phréatiques, ainsi que dans l'eau de mer (RODIER et al., 2009).

✓ Staphylocoques

Ces bactéries appartiennent à la famille des *Micrococacceae* (BERGEY, 1984). Ce sont des cocci à Gram positif arrangés en paires, en tétrades ou en grappes. Ils sont immobiles, aérobies ou anaérobies facultatifs, asporulés (OMS, 1995). Ils sont catalase positive et fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique (LECLERC et *al.*, 1995). L'espèce *Staphylococcus aureus* possède toute ces caractéristiques ajoutant à cela qu'elle est coagulase positive.

Il est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (LECLERC et al., 1995).

L'espèce *S. aureus* revêt plus d'intérêt quant à la pollution des eaux littorales et des fruits de mers. Deux autres espèces *S. epidermidis* et *S. saprophyticus* sont assez fréquemment rencontrées dans l'eau, mais leur pouvoir pathogène est moins important. La recherche des Staphylocoques présente un intérêt pratique surtout dans les eaux destinées à la baignade (RODIER et *al.*, 2005 ; GAUJOUS, 1995).

✓ Vibrions cholériques

D'après **AVRIL** et *al.*, (1992), *Vibrio cholerae* fait partie de la famille des *Vibrionaceae* qui regroupe des bacilles à Gram négatif, mobiles par ciliature polaire, aéro-anaérobies facultatifs, croissant sur milieux ordinaires, réduisant les nitrates en nitrites, fermentant les glucides et donnant une réaction d'oxydase positive.

Le genre *Vibrio* fait partie des bactéries autochtones des milieux marins, beaucoup vivent en saprophytes dans les eaux douces, mais également commun dans les habitats aquatiques salés (eaux de mer, estuaires, intestins des animaux marins), les vases et les boues marines. (RAOULT, 1998).

✓ Pseudomonas

Pseudomonas aeruginosa de la famille des Pseudomonaceae est un bacille à Gram négatif, aérobie stricte, à métabolisme oxydatif, non sporulé, en forme de bâtonnet de 0,5 à 0,8 μm de diamètre sur 1,5 à 3,0 μm de langueur, mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique, capable de se développer sur les milieux usuels à une température de croissance comprise entre 30°C et 37°C (FOLRET et al., 2009).

C'est une bactérie saprophyte de l'eau, des matières en décomposition et des végétaux. Ses exigences nutritionnelles lui permettent de survivre et de se multiplier dans un environnement humide (éviers, siphons, certaines solution antiseptiques) (LAHLOU et al., 2008).

Elle peut produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleue) et la pyorubrine (jaune vert) fluorescentes (WILLCOX, 2007; ENOCH et al., 2004; PALUMBO, 1972).

III. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET CONTAMINATION DES EAUX PAR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES

III.1. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme (**DELAERE**, **2001**). Elle correspond à la capacité d'une bactérie de se multiplier en présence d'une concentration d'antibiotique égale ou supérieure à celle que l'on peut obtenir *in vivo* (**HAMMOUM et HAMMOU**, **2002**).

On assiste de surcroît à des multirésistances, c'est à dire au fait qu'une bactérie est résistante en même temps à plusieurs familles d'antibiotiques (**DELAERE**, 2001).

III.1.2. Définition des antibiotiques

La définition des antibiotiques a connu une évolution dans le temps ainsi :

- Waksman (1943) a défini les antibiotiques comme 'toutes substances chimiques produites par les micro-organismes capables d'inhiber le développement et détruire les bactéries et d'autres micro-organismes' (BERGOGNE-BEREZIN et DELLAMONICA, 1999; (MILHAULD et al., 1982).
- Turpin et Velu (1957) ont quant à eux défini les antibiotiques comme 'tout composant chimique élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio thérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des virus, des micro-organismes et de certains êtres pluricellulaires' (MILHAULD et al., 1982).
- Actuellement, les antibiotiques se définissent comme étant des substances antibactériennes produites par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les micro-organismes (YALA et al., 2001).

Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (YALA et al., 2001).

III.1.3. Mode d'action des antibiotiques

Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et A.D.N) (Figure 1) et/ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonctions (**TORTORA** et *al.*, **2003**).

Les modes d'action majeurs des antibiotiques incluent l'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire (β-lactames), l'inhibition de la synthèse protéique (macrolides), l'interférence avec la synthèse de l'acide nucléique (fluoroquinolones) et l'inhibition d'une

voie métabolique (TENOVER, 2006). Le tableau II résume les principaux modes d'action des antibiotiques.

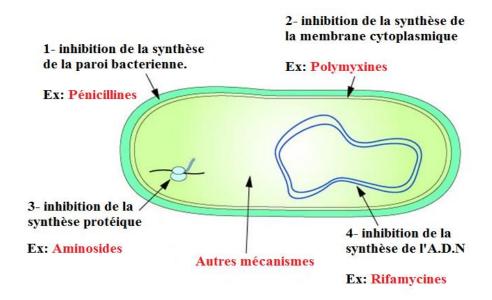


Figure 1 : Action des antibiotiques sur la structure de la bactérie (FIGARELLA et al., 2007)

Tableau II. Principaux mécanismes d'action des antibiotiques

Antibiotiques	Mode d'action
	Inhibition de la synthèse de la paroi
Pénicilline	Active les enzymes lytiques de la paroi.
Ampicilline	Inhibe les enzymes de transpeptidation
	impliquées dans le pontage des chaînes
	polysacharidiques du peptidoglycane de la
	paroi bactérienne.
Vancomycine	Se fixe directement sur la terminaison D-Ala-
	D-Ala et inhibe la transpeptidation.
Bicitracine	Inhibe la synthèse du peptidoglycane en
	interférant avec l'action des transporteurs
	lipidiques qui transfèrent les précurseurs de
	ce polymère à travers la membrane cellulaire.
	Inhibition de la synthèse protéique
Streptomycine	Se fixe à la sous unité 30S du ribosome
Gentamicine	bactérien pour inhiber la synthèse protéique

	et provoquer des erreurs dans la lecture de l'ARNm.
Chloramphénicol	Se fixe à la sous unité 50S du ribosome et empêche la formation des liaisons peptidiques par l'inhibition de la peptidyltransférase.
Erythromycine	Se fixe à la sous unité 50S du ribosome et inhibe l'élongation de la chaîne peptidique.
	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques
Ciprofloxacine et autres quinolones	Inhibe l'ADN gyrase bactérienne et donc interfère avec la réplication de l'ADN, la transcription et autres activités impliquant l'ADN.
	Destruction de la membrane cellulaire
Polymyxine B	Se fixe à la membrane cellulaire et perturbe sa structure et ses propriétés de perméabilité.
Sulfamide	Antagonisme métabolique Inhibe la synthèse de l'acide folique par compétition avec l'acide p-aminobenzoique.

(PRESCOTT et al., 2003)

III.1.4. Mécanisme de résistance

On connait deux grands types de résistance :

Résistance naturelle

Les bactéries n'étant pas suicidaire, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. Il s'agit de la résistance naturelle aux antibiotiques (LOZNIEWSKI et RABAUD, 2010).

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (SMAOUI, 2010). Elle fait partie du patrimoine génétique normale du germe (YALA et al., 2001). Klebsiella sp produit naturellement des bêta-lactamases. Tandis que les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides (LAZNIEWSKI et RABAUD, 2010).

Résistance acquise

A côté de la résistance naturelle, existe aussi des résistances acquises. C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe

d'antibiotiques. Ces nouveaux gènes peuvent être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome, soit par transfert d'ADN des plasmides conjugatifs ou de transposons (YALA et al., 2001).

III.1.5. Mécanismes biochimiques de résistance bactérienne aux agents antimicrobiens

Ils peuvent être regroupés en trois grands types de mécanismes : diminution de la perméabilité et efflux actif, modification de la cible des antibiotiques, production d'enzymes inactivant les antibiotiques (WRIGHT, 2007; LEVY et MARSHALL, 2004).

Diminution de la perméabilité

Par mutation affectant la structure des porines ou diminuant leur synthèse par lesquelles l'antibiotique ne peut pas pénétrer dans la bactérie (LOZNIEWSKI et RABAUD, 2010)

• Expulsion rapide de l'agent hors de la cellule avant qu'il puisse agir :

Un certain nombre de bactéries possède une capacité intrinsèque de rejeter hors de la cellule la substance qui vient d'y entrer. Cette propriété est très connue chez les bactéries à Gram négatif (c'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa*) qui possèdent dans leur membrane des protéines, appelées pompes effluentes, qui expulsent les antibiotiques (JAYARAMAN, 2009; LEE, 2006).

• La destruction ou l'inactivation de l'antibiotique par production d'enzymes :

Les antibiotiques sont susceptibles d'être dégradés par voie enzymatique. L'exemple le plus connu est l'hydrolyse du noyau béta-lactame par des béta-lactamases dont certaines de ces enzymes sont à spectre élargi (BRADFORT, 2001).

Le nombre de béta-lactamases plasmidiques est très élevé et elles sont classées selon leurs vitesses d'hydrolyse, leurs constantes d'affinité pour les béta-lactamines, leurs faculté à être inhibé par les inhibiteurs tels que l'acide clavulanique (LOZNIEWSKI et RABAUD, 2010).

*Les pénicillinases sensu stricto; chez l'espèce *Staphylococcus aureus*, elles inactivent la pénicilline G, la pénicilline A. Elles sont par contre sans action sur la pénicilline M ainsi que sur les céphalosporines.

*Les pénicillinases à spectre élargi ; Ces béta-lactamases entrainent une résistance (ou une diminution d'activité) vis-à-vis des pénicillines G, des pénicillines M, des carboxypénicillines, des céphalosporines de la 1 ère et de la 2 ème génération.

*Les béta-lactamases résistantes aux inhibiteurs ; les béta-lactamases résistantes aux inhibiteurs dérivent de certains béta-lactamases à spectre élargi par mutation ponctuelle. Le profil conféré est identique à celui des béta-lactamases à spectre élargi mais ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique.

D'autres enzymes hydrolysent de nombreux antibiotiques, tels les céphotaximases (CONTON et COQUE, 2006 ; BONNET, 2004).

III.2. CONTAMINATION DES EAUX PAR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES

L'eau étant le réceptacle final de bon nombre de nos déchets, la forte consommation d'antibiotiques dans les pays industrialisés, en médecine humaine et vétérinaire, et les rejets d'assainissement conduisent inévitablement à ce que des traces de ces molécules se retrouvent dans nos effluents liquides (**LEVI**, 2006).

Aujourd'hui, la résistance aux antibiotiques ne peut pas se limiter à un problème médical ou vétérinaire. En effet, la résistance aux antimicrobiens est également décrite comme un phénomène écologique global où les micro-organismes et des gènes de résistance se déplacent facilement entre les quatre principaux écosystèmes: d'humains et animaux dans le sol et l'eau et vice versa (NWOSU, 2001).

Parmi ces écosystèmes majeurs, l'environnement aquatique est un vecteur naturel efficace de dissémination des bactéries résistantes aux antibiotiques (REINTHALER et al., 2003; SCHWARTZ et al., 2003) et est décrit par plusieurs auteurs comme un réservoir environnemental de gènes de résistance aux antibiotiques (AMINOV et MACKIE, 2007; SEVENO et al., 2002).

Les études publiées sur la recherche de bactéries antibiorésistantes dans les eaux de surface douces ou salées, souterraines, potables, usées, embouteillées, montrent que dans chaque type d'eau est décelé, selon les protocoles employés, des espèces bactériennes recherchées et la gamme d'antibiotiques utilisée, des présences de résistance.

En Inde, en étudiant un fleuve sur une longueur de 250 km, **BAGHEL** *et al.*, (2003) trouvent que 20 à 60 % des coliformes sont résistants à divers antibiotiques. L'eau de mer n'est pas épargnée puisqu'aux Canaries, **JUNCO** *et al.*, (2001) isolent 42 % des *Enterobacter faecalis* résistants à la Tétracycline. A Malaga (Espagne), **MORINIGO** *et al.*, (1990) trouvent 50-60 % des *Salmonella* résistantes à au moins à un antibiotique.

Dans les eaux souterraines en Virginie (États-Unis), MAC KEON et al., (1995) identifient 60 % des coliformes comme étant multirésistants. En 1978, dans des eaux potables, LECLERC et al., (1978) montrent dans le Pas-de-Calais que 100 % des Aeromonas hydrophila et 88 % des Klebsiella pneumoniae étaient résistentes vis-à-vis de l'Ampicilline.

En Grèce, 87 % des isolats étaient résistants à deux ou plus de deux antibiotiques (**PAPPETROPOULOU** *et al.*, **1994**). En Italie, l'étude de **MASSA** *et al.*, **(1995)** sur des eaux embouteillées montre que 50 % des *Acinetobacter étaient* résistants à l'Acide nalidixique, 40 % des *Pseudomonas* et 50 % des *Flavobacterium* à l'Ampicilline.

YANG et al., (2009) ont observé que 32% des coliformes dans les isolats issus des eaux usées à Taïwan étaient multirésistants (résistants à au moins 5 antibiotiques sur 8 testés). En ce qui concerne *E. coli*, ils ont montré que 80% des *E. coli* isolées d'eaux usées municipales

PARTIE BIBILIOGRAPHIQUE

résistent à l'Ampicilline, alors que seulement 2 à 18% le sont au niveau de la station d'épuration. **TUMEO** (2007) a retrouvé des *P. aeruginosa* multirésistants aux antibiotiques dans les eaux usées urbaines.

SERVAIS (2009) rapportait une prévalence de multirésistants pour *E. coli* dans les eaux usées municipales de 34%. **BEIER** (2008) rapporte la présence d'entérocoques résistants à la Vancomycine dans les effluents urbains au Texas.

I. MATERIEL ET METHODES

L'objectif de cette étude est l'évaluation du niveau de la contamination des eaux issues de la station d'épuration des eaux usées (STEP) de Chenoua (avant et après épuration) et des eaux provenant de deux stations situées sur l'oued Beni Aza et de dresser un profil de résistance des bactéries potentiellement pathogènes vis-à-vis de plusieurs antibiotiques.

Notre étude a été réalisé durant une période allant de la fin Janvier jusqu'au mois de Mai de l'année 2016, au sein du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

I.1. Présentation des sites de prélèvements

4 Oued Beni Aza

L'oued Beni Aza se situe au Nord de l'Algérie dans la wilaya de Blida. Il prend naissance sur les hauteurs de Chréaa et traverse la wilaya de Blida au niveau des communes d'Ouled Yaich et Beni Merad puis celle de l'oued Alleug. Il se réunit avec l'oued Mazafran au niveau du lieu dit Magtaa Kheira et se déverse dans la mer Méditerranéenne après un parcours de 33,8 Km (**BENGHERBIA** *et al.*, **2014**) (Figure 2).

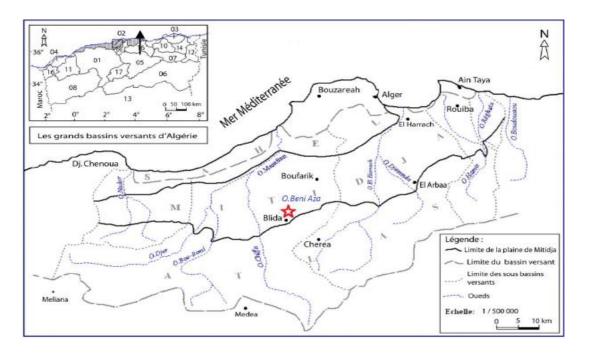


Figure 2 : Présentation de la zone d'étude (BENGHERBIA et al., 2014).

Nous avons retenu deux stations de prélèvement (en amont **S1** et en aval **S2**) (Figures 4-5), les plus exposés aux éventuels risques de pollution (tels que les décharges publiques, les rejets des eaux usées, les rejets agricoles et industriels, etc....).

La description de ces stations est illustrée dans le Tableau III.

Tableau III : Description des stations de prélèvement au niveau de l'oued.

Station 1	Station 2
Latitude : 36°29'30.02''N	Latitude : 36°30'02.11'N
Longitude : 2°50′53.74′′E	Longitude : 2°50'33.74''E
Altitude: 202 m	Altitude : 179 m
Source de pollution : rejets des bidonvilles de Ben Achour	Source de pollution : rejets des bidonvilles de Khazrouna et les industries

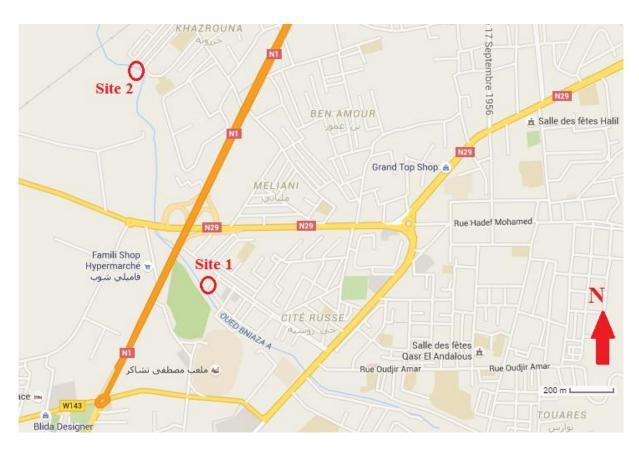


Figure 3 : Localisation géographique des sites de prélèvements de l'Oued Beni Aza (Google map modifié).



Figure 4: Oued Beni Aza Site 1.



Figure 5 : Oued Beni Aza Site 2.

♣ Station d'épuration Chenoua

Elle est située à proximité de l'oued Nador sur le chemin de la wilaya CW 169, reliant la ville de Tipaza à Cherchell. Sa superficie est de 40819m² (Figure6). Elle a été conçue dans le but d'épurer les eaux usées urbaines et protéger l'oued Nador et la mer Méditerranéenne (**ONA, 2011**). Mis en service en janvier 2008, la STEP de Chenoua a une capacité de 70.000 Eq.Hab pour débit de 11200m³/J.

Les performances de traitement lui permettent de garantir une conformité du rejet de 100% en 2013 et un rendement d'élimination de la pollution supérieur à 93% (WWW.SEAAL.DZ).

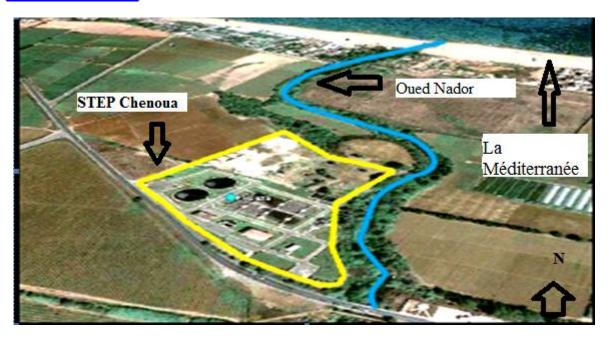


Figure 6 : Station d'épuration de Chenoua

Nous avons recueillis des échantillons d'eau à l'entrée de la STEP après le prétraitement (eaux brutes, figure 7) et à la sortie de la STEP (eaux épurées, figure 8).



Figure 7 : Point de prélèvement de l'eau brute.





Figure 8 : Photo lors d'un prélèvement de l'eau épurée.

I.2. Fréquence et mode de prélèvement

Les échantillons d'eaux proviennent des sites cités précédemment. Au total, nous avons effectué trente-deux prélèvements bimensuels d'une fréquence de huit échantillons pour chaque site. Les prélèvements ont été effectué le matin.

Pour les analyses bactériologiques, nous avons utilisé des flacons en verre de 250 ml (250 ml ×4) stérilisés préalablement dans l'autoclave à 120°C puis bouchés, pour une protection totale contre toute contamination.

Dans les deux stations de l'oued Beni Aza :

Les flacons sont immergés en position verticale en le tenant par le fond, l'ouverture doit être légèrement plus haute que le fond et dirigée dans le sens contraire du courant.

Pour les eaux de la STEP de Chenoua :

Pour étudier les caractéristiques bactériologiques des eaux usées brutes et épurées, nous avons effectué des prélèvements manuels instantanés.

I.3. Transport et conservation des échantillons

L'analyse bactériologique doit être effectuée le plus rapidement possible, dans un délai ne dépassant pas 8 heures. Le transport des échantillons est effectué dans une glacière dont la température doit être comprise entre 4 à 6°C.

I.4. Matériel

Le matériel est représenté par la verrerie comme les flacons de prélèvement, les boites de Pétri, les tubes à essai, les milieux de culture, les réactifs, les disques d'antibiotiques et les appareillages (Voir annexe I).

I.5. Analyse Bactériologique

L'énumération des bactéries indicatrices de contamination fécale (coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux) ainsi que la recherche des germes pathogènes (Clostridium Sulfito-réducteurs, salmonelles, vibrions cholériques, Staphylocoques et *Pseudomonas*) ont été réalisées au niveau du laboratoire d'hygiène de BLIDA, selon les techniques décrites par **RODIER et** *al.*, (2005).

I.5.1. Préparation des dilutions

Avant de réaliser les analyses microbiologiques des eaux issues de l'Oued Beni Aza et de la STEP de Chenoua, nous avons effectué une série de dilution (Figure 9) :

- Pour l'eau brute de l'oued Beni Aza, cette dilution varie de 10⁻¹ jusqu'à 10⁻⁵,
- Pour les eaux usées brutes de la STEP de Chenoua de 10⁻¹jusqu'à 10⁻⁴,
- et pour l'eau épurée de la STEP de 10⁻¹ jusqu'à 10⁻³.

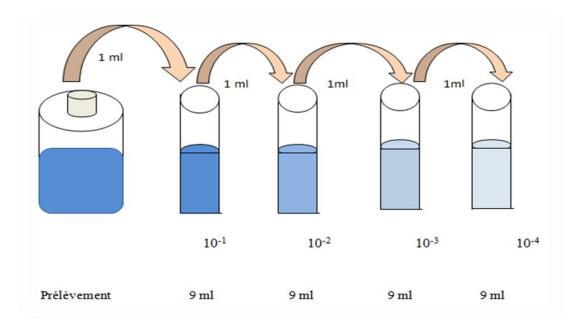


Figure 9 : Principe de la dilution.

I.5.2. Recherche et dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécale

a) Recherche et dénombrement des Coliformes

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- O Test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- O Test de confirmation : encore appelé test de Mac Kenzie réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

4 Test de présomption

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

- 50ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham.

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.

<u>Lecture</u>:

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) (figure 10).

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 NPP qui figure en annexe.

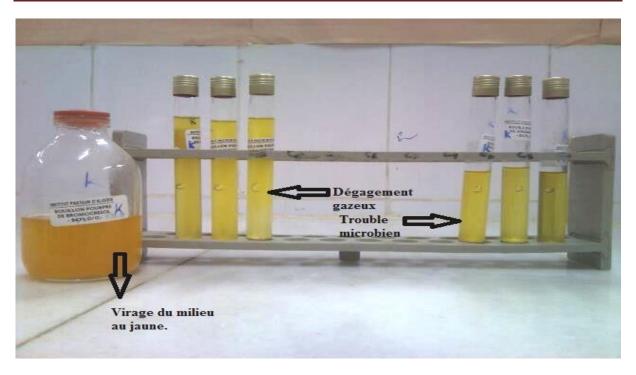


Figure 10: Résultat positif du milieu BCPL.

★ 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 carbonne

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, comme l'indique la figure 11.



Figure 11: Repiquage sur milieu Schubert.

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

Incubation:

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

<u>Lecture</u>:

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois

- Un dégagement gazeux, et
- 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. (figure 12)

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

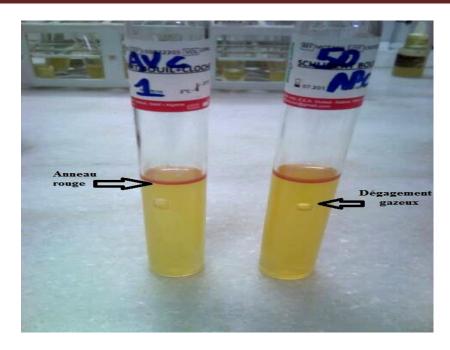


Figure 12: Apparition d'un anneau rouge.

b) Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux

Tout comme la méthode de recherche de coliformes en milieu liquide, celle de la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- **♣** Test de présomption
- → Test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des Streptocoques fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Test de présomption

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

- ❖ 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu ROTHE D/C,
- ❖ 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C,
- ❖ 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

<u>Incubation</u>:

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

<u>Lecture</u>:

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien. (Figure 13)

Seulement ces derniers:

- Ne doivent en aucun cas faire l'objet de dénombrement
- Doivent par contre, absolument faire l'objet d'un repiquage sur milieu EVA-LITSKY dans le but d'être confirmés.



Figure 13: Résultat positif du milieu ROTHE.

> Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage dans des tubes contenant le milieu EVA-LITSKY.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

<u>Incubation</u>:

L'incubation se fait cette fois-ci à 37°C pendant 24 heures.

Lecture:

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

- Un trouble microbien, et
- Une pastille violette (Blanchâtre) au fond des tubes (figure 14)

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table NPP qui figure en annexe.



Figure 14: Résultat sur milieu EVA LITSKY.

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

$$N = \frac{NPP}{V \ ensemenc\acute{e}} \times Fd$$

Avec:

N: Nombre des bactéries dénombrées (UFC/100ml)

Fd: Facteur de dilution

V: Volume

I.5.3. Recherche et dénombrement des spores des Anaérobies Sulfito -Réducteurs

La recherche de *Clostridium Sulfito-Réducteurs* est réalisée selon la méthode par incorporation en milieu gélosé et est basée sur la recherche des formes sporulées. Pour cela, nous avons suivi les étapes suivantes:

- Agiter soigneusement l'eau à analyser.
- Répartir à l'aide d'une pipette graduée stérile 25 ml d'eau dans des tubes stériles à raison de 5 ml par tube.
- ➤ Porter les tubes au bain-marie à 80 °C, pendant 10 min.
- Refroidir immédiatement à l'eau du robinet.
- Faire préalablement fondre 250 ml du milieu viande-foie, ajouter après refroidissement 12,5 ml de la solution de sulfite de sodium à 5%, et 2,5 ml de la solution d'alun de fer à 5%, mélanger sans faire des bulles.
- Couler la gélose viande-foie sulfitée, dans chacun des tubes contenant l'eau traitée.
- Remplir et mélanger doucement sans incorporer d'air.
- ➤ Laisser solidifier sur la paillasse.
- ➤ Incuber à 37°C pendant 48h avec une première lecture à 24h.

Les colonies entourées d'un halo noir sont comptées comme susceptibles de provenir de bactéries anaérobies sporulées sulfito-réductrices. (Figure 15)

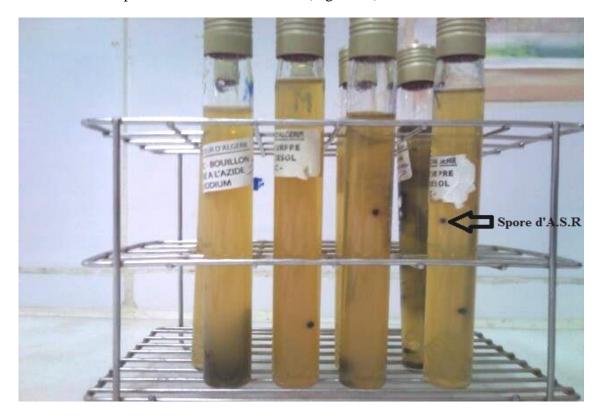


Figure 15 : Lecture des résultats des spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs.

I.5.4. Recherche des Salmonelles

La recherche des Salmonelles se fait en 4 étapes (Voir annexe II : figure 49)

1ère étape : Enrichissement primaire

• Introduire 50 ml d'eau à analyser dans 100 ml de bouillon sélénite-cystéine D/C. la solution obtenue est appelée SFBI, elle est incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

2ème étape : Enrichissement secondaire et isolement

- La solution SFBI incubée la veille fera l'objet d'un deuxième enrichissement sur bouillon sélénite-cystéine en tube (SFBII) à raison de 1 ml par tubes et un isolement sur gélose Hecktoen I.
- L'incubation est réalisée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

3^{ème} étape : Isolement

- Effectuer àpartir du bouillon SFB II un isolement sur gélose Heckoten II
- Prendre ensuite 1 ml du SFB II et l'introduire dans un bouillon sélénite cystéine en tube SFB III, puis l'incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Effectuer la lecture de la boite de gélose Hecktoen.

4ème étape : Lecture et identification

- La boite de gélose Heckoten II incubée la veille fera l'objet d'une lecture.
- Les Salmonelles apparaissent les plus souvent sous formes de colonies grises avec ou sans centre noire. Ces dernières subiront une identification biochimique.

I.5.5. Recherche des Staphylococcus aureus

Isolement:

L'isolement direct est pratiqué sur le milieu sélectif « gélose Chapman au mannitol » préalablement préparée en prêtant attention à ne pas piéger des bulles d'air.

Identification:

L'identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé; les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (la coloration de Gram, catalase et test de coagulase). Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

✓ Examens macroscopiques

Sur le milieu de Chapman, les colonies jaunes entourées d'une zone jaune, mannitol+ sont des *S. aureus*, *S. saprophyticus*...

✓ Examen microscopique : Examen direct après coloration de Gram

La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur milieu Chapman pour confirmer la présence de Cocci en diplocoques et en grappe de raisin.

Les frottis sont observés au microscope optique avec l'objectif à immersion (Objectif ×100).

✓ Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques :

o Catalase

La catalase est une oxydoréductase intervenant dans le mécanisme de résistance à la bactéricide (**CHAALA**, **2013**). Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques. A partir d'un isolement, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée, puis placée sur une lame, on fait réagir la colonie dans une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène) (figure 16), la réaction se fait selon l'équation :

$$H_2O_2$$
 $H_2O + \frac{1}{2}O_2$

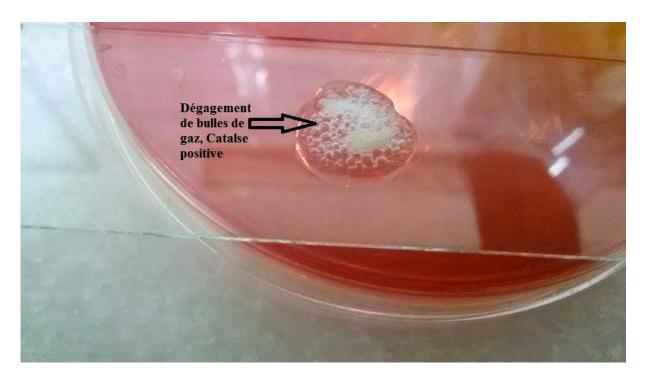


Figure 16: Résultat d'une catalase positive.

✓ Coagulase libre

La coagulase libre est présente chez les *S. aureus*, mais aussi peut être produite par *S. intermedius* ou *S. hyicus*.

La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma humain et 0,5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 h en bouillon BHIB.

Le mélange est placé dans l'étuve à 37°C et est incubé pendant 24 heures. Les souches de *S. aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent les trois premières heures. Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum (figure 17).



Figure 17: Coagulase positive.

I.5.6. Recherche des *Vibrions cholériques* (ISO/TS 21872)

La recherche des vibrions est réalisée en 3 étapes (Voir annexe II: figure 50)

1^{ère} étape : Premier enrichissement

• Réaliser un premier enrichissement sur un milieu Eau Peptonée Alcaline (EPA) 10 fois concentré, auquel on ajoute aseptiquement 450 ml d'eau à analyser puis incuber à 37°C pendant 24 heures.

2ème étape : Deuxième enrichissement et isolement

• Effectuer le deuxième enrichissement sur milieu EPA II en tubes à raison de 1 ml par tubes et un isolement sur GNAB I (Bouillon Nutritif Alcaline Biliée), puis incuber à 37°C pendant 24 heures.

3ème étape : Lecture des boites et identification

- Isoler le tube EPA II sur gélose GNAB II et effectuer une lecture des boites GNAB I.
- Effectuer la lecture de la boite de gélose GNAB II, tout en sachant que les Vibrions se présentent le plus souvent sous formes de colonies lisses et transparentes.

I.5.7. Recherche des Pseudomonas aeruginosa

Isolement:

Agiter soigneusement l'eau à analyser, étaler 0,5 ml d'eau à la surface de la gélose au cétrimide. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture:

Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* ont un diamètre de 1,5 à 2 mm, un contour circulaire, une surface lisse et brillante, une couleur blanc crème, un aspect muqueux et sont parfois déjà accompagnées d'une production de pigment bleu-vert (pyocyanine) qui commence à diffuser avec émission de flurorescence sous U.V

Confirmation:

Pour la confirmation de *Pseudomonas aeruginosa* procéder à la recherche des pigments spécifiques sur les milieux King A et King B.

Ensemencer les deux milieux King A et King B en faisant une strie médiane à la surface de la gélose. Fermer les tubes sans serrer et incuber à 37°C pendant 1 à 4 jours.

Lecture:

La présence de pigments diffusibles se traduit par l'apparition de couleur qui peut diffuser sur toute la pente.

Sur le milieu King A : les colonies typiques sur ce milieu sont colorées en bleu-vert, parfois en brun-rose (pyorubine). La pyocyanine est extraite par le chloroforme.

On Verse 0.5 ml de chloroforme sur la culture et on laisse 10 à 15 min, en position inclinée : la pyocyanine très soluble dans la chloroforme, la colore en bleu.

Sur le milieu King B : la production de pyoverdine se manifeste par une coloration jaune-verte, avec une fluorescence observée au U.V à 340 n.m. Ce pigment est insoluble dans le chloroforme.

I.6. Identification biochimique des bactéries

a) Galerie biochimique classique

L'indentification sur galerie classique de bactérie met en évidence la fermentation des sucres avec ou sans dégagement de gaz, production d'H₂S et d'autres caractéristiques biochimiques (Figure 18)

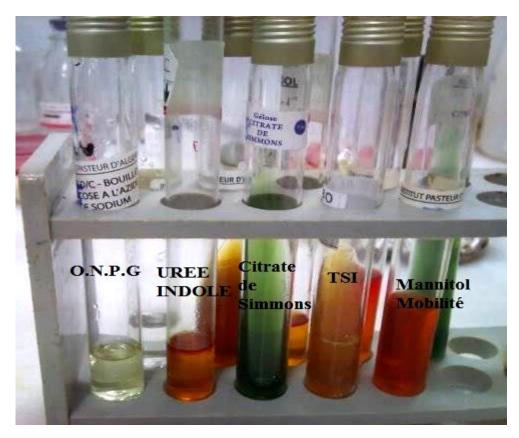


Figure 18: Galerie classique d'identification biochimique.

Le protocole est le suivant :

Ensemencer quelques gouttes de la suspension bactérienne suspecte sur les milieux suivant :

- **♣** Gélose TSI (Triple Sugar Iron)
- **♣** Agar citrate de Simmons
- Mannitol mobilité
- ♣ Urée Indole
- **♣** ONPG (Ortho-Nitro-Galactosidase)

b) Galerie biochimique miniaturisé (Api 20E)

Api 20E est un système standardisé pour l'identification des *Entérobactérianceae* et autres bacilles à Gram négatif, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés.

La galerie Api 20E sera ensemencée en remplissant les microcupules par la suspension bactérienne à tester.

- ✓ Pour les tests CIT, VP et GEL remplir tubes et cupules.
- ✓ Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- ✓ Pour les tests : <u>ADH</u>, <u>LDC</u>, <u>ODC</u>, <u>H₂S</u>, <u>URE</u> créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de vaseline. Refermer la boite est incubée 24 heures à 37°C. (figure 19)



Figure 19 : Galerie Api 20E ensemencée.

I.7. Antibiogramme

C'est l'étude de la sensibilité d'un germe vis-à-vis des différents antibiotiques, afin de surveiller la résistance de ce dernier et mettre en évidence les bactéries multirésistantes.

o Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé de façon à obtenir après incubation des colonies juste confluentes; il est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures (phase stationnaire) sur gélose non inhibitrice.

Prélever au moins trois colonies de la bactérie et émulsionner dans 5 ml de l'eau physiologique stérile.

o Ensemencement

L'ensemencement se fait par la méthode de de Kirby-Bauer par écouvillonnage.

- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.
- ➤ Ensemencer la boîte de Mueller-Hinton dont l'épaisseur de la gélose est de 4mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60°C afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 minutes.

o Application des disques et incubation

- Appliquer les disques d'antibiotiques : Amoxicilline + acide clavulanique (AMC 30) (30 μg), Acide fusidique (FA10) (10μg), Ampiciline (AM10) (10μg), Amoxicilline (AX25) (25μg), Cefazoline (CZ30) (30ug), Cefotaxime (CTX30) (30μg), Chloramphénicol (C30) (30μg), Erythromycine (E15) (15μg), Imipenème (IMP10) (10μg), Kanamycin (K30) (30μg), Lincomycine (L2) (2μg), Métronidazole (MT5) (5μg), Oxacilline (OX5) (5μg), Pénicilline (P10) (10μg), Vancomycin (VA30) (30μg), Tobramycine (TOB10) (10μg), Ofloxacine (OFX5) (5μg), Colistine (CT25) (25μg), Ticarcilline + acide clavulanique (TCC85) (85μg) à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement.
- ➤ Incuber à 37°C pendant 16 à 18h.

Lecture

Pour chaque antibiotique : mesurer le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle au revers de la gélose (figure 20), et reporter cette mesure sur l'échelle de concordance correspondante et indiquer si la bactérie est sensible, intermédiaire ou résistante, selon la standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale (RAHAL et al., 2008).

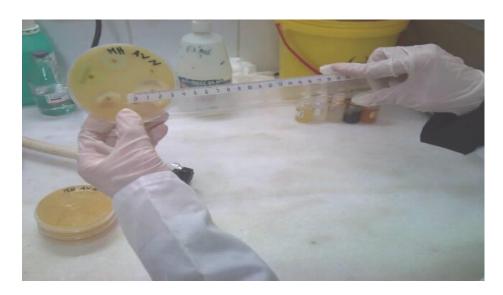


Figure 20 : Lecture de l'antibiogramme.

I.8. Souches de référence

Nous nous sommes référés aux souches de référence provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie qui sont les suivantes :

- Escherichia coli ATCC25922
- Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
- > Staphyococcus aureus ATCC 6538

I.9. Indice MAR (Multiple Antibiotic Resistance)

L'indice MAR a été recommandé par Krumperman (1983) dans le but d'évaluer le risqué 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 supérieurs à 0,2 ; elles indiquent une source de risque élevé de contamination où les antibiotiques sont souvent utilisés.

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

$$Indice\,MAR = \frac{c}{d} \times e$$

c : nombre d'antibiotiques pour le quel tous les isolats sont résistants

d : nombre des isolats présents dans le site

e : nombre des antibiotiques testés

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

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

I.10. Analyse statistique

Dans cette étude, nous avons utilisé Excel 2010 pour calculer la moyenne et l'écart type $(M\pm EC)$ des paramètres étudiés.

Les formules utilisées sont :

• Moyenne : $X = \sum xi / n$

L'écart type est un paramètre statistique qui permet d'apprécier la dispersion des variables autour de la moyenne de l'échantillon.

• Ecart type : $(\Sigma (xi - X) / n)^{1/2}$

Avec: X: Moyenne.

xi: Les effectifs.

n: nombre des effectifs.

II. Résultats et discussion

Cette étude a été réalisé durant une période s'étalant de la fin de Janvier jusqu'au début du mois de Mai 2016 au laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

Au total, nous avons effectué 32 prélèvements à partir des eaux provenant de deux sites de l'oued Beni Aza et à partir des eaux de la station d'épuration de Chenoua (avant et après épuration), d'une fréquence de 8 échantillons pour chaque site.

II.1. Résultats des analyses bactériologiques

Les résultats des analyses bactériologiques des eaux échantillonnées provenant de l'oued Beni Aza et de la STEP de Chenoua sont consignés dans les Tableaux XXXV et XXXVI (Voir annexe III), et seront comparés aux normes de l'OMS (2006) et de celles du JORA (2009) et (2011).

Bactéries indicateurs de contamination fécale

✓ Coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes totaux est présenté dans le tableau suivant :

Tableau IV: Résultats des coliformes totaux

	Germe	CT	CT
	Date de prélèvements / sites	Site 1	Site 2
	20/01/2016	1,8×10 ⁶ UFC/100ml	1,8×10 ⁶ UFC/100ml
Oued	03/02/2016	1,8×10 ⁶ UFC/100ml	1,8×10 ⁶ UFC/100ml
	21/02/2016	5×10 ⁵ UFC/100ml	5×10 ⁵ UFC/100ml
Beni	06/03/2016	1,1×10 ⁶ UFC/100ml	$1,4\times10^{6} \text{ UFC}/100\text{ml}$
	20/03/2016	8×10 ⁵ UFC/100ml	1,8×10 ⁶ UFC/100ml
Aza	03/04/2016	7×10 ⁵ UFC/100ml	9×10 ⁵ UFC/100ml
	17/04/2016	1×10 ⁶ UFC/100ml	1,8×10 ⁶ UFC/100ml
	02/05/2016	1,8×10 ⁶ UFC/100ml	1,8×10 ⁶ UFC/100ml
	Moyenne ± Ecart type	1187500± 101,93	1475000±1136,05
	N7	= 0000	
	Norme JORA 2009	50000	
	Norme JORA 2009	Eaux brutes	Eaux épurées
	18/01/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml	Eaux épurées 1,8×10 ⁴ UFC/100ml
		Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml
STEP	18/01/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 7×10 ⁴ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml 5×10 ³ UFC/100ml
STEP	18/01/2016 07/02/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml
STEP	18/01/2016 07/02/2016 22/02/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 7×10 ⁴ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml 5×10 ³ UFC/100ml 1×10 ⁴ UFC/100ml 1,4×10 ⁴ UFC/100ml
STEP Chenoua	18/01/2016 07/02/2016 22/02/2016 06/03/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 7×10 ⁴ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 5×10 ⁴ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml 5×10 ³ UFC/100ml 1×10 ⁴ UFC/100ml 1,4×10 ⁴ UFC/100ml 1×10 ³ UFC/100ml
	18/01/2016 07/02/2016 22/02/2016 06/03/2016 21/03/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 7×10 ⁴ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml 5×10 ³ UFC/100ml 1×10 ⁴ UFC/100ml 1,4×10 ⁴ UFC/100ml 1×10 ³ UFC/100ml 1,1×10 ⁴ UFC/100ml
	18/01/2016 07/02/2016 22/02/2016 06/03/2016 21/03/2016 03/04/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 7×10 ⁴ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 5×10 ⁴ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml 5×10 ³ UFC/100ml 1×10 ⁴ UFC/100ml 1,4×10 ⁴ UFC/100ml 1×10 ³ UFC/100ml
	18/01/2016 07/02/2016 22/02/2016 06/03/2016 21/03/2016 03/04/2016 17/04/2016	Eaux brutes 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 1,8×10 ⁵ UFC/100ml 7×10 ⁴ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml 5×10 ⁴ UFC/100ml 1,2×10 ⁵ UFC/100ml	1,8×10 ⁴ UFC/100ml 1,8×10 UFC/100ml 5×10 ³ UFC/100ml 1×10 ⁴ UFC/100ml 1,4×10 ⁴ UFC/100ml 1×10 ³ UFC/100ml 1,1×10 ⁴ UFC/100ml

D'après le tableau IV, le nombre des coliformes totaux présents dans les eaux du site 1 et 2 de l'oued Beni Aza est compris entre 5×10^5 et 1.8×10^6 UFC/100ml, avec une moyenne de $1187500\pm1019,34415$ UFC/100 ml pour le site 1, et une moyenne de $1475000\pm1136,05$ UFC/100ml pour le site 2

Pour les eaux brutes de la STEP, ce nombre varie entre 5×10^4 et 1.8×10^5 UFC/100ml avec une moyenne de $120000 \pm 324,03$ UFC/100ml. Par contre, pour les eaux épurées, le nombre varie entre 1×10^3 et 1.8×10^4 UFC/100ml avec une moyenne de $11875 \pm 101,93$ UFC/100ml.

Les coliformes totaux sont utilisées depuis longtemps comme indicateur de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale (CHEVALIER, 2003).

Pour l'oued, les concentrations élevées en coliformes totaux avec une augmentation importante observée durant le premier et le second prélèvement peuvent être due aux faibles précipitations qui ont marqué cette période d'échantillonnage. Ces concentrations sont nettement supérieures à la norme du **JORA** (2009) (50000UFC/100ml).

Pour la STEP, les valeurs obtenues pour les eaux sont similaires à celles de **SATIN** et **SELMI (1999)**. Dans leur travaux, ces auteurs constatent que le nombre des coliformes totaux dans les eaux usées varient entre 770 x 10³ et 200x 10⁶ germes/100ml. Tandis que pour les eaux épurées, nous avons noté une diminution de leur nombre en relation avec les différentes étapes de traitement des eaux.

✓ Coliformes Fécaux

Le dénombrement des coliformes fécaux est présenté dans le tableau suivant :

CF CF Germe Date de prélèvements / sites Site1 Site2 20/01/2016 $1,1\times10^{6}$ UFC/100ml 1×10^5 UFC/100ml 03/02/2016 5×10⁵ UFC/100ml $7 \times 10^5 \text{ UFC}/100 \text{ml}$ **Oued** 1×10⁵ UFC/100ml $1 \times 10^5 \text{ UFC/}100\text{ml}$ 21/02/2016 06/03/2016 1×10^5 UFC/100ml 0 Beni 20/03/2016 0 0 $2 \times 10^5 \, \text{UFC/100ml}$ 0 03/04/2016 Aza 2×10⁵ UFC/100ml 1×10^5 UFC/100ml 17/04/2016 $1.1 \times 10^6 \text{ UFC}/100 \text{ml}$ 02/05/2016 1475000± 467,70 287500± 501,56 **Moyenne** ± **Ecart type** Norme JORA 2011 20000 **Eaux Brutes** Eaux Epurées 18/01/2016 3×10⁴ UFC/100ml $2 \times 10^3 \text{ UFC}/100 \text{ml}$ $1 \times 10^4 \text{ UFC/}100\text{ml}$ $1 \times 10^3 \text{ UFC/100ml}$ 07/02/2016 **STEP** 22/02/2016 0 0 4×10⁴ UFC/100ml $1 \times 10^3 \text{ UFC}/100 \text{ml}$ 06/03/2016

Tableau V: Résultats des coliformes fécaux

	21/03/2016	1× 10 ⁴ UFC/100ml	0
Chenoua	03/04/2016	$1 \times 10^4 \text{ UFC}/100 \text{ml}$	0
	17/04/2016	1× 10 ⁵ UFC/100ml	0
	02/05/2016	0	4× 10 ⁵ UFC/100ml
	Moyenne ± Ecart type	25000± 147,90	1000± 29,58
	Norme OMS (2006)	-	$10-10^6$

Les concentrations des eaux de l'oued en coliformes fécaux sont comprises entre 0 et $1,1 \times 10^6$ UFC/100ml pour les deux sites échantillonnés avec une moyenne de $250000\pm 467,70$ UFC/100ml pour le site 1 et une moyenne de $287500\pm 501,56$ UFC/100ml pour le site 2.

Pour la STEP de Chenoua, on note l'absence totale d'E. coli dans les eaux brutes et épurées pour le troisième et le septième prélèvement. Tandis que pour les autres prélèvements (P1, P2, P4 et P8), nous avons constaté la présence de ces microorganismes avec des valeurs oscillant entre 1×10^4 et 1×10^5 UFC/100ml pour les eaux brutes et entre 1×10^3 et 4×10^3 UFC/100 ml pour les eaux épurées.

Parmi les coliformes fécaux, *E. coli* est la seule bactérie qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et, à ce titre, est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale. *E. coli* peut survivre jusqu'à trois mois dans une eau naturelle non traitée (**EDBERG** et *al.*, 2000)

D'après **RODIER et** *al.*, (2005), la plupart de ces contaminations permanentes proviennent des rejets d'eaux usées urbaines dont la concentration en coliformes fécaux est relativement constante et de l'ordre de 10⁶ à 10⁷ par 100ml. La présence des *Escherichia coli* dans tous les sites d'étude témoigne d'une pollution fécale, dans la mesure où toutes les bactéries de ce groupe sont d'origine fécale (BAROUR et *al.*, 2012).

SIMMONS et *al.*, (2001) , font ainsi état d'une corrélation entre la présence d'entérocoques et *d'E.coli* dans une eau non traitée.

✓ Streptocoques fécaux

Le tableau suivant présente l'ensemble des résultats obtenus pour le dénombrement des streptocoques fécaux :

	Germe	SF	SF
	Date de prélèvements / sites	Site1	Site2
	20/01/2016	1,8×10 ⁶ UFC/100ml	$1.8 \times 10^6 \text{ UFC} / 100 \text{ml}$
Oued	03/02/2016	1,8×10 ⁶ UFC/100ml	1,8×10 ⁶ UFC/100ml
	21/02/2016	1×10 ⁶ UFC/100ml	$1,4\times10^6 \text{ UFC}/100\text{ml}$
Beni	06/03/2016	1,2×10 ⁶ UFC/100ml	1,8×10 ⁶ UFC/100ml
	20/03/2016	5×10 ⁵ UFC/100ml	8×10 ⁵ UFC/100ml
Aza	03/04/2016	5×10 ⁵ UFC/100ml	$1,8 \times 10^6 \text{ UFC}/100 \text{ml}$
	17/04/2016	1×10 ⁶ UFC/100ml	$1,8 \times 10^6 \text{ UFC}/100 \text{ml}$
	02/05/2016	0	7×10 ⁵ UFC/100ml

Tableau VI: Résultats des Streptocoques fécaux

	Moyenne ± Ecart type	862500± 868,72	1487500± 1140,86			
	Norme JORA 2011	10000				
		Eaux brutes	Eaux épurées			
	18/01/2016	$1,8 \times 10^5 \text{UFC}/100 \text{ml}$	$1,8 \times 10^4 \text{ UFC}/100 \text{ml}$			
	07/02/2016	$1,8 \times 10^5 \text{UFC}/100 \text{ml}$	$1,8 \times 10^4 \text{ UFC}/100 \text{ml}$			
	22/02/2016	$1.8 \times 10^5 \text{UFC} / 100 \text{ml}$	1×10^3 UFC/100ml			
STEP	06/03/2016	$1,1\times10^{5}$ UFC/100ml	5×10 ³ UFC/100ml			
	21/03/2016	1,4×10 ⁵ UFC/100ml	7×10 ³ UFC/100ml			
Chenoua	03/04/2016	1,8×10 ⁵ UFC/100ml	3×10^3 UFC/100ml			
	17/04/2016	1,8×10 ⁵ UFC/100ml	1×10^3 UFC/100ml			
	02/05/2016	1,8×10 ⁵ UFC/100ml	3×10^3 UFC/100ml			
	Moyenne ±Ecart type	166250± 381,40	$7000 \pm 78,\!26$			
	Norme OMS 2006	-	10- 10 ⁵			

Dans le cas des eaux de l'oued, les charges en streptocoques fécaux varient entre 0 et 1.8×10^6 UFC/100 ml pour le site 1 et entre 7×10^5 et 1.8×10^6 UFC/100ml pour le site 2.

Dans le cas des effluents de la STEP, la teneur en streptocoques fécaux varient entre $1,1\times10^5$ et $1,8\times10^5$ UFC/100 ml pour les eaux usées brutes et entre 1×10^3 et $1,8\times10^4$ UFC/100 ml pour les eaux épurées.

Les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans le site 2 de l'oued Beni Aza et dans l'eau usée brute de la STEP

Ces concentrations élevées en streptocoques fécaux sont dues à la dessiccation et leur capacité à persister plus longtemps dans l'eau (GLEESON et GRAY, 1997).

Les streptocoques fécaux sont communément utilisés pour identifier une pollution d'origine fécale. Leur prolifération est due au déversement des matières organiques et des substances nutritives azotées (RODIER et al., 1984).

Anaérobies Sulfito Réducteurs (ASR)

Les spores d'Anaérobies Sulfito Réducteurs sont extrêmement persistantes dans l'environnement et résistantes au processus de désinfection de l'eau. Par conséquent, leur valeur comme indicateur de contamination fécale a été mise en doute car les spores pourraient se trouver naturellement dans l'environnement. (PITKANEN, 2010).

Les résultats de la recherche et du dénombrement des ASR dans les eaux de l'oued ont montré que le nombre de spores varie entre 0 et 10×10^4 spores /20ml pour le site 1, et entre 0 à 18×10^4 spores /20 ml pour le site 2, avec une absence totale durant le cinquième et le septième prélèvement (figure 21).

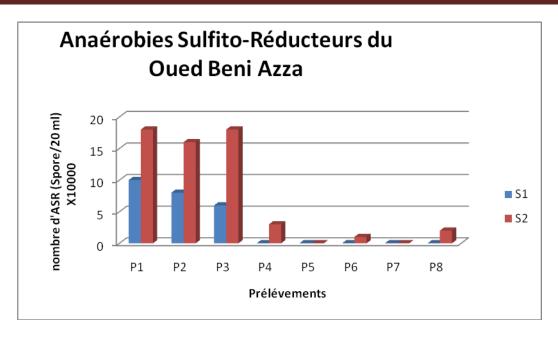


Figure 21: Variation des ASR dans les eaux de l'oued

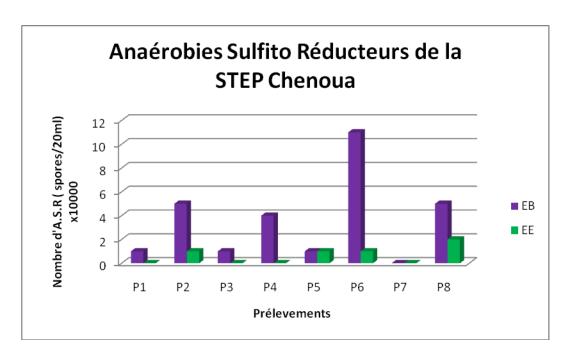


Figure 22 : Variation des ASR dans les effluents bruts et traités de la STEP

En revanche, on note que pour les eaux brutes de la STEP de Chenoua, une valeur minimale de 0 spores/20ml et une valeur maximale de 11 x 10^4 spores/20ml avec une moyenne de 35000 ± 175 spores/20 ml. Tandis que pour les eaux épurées, les résultats varient entre 0 et 2 x 10^4 spores/20ml avec une moyenne de $6250 \pm 73,95$ spores/20 ml (Figure 22).

Les résultats des Anaérobies - Sulfito-Réducteurs ne sont pas conformes à la norme de l'**OMS** (2006) et à celle du **JORA** (2011) qui exigent une absence totale d'ASR.

El HAISSOUFI et al., (2011), signalent que ces bactéries sont souvent considérées comme des témoins de pollution fécale.

Germes pathogènes

L'isolement des bactéries pathogènes issues de la station n° 1 de l'oued Beni Aza, a révélé une présence de *Pseudomonas aeruginosa*, et une absence totale de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholerae* (Tableau VII).

Tableau VII : Nombre des bactéries pathogènes isolées à partir de la station n° 1 de l'oued

Germes pathogènes
Salmonella (n=0)
Vibrio cholerae (n=0)
Staphylococcus aureus (n=0)
Pseudomonas aeruginosa (n=2)

Par contre, à la station 2, les eaux révèlent une présence de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* suivie par *Salmonella* et une absence totale de *Vibrio* (Tableau VIII).

Tableau VIII : Nombre des bactéries pathogènes isolées à partir de la station n° 2 de l'oued

Germes pathogènes
Salmonella (n=1)
Vibrio cholerae (n=0)
Staphylococcus aureus (n=2)
Pseudomonas aeruginosa (n=2)

L'isolement des bactéries pathogènes issues de la STEP de Chenoua a révélé une présence de *Salmonella*, et absence de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio* pour effluents bruts (Tableau IX).

Nous avons noté leur absence dans les eaux épurées de la STEP

Tableau IX : Nombre des bactéries pathogènes isolées à partir des eaux usées brutes de la STEP

Germes pathogènes
Salmonella (n=1)
Vibrio cholerae (n=0)
Staphylococcus aureus (n=0)
Pseudomonas aeruginosa(n=0)

D'après **RODIER et al., (2009)**, il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'Homme dans tous les types d'eaux, tels que les *Pseudomonas, Salomenlla, Shigella*, Staphylocoques pathogènes ,*Vibrio, Yersinia enterolitica...*, Celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement.

D'après **LELOIR ET GUATIER (2010),** *S. aureus* serait capable de survire dans l'eau pendant plusieurs mois, pourvu qu'il dispose d'un minimum de nutriments. Par ailleurs, la détection occasionnelle de différentes espèces de *Staphylococcus* est due aux caractéristiques de ce genre bactérien très répandu dans la nature.

En effet, les staphylocoques arrivent à proliférer grâce à leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, telles que la chaleur et la sécheresse (AIT HAMLET, 1998).

TRAD RAIS et al., (1989) indiquent que la présence des Salmonelles dans les eaux usées est très faible. Cependant, **ALOUINI**, (1993) mentionne que les risques épidémiologiques des agents pathogènes comme la salmonelle et le *vibrio cholerae* sont nuls, seuls les risques liés aux coliformes fécaux et streptocoques fécaux sont latents.

II.2 Identification des souches d'entérobactéries isolées des eaux des différents sites de prélèvement

✓ Examen macroscopique

L'examen macroscopique des colonies est présenté dans le tableau suivant :

Tableau X: Examen macroscopique des colonies suspectes

Colonies suspectes	Forme	Relief	Couleur et / ou pigmentation
CS1 (n=2)	ronde	surélevée	Noire
CS2 (n=1)	ronde	bombée	Rouge
CS3 (n=4)	ronde	bombée	orange
CS4 (n=1)	ronde	bombée	jaune
CS5 (n=2)	ronde	plat	verte
CS6 (n=3)	ronde	bombée	saumon
CS7 (n=2)	irrégulier	plat	orange
CS8 (n=1)	ronde	plat	jaune
CS9 (n=3)	ronde	bombée	orange à centre noire
CS10 (n=1)	ronde	plat	verte
CS11 (n=2)	ronde	plat	noire
CS12 (n=5)	irrégulier	plat	orange
CS13 (n=1)	ronde	bombée	orange
CS14 (n=1)	ronde	plat	noire
CS 15(n=2)	irrégulier	plat	Saumon
CS 16(n=4)	ronde	bombée	Saumon

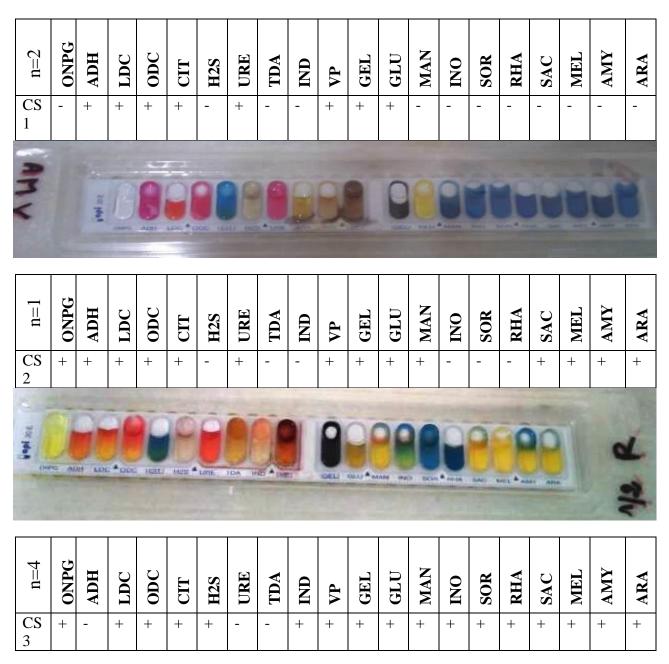
CS: Colonie suspecte

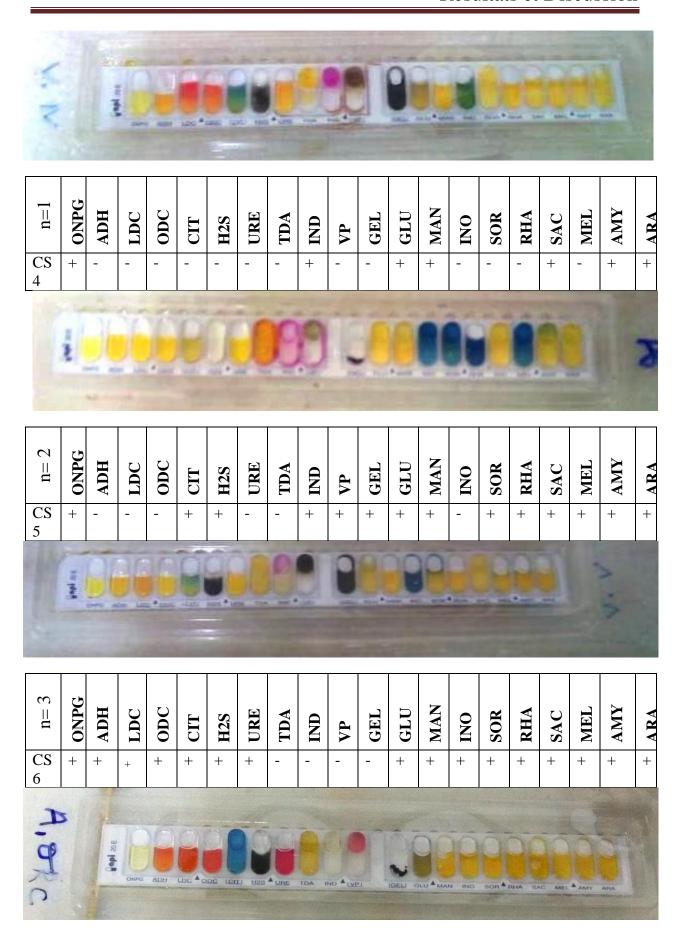
✓ Galerie Api 20E

Les souches ont été identifiées au moyen de la galerie Api 20E (Bio - Mérieux), nous avons réussi à identifier 29 souches bactériennes. Les 6 autres souches (CS 15 et CS 16) ont été identifiées par le biais de la mini galerie classique.

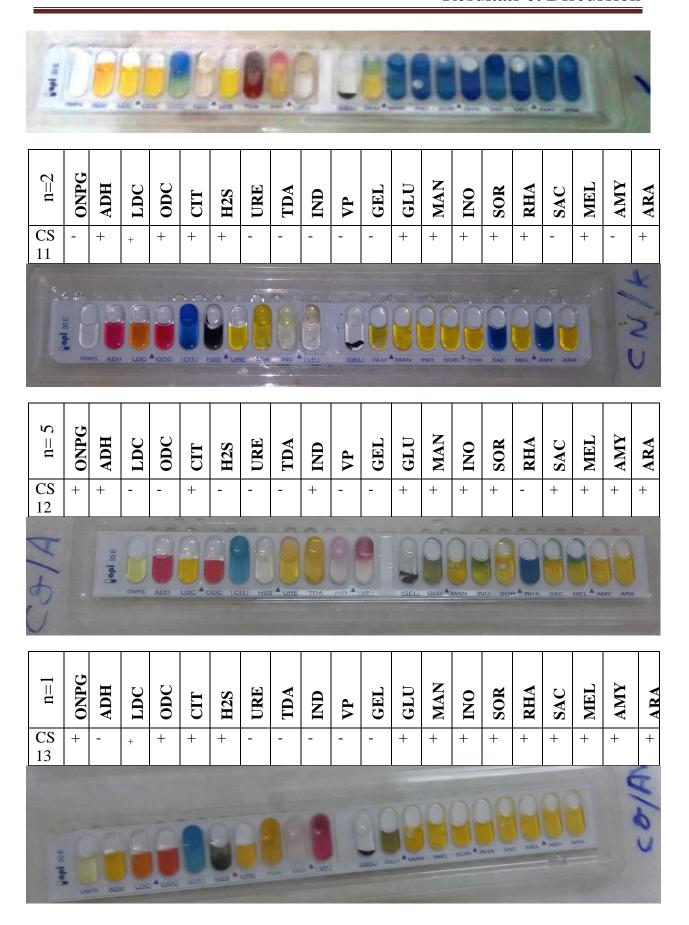
Les résultats de l'identification des *Enterobacteriaceae* par la galerie Api 20E sont présentés par le tableau suivant :

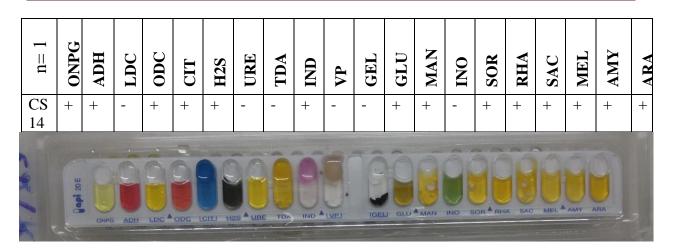
Tableau XI: Illustration de l'identification par galerie Api 20E des espèces d'entérobactéries





Z=u CS 7	+ ONPG	+ ADH	LDC	ODC	+ CIT	+ H2S	+ URE	+ TDA	IND	+ $	+ GEL	H GLU	+ MAN	ONI +	+ SOR	+ RHA	+ SAC	+ MEL	+ AMY	+ ARA
A K P		88 E	ONPC	adh	LDC	ODC LC	H2S	A URE	IDA.	IND ALV	P	GELI G	SLU AMA	N INO	SORA	RHA S/	AC MEL	AMY	ARIA	
CS 8	+ ONPG	+ ADH	LDC -	+ ODC	CIT	H2S	URE	TDA	+ IND	γ Λ P	GEL	r GLU	+ MAN	ONI	+ SOR	+ RHA	SAC	+ MEL	+ AMY	+ ARA
	The same		9					9	8	100	3								0 4	
CS 9	+ ONPG	+ ADH	LDC '	ODC	+ CIT	+ H2S	URE	' TDA	+ IND	' VP	GEL	H GLU	+ MAN	ONI	+ SOR	+ RHA	+ SAC	+ MEL	+ AMY	+ ARA
	Unp 20E	PG AD) G	A one	B	H2S A U	RE TO	G IND	LVP		er) grn	A _{MAN}	J s	OR A RH	A SAC	MEL.	AMY A	RA	1/1/	CNI
CS 10	ONPG	ADH	LDC	ODC	+ CIT	H2S	URE	+ TDA	+ IND	VP	GEL	H GLU	MAN	ONI	SOR	RHA	SAC	' MEL	AMY	' ARA

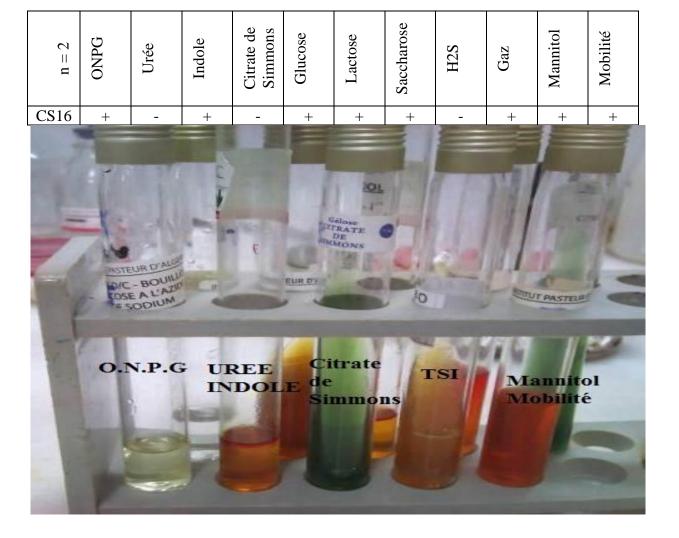


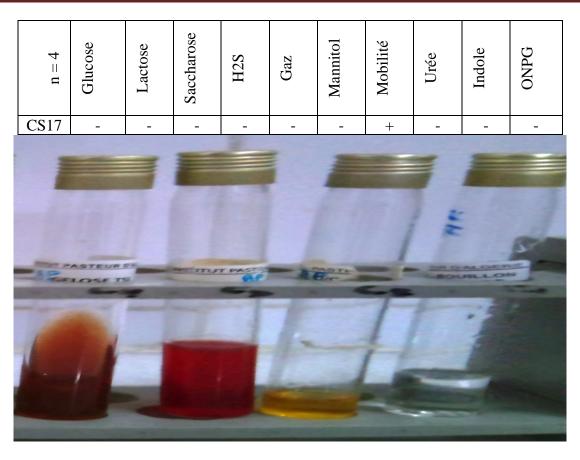


✓ La galerie biochimique classique

Les résultats de l'identification des *Enterobacteriaceae* CS 15 (n=2) et CS 16 (n=4) sont présentés par le tableau suivant :

Tableau XII : Illustration de l'identification par la galerie biochimique classique des espèces d'Entérobactéries.





Le tableau suivant présente les entérobactéries identifiées dans les différents échantillons d'eaux prélevés à partir des 4 sites étudiés, soit 32 prélèvements.

Tableau XIII: Espèces identifiées

	Souches identifiées
CS1 (n=2)	Proteus mirabilis
CS2 (n=1)	Serratia marsescens
CS3 (n=4)	Serratia odorifera1
CS4 (n=1)	Pantoea spp1
CS5 (n=2)	Pantoea spp2
CS6 (n=3)	Klebsiella ornithinolytica
CS7 (n=2)	Klebsiella pneumoniae
CS8 (n=1)	Enterobacter amnigenus
CS9 (n=3)	Citrobacter freundii
CS10 (n=1)	Providencia alcalifaciens
	rustigianii
CS11 (n=2)	Salmonella spp
CS12 (n=5)	Enterobacter sakazakii
CS13 (n=1)	Serratia fonticola
CS14 (n=1)	Citrobacter braakii
CS 15 (n=2)	Escherichia coli
CS 16 (n=4)	Klebsiella spp

II.3. Répartition des entérobactéries détectées selon les sites de prélèvement

L'étude de la répartition des souches d'entérobactéries identifiées varie selon les sites de prélèvement. Parmi ces entérobactéries, 8 souches (50 %) proviennent des sites S1 et S2 de l'oued Beni Aza (figure 23), 11 (55 %) des eaux usées brutes et 9 souches (45%) des eaux épurées de la station d'épuration de Chenoua (Figure 24).

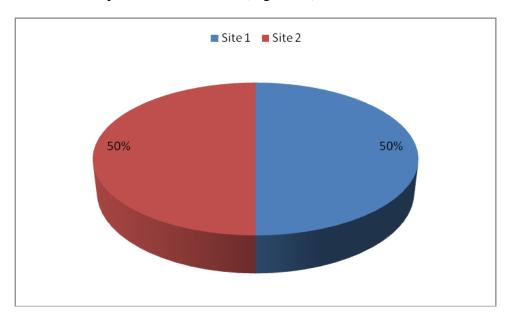


Figure23 : Répartition des Entérobactéries détectées dans les eaux des deux sites de prélèvements de l'oued Beni Aza.

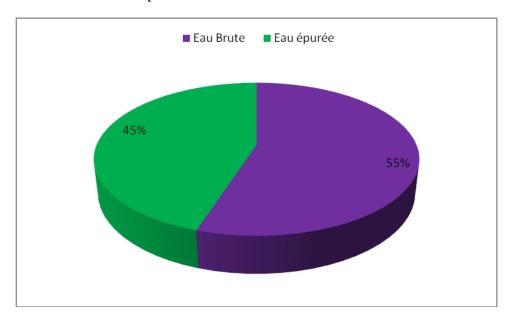


Figure 24 : Répartition des Entérobactéries détectées dans les effluents deux sites de prélèvements au niveau de la STEP

II.4. Distribution de l'ensemble des entérobactéries

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries identifiées dans chaque site d'étude, a montré :

Dans l'oued : une prédominance d'*Enterobacter sakazakii* et de *Klebsiella spp* avec 3 souches (20 %), suivie par *Proteus mirabilis* 2 souches (13,33%), *Salmonella spp*1 souche (6,67 %), Pantoea *spp*21 souche (6,67%), Citrobacter *braakii* 1 souche (6,67%), *Serratia odoriferaI* 1 souche (6,67%), *Serratia marsescens* 1 souche (6,67%), *E.coli* 1 souche (6,67%) et *Citrobacter freundii* 1 souche (6,67%) (Figure 25).

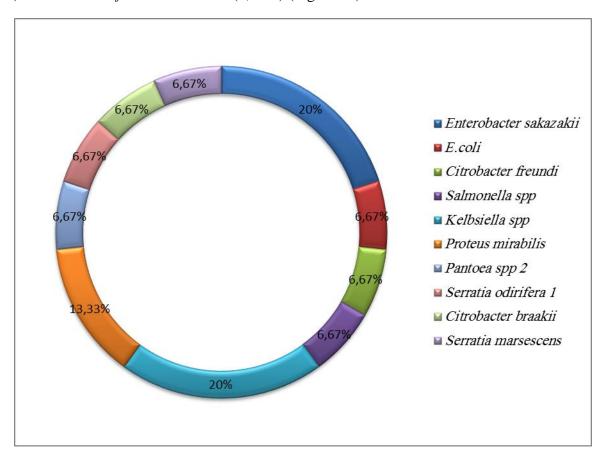


Figure 25 : Répartition de l'ensemble des espèces d'Entérobactéries des eaux échantillonnées à partir de l'oued Beni Aza.

Cette répartition en fonction des taux est presque similaire à celle rapportée par (**MERVAT** et *al.*, **2012**) pour le genre *Proteus* (11,7%) et l'espèce *Citrobacter freundii* (8,4%), dans le Delta du Nil.

■ Dans les eaux usées de la STEP de Chenoua : les espèces Serratia odiriferal et Klebsiella ornithinolytica sont représentées par 3 souches (15%), suivie de Citrobacter freundii, Klebsiella pneumpniae et Enterobacter sakazakii 2 souches (10%), Klebsiella spp 1 souche (5%), 1 souche d'Enterobacter amnigenus2 (5%), 1 souche de Providencia alcalifaciens rustiginanii (5 %), 1 souche de Salmonella spp (5%), Serratia fonticola 1 souche (5%) et 1 souche d'E.coli (5%) ont été identifiées.

Le genre *Pantoea* est représenté par deux espèces, *Pantoea ssp*1 avec une souche (5%) et *Pantoea ssp*2 une souche (5 %) (Figure 26).

Dans cette étude, *Klebsiella spp* était beaucoup plus isolée dans les stations d'épuration. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par (**FELEKE et** *al.*, **2014**) au niveau de la STEP en Ethiopie, mais avec un pourcentage de 26,6%.

Pour *Citrobacter freundii* a été isolé avec un taux de 10%, ce résultat est similaire avec celui de **(FELEKE et al., 2014)** (11,5%).

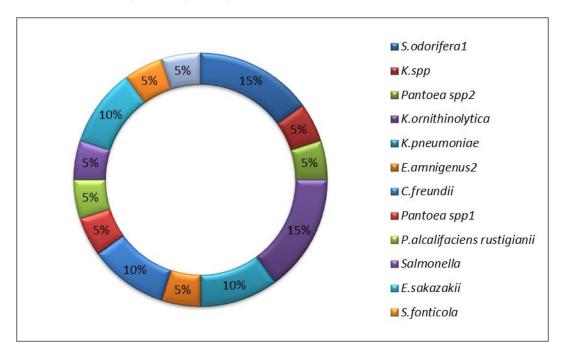


Figure 26 : Répartition de l'ensemble des espèces d'Entérobactéries issues des effluents bruts et traités de la STEP

Le tableau suivant récapitule l'ensemble des entérobactéries trouvées à chacun des sites échantillonnés :

Tableau XIV : Tableau récapitulatif

		Oued		STEP	
Espèces	nombre	Site 1	Site 2	Eaux brutes	Eaux épurées
Proteus	n = 2	+	+	-	-
mirabilis					
Serratia	n = 1	+	-	-	-
marsescens					
Serratia	n = 4	+	-	++	+
odorifera1					
Pantoea spp1	n = 1	-	-	-	+
Pantoea spp2	n = 2	+	-	+	-
Klebsiella	n = 3	-	-	++	+
ornithinolytica					
Klebsiella	n = 2	-	-	++	-

pneumoniae					
Enterobacter amnigenus	n = 1	-	-	+	-
Citrobacter freundii	n = 3	-	+	+	+
Providencia alcalifaciens rustigianii	n = 1	-	-	+	-
Salmonella spp	n = 2	-	+	+	-
Enterobacter sakazakii	n= 5	+	++	-	++
Serratia fonticola	n = 1	-	-	+	-
Citrobacter braakii	n = 1	+	-	-	-
Escherichia coli	n = 2	-	+	+	-
Klebsiella spp	n = 4	++	+	-	+

(+): Présence, (-): Absence.

II.5. Antibiogramme

Durant cette étude, nous avons effectué des antibiogrammes pour les différentes souches identifiées afin de déterminer sa sensibilité vis-à-vis de 19 antibiotiques : 9 bétalactamines, deux aminosides, deux macrolides, un phénicole, un quinolone et autres (Voir Tableau XXX) (Annexe II).

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur gélose Muller-Hinton et interprété après la mesure des diamètres d'inhibition selon la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (**RAHAL** et *al.*, 2008).

II.5.1.Résistances des Entérobactéries aux antibiotiques testés

Résistance de *Proteus mirabilis*

Dans les deux sites de prélèvements (site 1 et site 2 de l'oued Beni Aza), les isolats de *Proteus mirabilis* montrent des taux de résistance très élevé (100%) vis-à-vis de l'Ampicilline, Céfazoline, Pénicilline, Acide fusidique, Métronidazole, Kanamycine, Amoxicilline + Acide clavulanique, Oxacilline, Vancomycine, Lincomycine et Amoxicilline (Tableau XV).

Un taux moyen de résistance a été révélé (50%) pour l'Erythromycine.

Par contre la Colistine, la Céfotaxime, l'Ofloxacine, le Chloramphénicol, l'Imipenème, la Tobramycine sont très actifs et inhibent la croissance des isolats de *Proteus mirabilis*.

Tableau XV : Pourcentage de *Proteus mirabilis* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site (n=2).

Famille	ATB %	Oued Beni Aza	Oued Beni Aza
		Site 1	Site 2
	AM	100	100
	CZ	100	100
	P	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100
	CTX	0	0
	OX	100	100
	AX	100	100
	IMP	0	0
Aminosides	K	100	100
	TOB	0	0
Quinolones	OFX	0	0
Phénicoles	С	0	0
Macrolides	Е	100	0
	L	100	100
	VA	100	100
Autres	FA	100	100
	MT	100	100
Polypeptides	CT	0	0

Résistance de Serratia marcescens

La souche de *Serratia marcescens* a été retrouvée uniquement dans la station 1 de l'Oued Beni Aza.

Cette bactérie présente une résistante totale (100%) aux béta-lactames à l'exception du Céfotaxime. Le même taux de résistance a été observé vis-à-vis de la Vancomycine, Acide fusidique et Métronidazole (Figure 27).

Les aminosides, le Chloramphénicol, l'Erythromycine et la Colistine ont eu la capacité d'inhiber la croissance de *Serratia marcescens*.

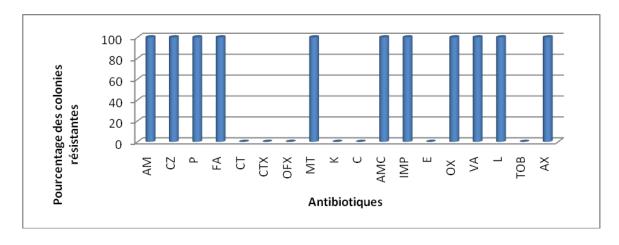


Figure 27 : Pourcentage de Serratia marcescens résistant aux antibiotiques testés (n=1).

♣ Résistance de Serratia odorifera1

Dans les 2 sites de prélèvements (Eaux brutes et épurées de la STEP), (Tableau XVI) les souches de *Serratia odorifera1* (3 souches) sont totalement résistantes vis-à-vis de la famille des béta-lactames sauf pour le Cefotaxime et l'Imipéneme (0 %).

Un taux de 66,66 % a été observé vis-à-vis de l'Erythromycine et la Lincomycine, suivie d'un faible taux de résistance (33,33%) vis-à-vis de la Kanamycine.

Alors que dans l'oued Beni Aza, le taux de résistance vis-à-vis des bétalactamines est de 100% à l'exception du Cefotaxime 0%, (Figure 28).

Une sensibilité totale a été notée vis-à-vis de la Colistine, de l'Ofloxacine, du Chloramphénicol et la Tobramycine.

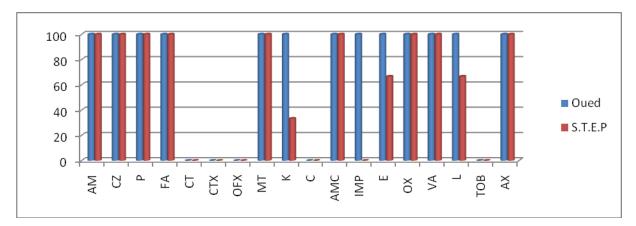


Figure 28 : Pourcentage global de *Serratia odorifera1* résistant aux antibiotiques testés (n=4)

Tableau XVI: Pourcentage de *Serratia odorifera1* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

		STEP		
Familles	ATB %	Eaux brutes	Eaux épurées	Oued Beni Aza
				Site 1
	AM	100	100	100
	CZ	100	100	100
	P	100	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100	100
	CTX	0	0	0
	OX	100	100	100
	AX	100	100	100
	IMP	100	100	0
Aminosides	K	0	100	100
	TOB	0	0	0
Quinolones	OFX	0	0	0
Phénicoles	C	0	0	0
Macrolides	Е	50	100	100

_				
	L	50	100	100
	VA	100	100	100
Autres	FA	100	100	100
	MT	100	100	100
Polypeptides	CT	0	0	0

Résistance de *Pantoea spp1*

La souche *Pantoea spp1* isolée des eaux épurées de la STEP de Chenoua présente un taux de résistance de 100% vis-à-vis de la famille des β -lactames à l'exception du Cefotaxime et l'Imipenème (0%). Elle présente également un taux de résistance très élevé vis-à-vis de l'Erythromycine et les divers antibiotiques (Figure 29).

Les Aminosides, Quinolone et Phénicole sont très actifs sur la souche Pantoea spp1.

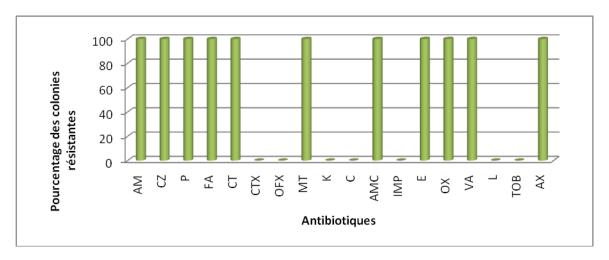


Figure 29 : Pourcentage de *Pantoea spp1* résistant aux antibiotiques testés (n=1).

Résistance de *Pantoea spp2*

Les souches de *Pantoea ssp2* isolées de l'oued et de la STEP sont totalement résistantes vis-à-vis de la famille des béta-lactames à l'exception de l'Imipenème et le Céfotaxime. (Figure 31)

Les Aminosides, Quinolone, Phénicole, et Polypeptide ont une meilleure activité en inhibant la croissance de *Pantoea ssp2*. (Tableau XVII) (Figure 30).

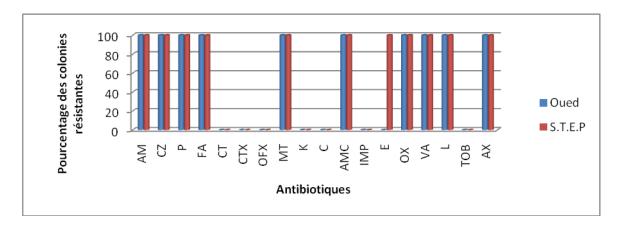


Figure 30: Pourcentage de résistance de *Pantoea ssp2* aux antibiotiques testés (n=2).

Tableau XVII : Pourcentage de *Pantoeassp2*résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

Familles	ATB %	Eaux brutes	Oued Beni Aza
			Site 2
	AM	100	100
	CZ	100	100
	P	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100
	CTX	0	0
	OX	100	100
	AX	100	100
	IMP	0	0
Aminosides	K	0	0
	TOB	0	0
Quinolones	OFX	0	0
Phénicoles	С	0	0
Macrolides	Е	100	0
	L	100	100
	VA	100	100
Autres	FA	100	100
	MT	100	100
Polypeptides	CT	0	0

Résistance de Klebsiella ornithinolytica

Les trois souches de *Klebisella ornithinolytica* isolées de la station d'épuration, montre une résistance totale 100 % vis-à-vis de la famille des béta-lactames sauf pour le Céfotaxime(0 %).

Pour l'Erythromycine les souches présentent un taux de résistance de 66,67 % (Figure 31), due à la résistance des isolats des eaux épurées 100% et des eaux brutes 50% de la station d'épuration (Tableau XVIII).

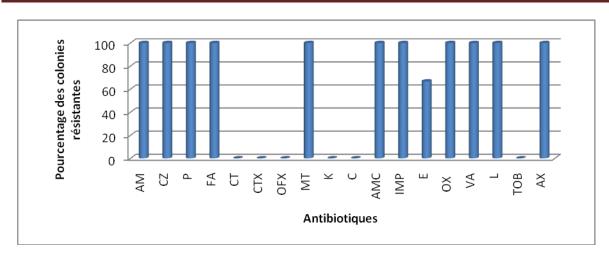


Figure 31: Pourcentage de *Klebsiella ornithinolytica* résistant aux antibiotiques testés (n=3).

Tableau XVIII: Pourcentage de *Klebsiella ornithinolytica* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

		STEP	
Familles	ATB %	Eaux brutes	Eaux épurées
	AM	100	100
	CZ	100	100
	P	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100
	CTX	0	0
	OX	100	100
	AX	100	100
	IMP	100	100
Aminosides	K	0	0
	TOB	0	0
Quinolones	OFX	0	0
Phénicoles	С	0	0
Macrolides	Е	50	100
	L	100	100
	VA	100	100
Autres	FA	100	100
	MT	100	100
Polypeptides	CT	0	0

Résistance de Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae a été isolée à partir des eaux brutes de la station d'épuration de Chenoua, et présente une résistance importante 100 % vis-à-vis de l'Ampicilline, la Céfazoline 100%, la Pénicilline 100%, l'Acide fusidique, l'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Erythromycine, l'Oxacilline, la Vancomycine, la Lincomycine et l'Amoxicilline 100%.

La Colistine, le Céfotaxime, l'Ofloxacine, le Métronidazole, la Kanamycine, le Chloramphénicol, l'Imipenème et le Tobramycine sont très efficaces sur les 2 souches de *Kelbsiella pneumoniae* (Figure 32).

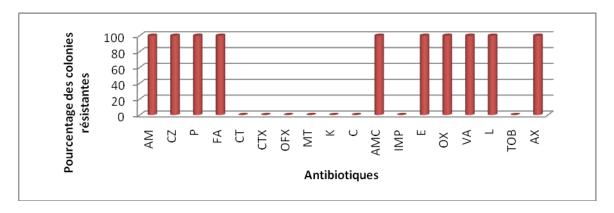


Figure 32: Pourcentage de *Kelbsiella pneumoniae* résistant aux antibiotiques testés (n=2).

♣ Résistance d'*Enterobacter amnigenus*2

La souche d'*Enterobacter amnigenus2* détectée au niveau des eaux usées brutes de la STEP de Chenoua, présente une résistance importante vis-à-vis de l'Ampicilline (100%), Cefazoline (100%), Pénicilline (100%), Acide fusidique (100%), Amoxicilline+ acide clavulanique (100%), l'Imipenème (100%), l'Erythromycine (100%), l'Oxacilline (100%), la Vancomycine (100%), Lincomycine (100%) et l'Amoxicilline (100%).

Les autres antibiotiques ont une excellente activité en inhibant la croissance d'*Enterobacter amnigenus2* (Figure 33).

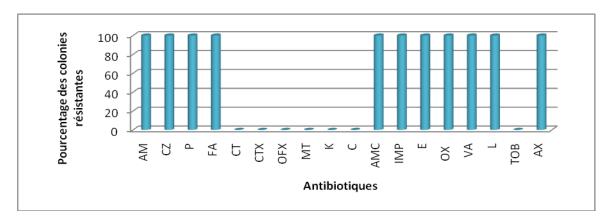


Figure 33: Pourcentage d'*Enterobacter amnigenus2* résistant aux antibiotiques testés (n=1).

Résistance de Citrobacter freundii

Selon la figure 35 et le tableau XIX, les trois souches de *Citrobacter freundii* présentent un taux de résistance de 100% vis-à-vis de 11 antibiotiques qui sont l'Ampicilline, la Céfazoline, la Pénicilline, l'Acide fusidique, la Colistine, le Métronidazole, l'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Oxacilline, la Vancomycine, la Lincomycine et l'Amoxicilline.

Ces pourcentages sont les mêmes au niveau des trois sites de prélèvements : eaux brutes et épurées de la station d'épuration de Chenoua et le site 2 de l'oued Beni Aza (Tableau XIX).

Une diminution du taux de résistance vis-à-vis de l'Imipenème (66,67 %) est due à la sensibilité des bactéries dans l'oued.

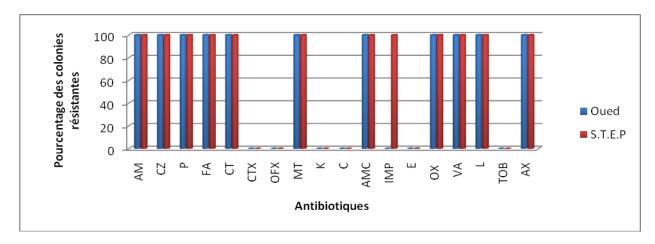


Figure 34:Pourcentage de *Citrobacter freundii* résistant aux antibiotiques testés (n=3).

Tableau XIX : Pourcentage de *Citrobacter freundii* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

Famille	ATB %	Eaux brutes	Eaux épurées	Oued Site 2
	AM	100	100	100
	CZ	100	100	100
	P	100	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100	100
	CTX	0	0	0
	OX	100	100	100
	AX	100	100	100
	IMP	100	100	0
Aminosides	K	0	0	0
	TOB	0	0	0
Quinolones	OFX	0	0	0
Phénicoles	С	0	0	0
Macrolides	E	0	0	0
	L	100	100	100
	VA	100	100	100
Autres	FA	100	100	100
	MT	100	100	100
Polypeptides	CT	100	100	100

[♣] Résistance de *Providencia alcalifaciens rustigianii*

Comme toutes les autres entérobactéries isolées, la souche *Providencia alcalifaciens* rustigianii est résistante vis-à-vis de l'Ampicilline, la Pénicilline, l'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Amoxicilline, la Vancomycine, l'Acide fusidique et Métronidazole.

Sept antibiotiques sont très actifs sur cette souche, il s'agit de: Aminosides, Quinolone, Phénicole, Cefazoline, Cefotaxime et l'Imipenème (Figure 35).

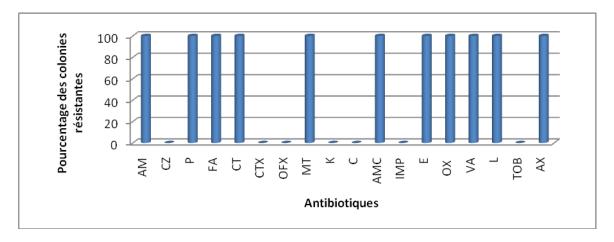


Figure 35 : Pourcentage de *Providencia alcalifaciens rustigianii* résistant aux antibiotiques testés (n=1).

♣ Résistance de Salmonella spp.

L'étude de la résistance des deux souches de *Salmonella spp* isolées de l'oued et des effluents de la STEP révèle un taux de résistance très élevé 100 % vis-à-vis des béta-lactames sauf pour l'Imipenème 0%.

On note une résistance importante dans les eaux brutes de la STEP vis-à-vis du Céfotaxime alors que ce dernier inhibe la croissance de *Salmonella* dans l'oued.

On note également une résistance totale vis-à-vis du Métronidazole, la Colistine, la Vancomycine et la Lincomycine (figure 36).

L'Ofloxacine, la Kanamycine, le Chloramphénicol, l'Erythromycine et la Tobramycine sont les antibiotiques les plus efficaces dans les deux sites de prélèvements : eaux brutes de la STEP et les eaux de l'oued (Tableau XX).

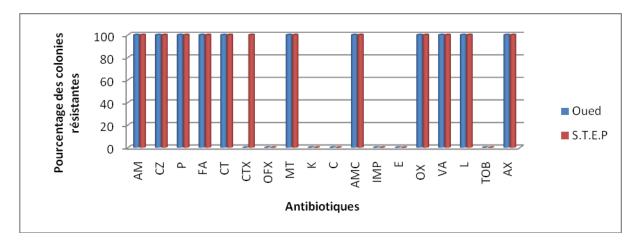


Figure 36:Pourcentage de Salmonella spp. résistant aux antibiotiques testés (n=2).

Tableau XX: Pourcentage de *Salmonella spp.* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

Famille	ATB %	Eaux brutes	Oued Site 2
	AM	100	100
	CZ	100	100
	P	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100
	CTX	100	0
	OX	100	100
	AX	100	100
	IMP	0	0
Aminosides	K	0	0
	TOB	0	0
Quinolones	OFX	0	0
Phénicoles	C	0	0
Macrolides	Е	0	0
	L	100	100
	VA	100	100
Autres	FA	100	100
	MT	100	100
Polypeptides	CT	100	100

♣ Résistance d'*Enterobacter sakazakii*

L'analyse des trois profils de résistance des souches d'*Enterobacter sakazakii* isolées de l'oued Beni Aza, montre des taux de résistance très élevée 100% vis-à-vis l'Ampicilline, la Céfazoline, la Pénicilline, l'Acide fusidique, la Colistine, le Métronidazole, l'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Imipenème, l'Oxacilline, la Vancomycine et l'amoxicilline.

Un pourcentage de 66,66% a été obtenu pour la Lincomycine, suivie du Chloramphénicol et Erythromycine (33,33%) (Figure 37).

Les eaux épurées de la station d'épuration sont le site où *Enterobacter sakazakii* se présente avec un taux de résistance moyen 100% vis-à-vis des béta-lactames à l'exception de l'Imipenème (50%).

Tandis que toutes les *Enterobacter sakazakii* isolées des différents sites d'étude sont sensibles vis-à-vis de la Cefotaxime, l'Ofloxacine, la Kanamycine et la Tobramycine.

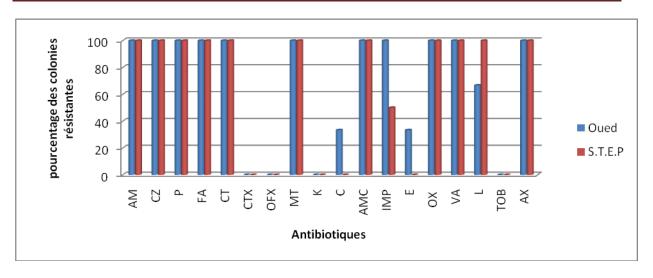


Figure 37 : Pourcentage d'*Enterobacter sakazakii* résistant aux antibiotiques testés (n=5).

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

			Oued Beni	Aza
Famille	ATB %	Eaux	Site 2	Site 2
		épurées		
	AM	100	100	100
	CZ	100	100	100
	P	100	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100	100
	CTX	0	0	0
	OX	100	100	100
	AX	100	100	100
	IMP	50	100	100
Aminosides	K	0	0	0
	TOB	0	0	0
Quinolones	OFX	0	0	0
Phénicoles	C	0	0	100
Macrolides	Е	0	50	0
	L	100	50	100
	VA	100	100	100
Autres	FA	100	100	100
	MT	100	100	100
Polypeptides	CT	100	100	100

4 Résistance de Serratia fonticola

La souche de *Serratia fonticola* présente une résistance importante vis-à-vis des antibiotiques de la famille des béta-lactames à l'exception du Céfotaxime (CTX) et l'Imipenème (IMP).

Cette souche détectée dans les eaux usées brutes de la STEP de Chenoua, s'avère également résistante aux Macrolides, à l'Acide fusidique, à la Vancomycine, à la Métronidazole et à la Colistine (Figure 38).



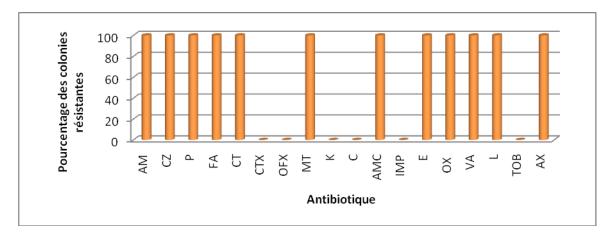


Figure 38 : Pourcentage de Serratia fonticola 1 résistant aux antibiotiques testés (n=1).

Résistance de Citrobacter braakii

La souche de *Citrobacter braakii* isolée de la station n°1 de l'Oued Beni Aza, présente un taux de résistance important (100%) vis-à-vis des antibiotiques de la famille des béta-lactames, à l'exception de la Pénicilline et la Céfotaxime.

Elle présente aussi un taux élevé de résistance vis-à-vis de l'Acide fusidique, la Vancomycine et le Métronidazole.

Citrobacter braakii est sensible à l'Ofloxacine, Chloramphénicol, les Macrolides et les Aminosides (Figure 39).

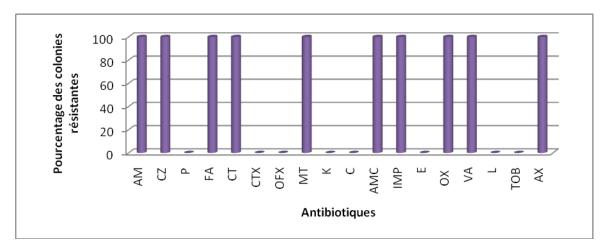


Figure 39 : Pourcentage de Citrobacter braakii résistant aux antibiotiques testés (n=1).

♣ Résistance d'*Escherichia coli*

Les deux souches d'*Escherichia coli* présentent un taux élevé de résistance (100%) vis-àvis des Macrolides, de l'Acide fusidique, la Vancomycine et le Métronidazole (Figure 40). Le même taux de résistance a été observé vis-à-vis des béta-lactames à l'exception du Céfazoline et du Céfotaxime.

Pour l'Ofloxacine et la Kanamycine, un taux élevé de résistance (100%) a été révélé dans la STEP.

Le Chloramphénicol, la Colistine et le Tobramycine inhibent la croissance d'*E.coli* dans tous les échantillons d'eau trouvés contaminés par cette bactérie (Tableau XXII).

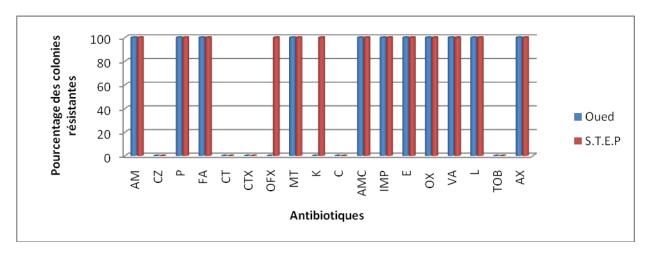


Figure 40 : Pourcentage d'Escherichia coli résistant aux antibiotiques testés (n=2).

Tableau XXII : Pourcentage d'*Escherichia coli* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

Famille	ATB %	Eaux brutes	Oued Site 2
	AM	100	100
	CZ	0	0
	P	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100
	CTX	0	0
	OX	100	100
	AX	100	100
	IMP	100	100
Aminosides	K	100	0
	TOB	0	0
Quinolones	OFX	100	0
Phénicoles	С	0	0
Macrolides	E	100	100
	L	100	100
	VA	100	100
Autres	FA	100	100
	MT	100	100

Polypeptides	CT	0	0

Résistance de Kelbsiella spp

L'étude de la résistance des trois souches de *Klebsiella spp* montre des taux de résistance très élevés vis-à-vis des Macrolides (100%), de l'Acide fusidique (100%), le Métronidazole (100%), la Vancomycine (100%), l'Ampicilline (100%), la Céfazoline (100%), la Pénicilline (100%), l'Amoxicilline + Acide clavulanique (100%), l'Oxacilline (100%) et l'Amoxicilline (100%).

Pour la Kanamycine et l'Imipenème, ce taux varie d'un site à un autre :

- On note une résistance de 100% au niveau des eaux épurées de la STEP
- et 66,66 % au niveau de l'oued.

Un faible taux de résistance 33,33 % a été noté vis-à-vis du Chloramphénicol, dû uniquement à la résistance au niveau de la station n°1 de l'oued Beni Aza (50%) (Tableau XXIII).

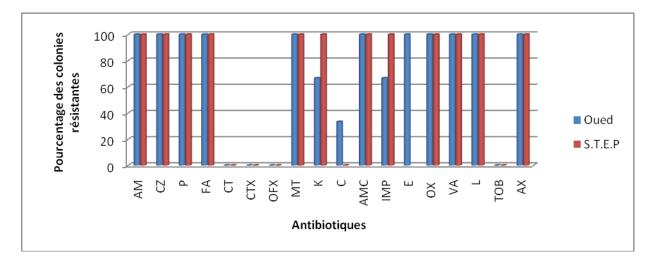


Figure 41 : Pourcentage de Kebsiella spp résistant aux antibiotiques testés (n=4).

Tableau XXIII : Pourcentage de *Kebsiella spp* résistant aux antibiotiques testés couvrant chaque site.

			Oued Beni	Aza
Famille	ATB %	Eaux	Site 1	Site 2
		épurées		
	AM	100	100	100
	CZ	100	100	100
	P	100	100	100
Béta-lactames	AMC	100	100	100
	CTX	0	0	0
	OX	100	100	100
	AX	100	100	100
	IMP	100	100	0

Aminosides	K	100	50	100
	TOB	0	0	0
Quinolones	OFX	0	0	0
Phénicoles	С	0	50	0
Macrolides	Е	100	100	100
	L	100	100	100
	VA	100	100	100
Autres	FA	100	100	100
	MT	100	100	100
Polypeptides	CT	0	0	0

Les niveaux de résistance bactérienne varient d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre. Ainsi, la connaissance de la situation locale et de son évolution sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie de première intention (**EL BAKKOURI et al., 2009**). En effet, nos résultats pour les eaux échantillonnées à partir de l'oued Beni Aza montrent un taux de résistance considérable à la majorité des antibiotiques testés : AM, FA, MT, AMC, OX, VA, AX>CZ, P> L> IMP>E>CT >K>C> CTX, OFX, TOB.

Pour la STEP : AM, P, FA, C, AMC, OX, VA, AX > CZ, L > MT > IMP, E > CT > K > CTX, OFX > TOB.

Les souches d'entérobactéries ont montré une résistance importante à la majorité des béta-lactamines à l'exception du Cefotaxime qui présentent un faible taux de résistance : 5% pour la STEP et 0 % pour l'oued Beni Aza. Le taux de résistance était le suivant:

- Pour l'oued Beni Aza : Ampicilline, Amoxicilline + Acide clavulanique, Oxacilline, Amoxicilline (100%), Pénicilline (93,33%) et Imipenème (66%).
- Pour la STEP de Chenoua: Ampicilline, Pénicilline, Amoxicilline + Acide clavulanique, Oxacilline et Amoxicilline (100%), Céfazoline (90%) et Imipenème (70%).

Dans cette étude, il a été observé que les bactéries isolées à partir de différents points d'eaux sont très résistantes vis-à-vis des Carbapénémes. En effet, les isolats ont montré un pourcentage élevé de résistance vis-à-vis de l'Imipenème (66% pour l'oued et 70 % pour la station d'épuration) par rapport à la résistance déclarée à l'échelle mondiale (BADAL et al., 2013; CHAUDHURI et al., 2011), car les Carbapénemes sont le traitement de choix pour les bactéries productrices de BLSE.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **EZZAT KHAMIS** (2013) en Egypte mais avec un pourcentage : Carbapéneme (Ertapenème : 61,5-66%).

Les différents mécanismes de résistance aux β -lactamines peuvent s'exprimer seule ou de façon concomitante agissant alors de façon synergique. Il peut s'agir d'une diminution d'affinité de la cible, d'une diminution de la perméabilité de la membrane, de l'expression d'une pompe d'efflux actifs ou de la production d'enzyme de type lactamase comme l'ont suggéré **GANGOUE PIEBOJI (2007).**

Concernant, la résistance des souches isolées des eaux de la STEP de Chenoua, les valeurs obtenues restent comparables aux pourcentages des souches d'entérobactéries résistantes rapportés par SILVA et al., (2006) et par OLAYEMI et OPALEYE (1990) (Voir Tableau XXIV).

Tableau XXIV : Comparaison des taux de résistance obtenus dans cette étude dans la STEP, avec la littérature.

Antibiotiques	Auteurs	Dans cette étude
Ampicilline	SILVA et al., (2006) : 90%	100%
	(OLAYEMI et OPALEYE,	
	1990): 97%	
Chloramphénicol	SILVA et <i>al.</i> , (2006) :40%	0%
	(OLAYEMI et OPALEYE,	
	1990) : 67%	
Ofloxacine	(OLAYEMI et OPALEYE,	5%
	1990) :40%	

Pour l'oued, le taux de résistance à la Kanamycine et à l'Erythromycine est comparable avec ceux de **JONES** et *al.*, (1986) sur les eaux du lac District en Angleterre, et par **AL-JEBOURI** (1985) sur les eaux de la rivière Tigris à Mosul-Irak (Tableau XXV).

Tableau XXV : Comparaison des taux de résistance obtenus dans cette étude dans l'oued, avec la littérature.

Antibiotiques	Auteurs	Dans cette étude
Kanamycine	(JONES et <i>al.</i> , 1986) : 5,6 %	33,33 %
	AL- JEBOURI (1985):	
	25%	
Erythromycine	JONES et <i>al.</i> , 1986) : 30%	60 %
	AL- JEBOURI (1985):	
	60%	

Il semble que, lorsqu'une bactérie est résistante à un antibiotique, elle est la plupart du temps résistante à un autre antibiotique et donc multirésistante. Une étude, réalisée par **PARVEEN et al., (1997)** sur 765 souches issues des eaux de surface et des STEPs municipales a mis en évidence un taux encore plus inquiétant de souches résistantes à au moins un antibiotique, à savoir 82%.

Les résultats de cette étude sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau XXVI : Nombre de résistance de l'ensemble des bactéries à un ou plusieurs antibiotiques.

Antibiotiques	n des bactéries	Pourcentage %
7 antibiotiques : AM, P, FA,	n= 20	100 %
AMC, OX, VA, AX		
2 antibiotiques : CZ, L	n= 18	90 %

1 antibiotique : MT	n= 17	85 %
1 antibiotique : IMP	n=14	70 %
1 antibiotique : E	n=13	65 %
1 antibiotique : CT	n=8	40 %
1 antibiotique : K	n= 3	15 %
2 antibiotiques : CTX, OFX	n=1	5 %
2 antibiotiques : C, TOB	n= 0	0 %

Les effluents urbains sont connus pour contenir des niveaux élevées d'antibiotiques et de bactéries résistantes aux antibiotiques appartenant à la flore commensale humaine et animale principalement les entérobactéries (JONES et al., 1986).

Pour les aminosides, le taux le plus important a été observé pour la Kanamycine (33,33%) dans les eaux issues de l'oued et (15%) pour la station d'épuration, suivie de la Tobramycine (0%) pour les deux sites. Ce dernier est le plus efficace des antibiotiques. Les bactéries peuvent exprimer des systèmes d'efflux qui résultent d'une accumulation réduite des Aminosides à l'intérieur de la cellule (**DURANTE-MANGONI** et *al.*, 2009).

Dans cette étude, les taux de résistance sont clairement différents d'un type de milieu échantillonné à un autre. Les différents types de milieu peuvent être classés sur base de leur taux de résistance décroissant: STEP avec une moyenne de 69,72%, l'oued 65,86%.

Ceci est en accord avec les résultats d'une étude réalisée par **PARVEEN** et *al.*, (1997) qui mettait en évidence une plus grande proportion de souches résistantes à au moins un antibiotique au niveau des STEPs municipales qu'au niveau des eaux de surface.

Le problème de la résistance aux antibiotiques est tellement alarmant que **MARTINEZ** (2009) n'hésite pas à caractériser ce phénomène d'une véritable pollution.

II.5.2. Résistance des germes pathogènes aux antibiotiques testés

Résistance de Staphylococcus aureus

Les résultats obtenus montrent que *Staphylococcus aureus* présente un taux de résistance très élevé (100%) vis-à-vis de l'Oxacilline, l'Amoxicilline + Acide clavulanique, le Métronidazole et l'Acide fusidique, et une résistance moyenne vis-à-vis de la Vancomycine (50%).

S.aureus sont totalement sensibles vis-à-vis de l'Amoxicilline, le Chloramphénicol, l'Ofloxacine (100%), suivie de la Kanamycine, l'Erythromycine et la Pénicilline avec un taux de 50% (Figure 42).

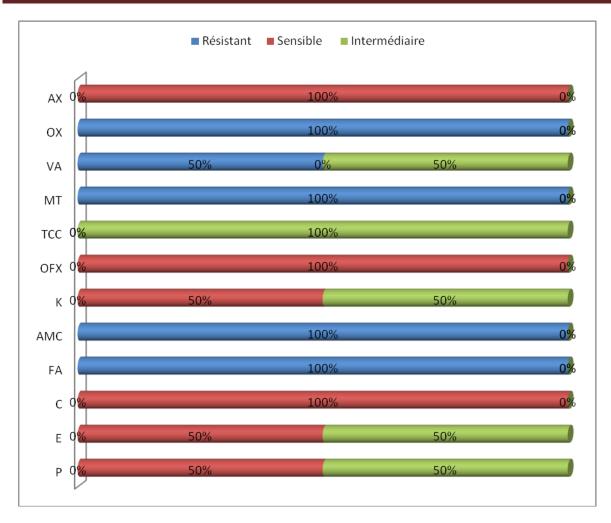


Figure 42 : Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques testés (n=2).

Selon **DENIS** et *al.*, (2007), la production d'une pénicillinase chez les *Staphylococcus aureus* est détectée par le diamètre au tour du disque de la pénicillinase G qui est strictement inférieur à 29 mm, ce qui concorde avec nos résultats (Tableau XXVII)

Tableau XXVII: Diamètre de zone d'inhibition de *S.aureus* vis-à-vis de la pénicillinase G

	Diamètre	exprimé en mm
Antibiotique	Staphylococcus aureus	Staphylococcus aureus
P	13 mm	20 mm
	I	S

Résistance de Pseudomonas aeruginosa

L'étude de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa*a a révélé un taux important (100%) vis-à-vis de Ticarcilline + Acide clavulanique, de l'Acide fusidique, l'Amoxicilline + Acide clavulanique, la Vancomycine, l'Amoxicilline, le Métronidazole (Figure 43).

Selon **CAILLON**, (2005) la résistance de *P.aeruginosa* à l'Amoxicilline + Acide clavulanique est naturelle.

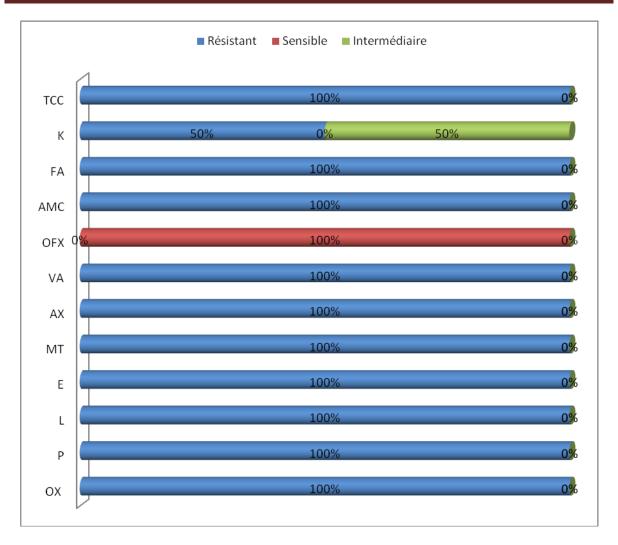


Figure 43 : Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques testés (n=4).

Pseudomonas aeruginosa est naturellement résistante à l'Amoxicilline (**Vedel, 2005**), ce qui concorde avec nos résultats (Voir Annexe III)

II.6. Résultats du calcul de l'indice MAR

Lors de cette étude, nous avons utilisé l'indice MAR (Multiple Antibiotic Resistance) en fonction des isolats et en fonction des sites.

Tous les isolats expriment un indice MAR supérieur à 0,2. Pour les eaux de l'oued Beni Aza, les souches bactériennes qui expriment la valeur la plus élevée sont *Enterobacter sakazakii* et *Klebsiella spp* (0,77). La valeur la plus faible est obtenue pour *Pantoea spp2* et *Citrobacter braakii* (0,55).

En ce qui concerne la STEP, Serratia odorifera1, Kelbsiella spp1 et E.coli expriment la valeur la plus élevée (0,72). Alors que Klebsiella pneumonia, Enterobacter amnigenus, Pantoea spp1, Providencia alcalifaciens rustigianiiet et Pantoea spp2 expriment la valeur la plus faible (0,61). (Figure 44).

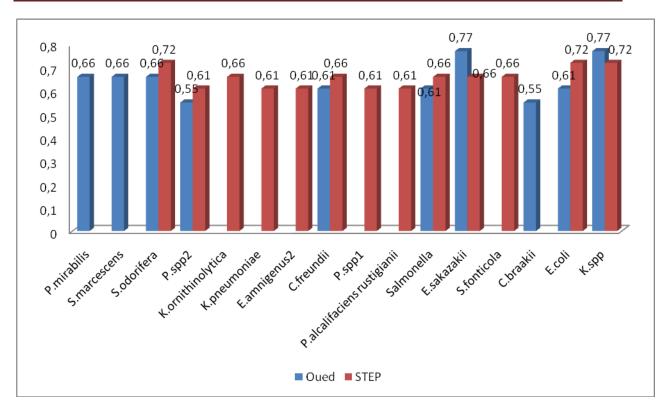


Figure 44 : Indice MAR calculé à partir des différents isolats d'entérobactéries.

Les valeurs de l'indice MAR des sites varient entre 0,63 et 0,66. On observe que l'ensemble des sites échantillonnés sont représentés par un indice supérieur à 0,4 (Figure 45)

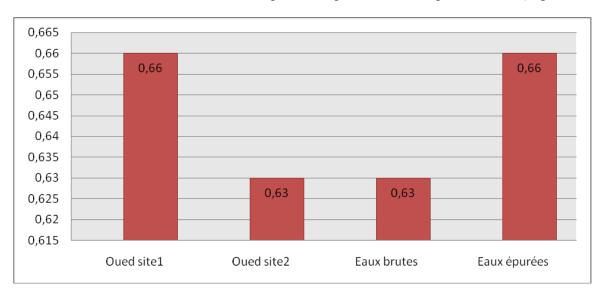


Figure 45 : Indice MAR calculé à partir des quatre sites

Pour les isolats pathogènes, la valeur de l'indice MAR la plus élevée a été obtenue pour *P.aeruginosa* 0,91, suivie de *S. aureus* avec une valeur de 0,41 (Figure 46).

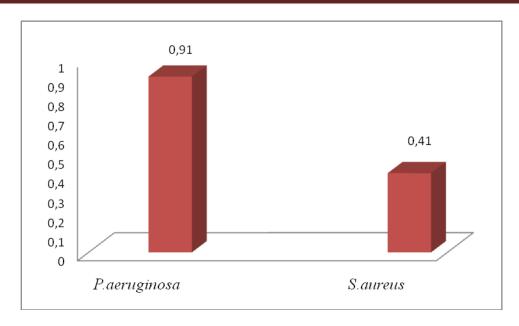


Figure 46 : Indice MAR calculé à partir des différents pathogènes.

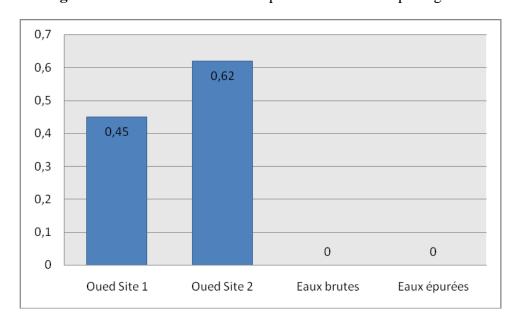


Figure 47 : Indice MAR calculé à partir des sites.

Les valeurs calculées de l'indice MAR des sites varie entre 0 et 0,62. Les points d'eau ayant un indice supérieur à 0,4 sont représentés par les deux stations de l'oued Beni aza, les indices inférieurs à 0,4 sont représentés par la STEP

La valeur de l'indice MAR obtenue pour *E.coli* isolée de l'oued est de 0, 61. Cette valeur est légèrement supérieure à celle obtenue dans l'étude de **FLOREA** et *al.*, (2011) qui a trouvé une valeur de 0,59 dans les rivières Aries en Roumanie.

Dans cette étude 100% des isolats bactériens ont montré une valeur MAR supérieur à 0,2, ce qui est une indication possible que les isolats bactériens ont été exposés à plusieurs antibiotiques.

Les valeurs calculées de l'indice MAR des sites varient entre 0,45 et 0,63 (pour les entérobactéries et les germes pathogènes). Les sources d'eaux ayant une valeur supérieure à 0,4 sont habituellement contaminées par les selles d'origine humaine. Alors que les valeurs inférieures à 0,4 sont dues à une contamination fécale non humaine (KANEENE et al., 2007; TAMBEKAR et al., 2005).

Cette présente étude a révélé que les échantillons étaient contaminés par des fèces humaines. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **MERVAT** et *al.*, (2012); **HAIKAL** (2000). Ces auteurs ont obtenu un indice MAR qui oscille respectivement entre 0,55 et 0,37. Ce qui démontrerait que les zones d'études peuvent être considéré comme une source de risque élevé de contamination de l'environnement.

Conclusion

La protection de l'environnement est devenue un enjeu principal pour les écologistes et les gouvernements au cours de ces dernières années.

L'analyse bactériologique des prélèvements des eaux à partir de l'oued Beni Aza et de la station d'épuration de Chenoua nous a permis de conclure que :

- o Les taux des bactéries indicatrices de contamination fécale sont très élevés.
- O La présence des spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs témoigne d'une contamination fécale ancienne.
- O La recherche des germes pathogènes comme Salmonella, Vibrio cholerae, Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus, a abouti à des résultats négatifs dans la STEP. Cependant, nous avons noté la présence de Salmonella, Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus dans les eaux de l'oued.

Les résultats de l'identification révèlent une diversité des espèces d'entérobactéries:

- ➤ Pour les eaux de l'oued, parmi les 15 souches d'entérobactéries isolées, *Enterobacter sakazakii* (20%), *Klebsiella spp* (20%) et *Proteus mirabilis* (13%) étaient les plus répandues.
- ➤ Pour les effluents de la STEP, parmi les 20 souches d'entérobactéries isolées, *Serratia odorifera1*, *Kelbsiella ornithinolytica* (15%) étaient les plus répandues.

L'étude de la résistance des bactéries isolées aux antibiotiques a montré des profils variables. Diverses constatations émergent :

- La résistance à un ou plusieurs antibiotiques est considérable, elle implique tous les antibiotiques testés.
- Les souches sensibles vis-à-vis de tous les antibiotiques sont en nombre négligeable.
- La Tobramycine a une activité inhibitrice élevée vis-à-vis des souches isolées des eaux de l'oued et de la STEP.
- La majorité de ces souches a révélé une résistance importante vis-à-vis de plusieurs familles d'antibiotiques en particulier les β-lactamines à l'exception du Céfotaxime (oued 0%, STEP 5%).
- Les Aminosides et les quinolones ont gardé leur activité inhibitrice sur la croissance des entérobactéries.
- La résistance aux divers antibiotiques (Acide fusidique, Vancomycine et Métronidazole) présente un taux de 100% pour *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'étude montre aussi que toutes les souches isolées sont multirésistantes. Cette multirésistance a été mise en évidence par le calcul de l'indice MAR (Multiple Antibiotic

Resistance) qui est considéré comme un excellent outil d'analyse de la prévalence relative des bactéries résistantes dans l'environnement. Tous les isolats bactériens ont montré une valeur de MAR supérieur à 0,2, ce qui indique une source élevée de contamination où les antibiotiques sont souvent utilisés. *Enterobacter sakazakii* exprime la valeur la plus élevée (0,77) pour les eaux provenant de l'oued et *Serratia odorifera*1 (0,72) pour la station d'épuration.

Les valeurs de l'indice MAR des sites varient entre 0,45 et 0,63 ce qui indique que les sites étaient contaminés par des selles d'origine humaine.

Au terme de cette étude, quelques perspectives se présentent :

- ✓ Augmenter le nombre d'échantillon.
- ✓ Apport de la biologie moléculaire par rapport à la détection des gènes de résistance visà-vis des antibiotiques qui sont omniprésents dans la nature et qui peuvent être transmis à l'homme et à l'animal.
- ✓ Evaluer la biodiversité des bactéries étudiées et leur niveau de résistance aux antibiotiques dans d'autres régions de l'Algérie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **AIT HAMLET, S. 1998**. Contribution à l'étude la qualité de huit oueds de la Wilaya d'EL Taref; Aspects microbiologiques et écologiques. Thèse de magister en microbiologie appliquée, Université Badji Mokhtar- Annaba, 150P.
- AL-AHMAD, A., DASCHNER, F. D., KUMMERER, K. 1999. Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of waste water bacteria. 'Archives of Environmental Contamination And Toxicology 37 (2). pp: 158-163.
- **Al-JEBOURI, M. M. 1985**. A note on antibiotic resistance in the bacterial flora of raw sewage and sewage-polluted River Tigris in Mosul, Iraq. J. Appl.Bacteriol., **58**: pp: 401-405.
- **ALOUINI, Z. 1993.** Flux de la charge parasitaire dans cinq stations d'épuration en Tunisie : Revue des sciences de l'eau 6: N° 4. pp. 453-462.
- AMINOV, R. I and Mackie R. I. 2007. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett* 271 pp: 147–161.
- ANGELO, F. J., TIPPEN, S., SHARP, D.J., PAYNE, B.J., COLLIER, C., HILL, J. E., BARRET, TJ., CLARK, RM., GELDREICH, EE., DONNEL, HD., SWERDLOW, DL. 1997. A community waterborne outbreak of salmonellosis and effectiveness of a boil water order. *American Journal of Public Health*, 87(4). pp:580-584.
- AVRIL, J-L., DABERNAT, H., DENIS, F., MONTEIL, H. 1992. Bactériologie clinique.2éme Edition ellipses. 512P.

${\cal B}$

• BADA, R.E., BOUCHILLON, K.S., LOB, S.H., HACKEL, M.A., HAWSER, S., HOBAN, D.J. 2013. Etiology, Extended-Spectrum Beta-lactamases Rates, and Antimicrobial Susceptibility of Gram- negative Bacilli Causing Intra-abdominal Infections in patients in general pediatric and pediatric intensive Care Units- Global data form The Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) 2008-2010, Pediatr infect Dis J.

- **.BAGHEL, VS., SINGH, J., GOPAL, K. 2003.** Antimicrobial resistance among enteric bacteria isolated from runoff of the Gangotri glacier, wester Himalaya India. *J Environ Biol*; 24: pp 349-56.
- **BALBUS, JM., EMBREY, MA. 2002.** Risk Factors for Waterborne Enteric Infections. *Current Opinion in Gastroenterology*, **18**(1): pp 46-50.
- BAROUR, A.A., BENSLAMA, M., CHEFROUR, A., BAROUR, C. 2012. Contribution à l'étude microbiologique des eaux de l'oued Medjerda dans l'extrême Est Algérien : Souk Ahras.
- BATT, A. L., KIM, S., AGA, D. S. 2007. Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wasterwater treatment plants with varying desings and operations. Chemosphere 68 (3): pp 428-435.
- **BAUMONT, S. 2005.** Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en ile de France. ORS (Observatoire Régionale de santé d'Ile de France), institut d'aménagement et d'urbanisme de la région Ile de France, 222P.
- BEIER, R.C., DUKE, S.E., ZIPRIN, R.L., HARVEY, R.B., HYME, M.E., POOLE, T.L., SCOTT, R.B., HIGHFIELD, L.D., ALALI, W.Q., ANDREWSK, K., ANDRESON, R.C., NISBET. D.J. 2008. Antibiotic and disinfectant susceptibility profiles of Vancomycin-Resistant Enterococcus faecium (VRE) Isolated from community wastewater. Bull. Environ., Contam. *Toxicol*. 80, pp.188-194.
- BENGHERBIA, A., HAMAIDI, F., ZAHRAOUI, R., HAMAIDI, M.S., MEGATLI, S. 2014. Impact des rejets des eaux usées sur la qualité physicochimique et bactériologique de l'Oued Beni Aza BLIDA, ALGERIE, *Lebanese Science Journal*, Vol. 15, No. 2, P: 41
- **BELAID, N. 2010.** Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hadjeb-Sfax : salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Limoges Sfax. pp : 3-4.
- **BERGOGNE-BEREZIN, E et DELLAONICA. P. 1999**. Antibiothérapie en pratique clinique. Edition Masson. pp. 2-13.
- BLOCK, J.C. 1982. Elimination des microorganismes au cours du traitement des eaux usées urbaines, point sur l'épuration et le traitement des effluents (eau,

- air). Tome 1. coordonné par Guy M. Paris. Lavoisier Technique et Documentation. 214P.
- BONNEFOY, C., GUILLET, F., LEYRAL, G., VERNE-BOURCLAIS, E. 2002. Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Paris : collection : biosciences technique, série : science des aliments. 218 P.
- **BONNET, R. 2004.** Growing group of extetended spectrum β-lactamases : the CTX-M-enzymes. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 40 : pp 1-14.
- **BONTOUX, J. 1993.** Introduction à l'étude des eaux douces : eaux naturelles, eaux usées, eaux de boissons. Edition Technique et Documentation Lavoisier, 166P.
- **BRADFORT, P. A. 2001.** Extended spectrum β-lactamases (ESBL) in the 21st century. Charactérisation, epidemiologu and detection of this important résistance threat. Clinacal Microbiology Reviews. 48 : pp : 933-951.

 ${\it C}$

- CAILLON, J. 2005. Bactériologie. Hôpital de Nantes.
- **CHAALA**, **W. 2013.** Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Université d'Es-senia Oran, Algérie.
- CHAUDHURI, B., RODRIGUES, C., BALAJI, V., IYER, R., SEKAR, U., WATTAL, C., CHITNIS, D.S., DHOLE, TN., JOSHI, S. 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.
- CHEVALIER, P. 2003. Coliformes fécaux. Fiche synthèse sur l'eau potable et la santé durant l'Evaporation Complete du Chott Merouane dans le Sahara Septentrional Algérie. Article. P10.
- **CONTON, R et COQUE, T. M. 2006.** The CTX-M β-lactamase pandemic. Current Opinion in Microbiology. 9: pp : 466-475.

D

• **DELAERE, B. 2001.** La résistance aux antibiotiques en médecine générale. Louvain Med, n°2, pp. 101-120.

- **DELARRAS**, C., **BERNARD**, T. 2003. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2^{éme} Edition. Tec & Doc Lavoisier. EM internationales. 269 P.
- **DELARRAS**, C. **2007**. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de controle sanitaire. Paris : Lavoisier.
- **DELARRAS, C., TREBAOL, B., DURAD, J. 2010.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2^{éme} édition Tec & Doc Lavoisier, EM internationales. 507 P.
- DENIS, F., PLOY, M-C., MARTIN, C., BINGEN, E., QUENTIN, R. 2007. Bactériologie médicale, techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. 593P.
- **DE PONTANAL, H. G et GUIDICELLI, C. P. 1993.** Protection de la santé : hygiène et environnement. Frison-Roche, Paris, 592P.
- DURANTE-MANGONI, E., GRAMMATIKOS, A., UTILI, R., FALAGAS, M.E. 2009. Do we still need the aminoglycosides? International Journal of Antimicrobial Agents; 33: pp: 201-205.

\mathcal{E}

- EDBERG, S. C., RICE, E.W., KARLIN, R. J., ALLEN, M. J. 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88 pp: 106S-116S
- EL BAKKOURI, J., BELABBES, H., ZEROUALI, K., BELAICHE, A., MESSAOUIDI, D., GROS CLAUDE, J.D.P., EL MDAGHR, N. 2009. Resistance aux antibiotiques d'Escherichia coli Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc). European Journal of Scientific Research; 36(1): pp: 49-5.
- EL HAISSOUFI, H., BERRADA, S., MERZOUKI. M., AABOUCH, M., BENNANI, L., BENLEMLIH, M., IDIR, M., ZANIBOU, A., BENNIS, Y., EL OUALI LAMALI, A. 2011. Pollution des eaux de puits de certains quartiers de la ville de Fès, Maroc, Rev. Microbiolol. Ind. san et Environn., Vol 5, n°1, pp : 37-68.
- **EMMANUEL, E. 2003.** Evolution des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. 247P.

• ENNOCH, D. A., SIMPSON, A. J., KIBBLER, C.C. 2004. Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anerobic blood culture. Journal of Medical Microbiology.

 ${F}$

- FAURIE, C., ERRA, C., MEDORIE, P., DEVANE, J., REMPTIME, J.L. 2003. Ecologie, approche scientifique et pratique. 5^{eme} Edition LAVOISIER. 823P.
- FELEKE, M., MENGITSU, E., YESHAMBEL, B., WALELEGN, W. 2014. Isolation and characterization of multiple drug resistance bacterial pathogens from waste water in hospital and non-hospital environments, BMC Research Notes; pp 7-125.
- FIGARELLA, J., LEYRAL, G., TERRET, M. 2007. Microbiologie générale et appliquée. P: 103.
- **FLOREA, A.B. 2011.** Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Aries River (Romania).UK. Tom. XVIII, 1: pp : 34-38.
- FLORET, N., BERTRAND, X., THOUVEREZ, M., TALON, D. 2009. Infection nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*: origine exogène ou endogène de la bactérie responsable? Pathologie Biologie. 57: pp: 9-12.

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. Thése de doctorat. P1-27. Primary penicillintarget enzyme. Nat Struct-Biol; **3** (3) pp : 248-289.
- GARTET, A., GARTET, J., CONESA, G. C. 2001. Hydrochimie des eaux, dissolution spécifique et salinité des cours d'eau dans le bassin de l'oued l'ébène (Périf central, Maroc). Papeles de Geografia, Revue de l'université de Murcia, vol 34 : pp : 143-146.
- **GAUJOUS, D. 1995.** La pollution des milieux aquatiques. Aide-mémoire, 2^{eme} Edition TEC et DOC. Paris. 458P.
- **GEROGE, I et SERVAIS, P. 2002.** Source et dynamique des coliformes dans le bassin de la Seine. Centre national de la recherche scientifique, programme PIRENSeine 1998-2001 : Rapport de synthèse Paris, France, 46P.

- **GLEESON, C et GRAY. 1997.** The coliform index and waterborne disease problems of microbial drinking water assessment. E & FN Spoon, London. 194P.
- **GROCLAUDE, G.C. 1999.** L'eau, Tome II, usage et polluants, institut national de la recherche agronomique. Paris, France. 210P.
- GUIRAUD, J.P. 1998. Microbiologie alimentaire, DUNOD, Paris, 625P.

\mathcal{H}

- **HEIKAL, M. 2000.** Environmental studies on antibiotic in Tropical Countries. 2nd Ed; Cambridge University, resistant bacteria in some locations along the River press, New York. Nile. Ph.D. Thesis, Environmental Biological Science. 18. Juang, D.F. and J.M. Morgan, 2001. The applicability Institute of Environmental studies and Researches of the API 20 E and API NET systems for the Ain Shams University, Egypt.
- HAMMOUM, K et HAMMOU, Y. A. 2002. Caractérisation des phénotypes de résistances aux β-lactamines de 113 souches d'*Escherichia coli*, Mémoire ING, génie biologie (U.S.T.H.B) Alger. 8P.
- HASLAY, C et LECLERC, H. 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Paris. Ed. Lavoisier Technique et Documentation. 495P.
- HOUESSOU, A., GBODOGBE, C., KPINSSOTON, G., MOUMOUNI, A., SILVEIRA, M., FAFOUMI BEEN, A., TOUPE, A., AKPATA, J., CLEGBAZA, G., SERPOS, H., ADEGNIKA, F., DAOUT, P., HOUANYE, A. 2009. Livre bleu bénin: l'eau, l'assainissement, la vie et le développement durable. 103P.

\mathcal{J}

- **JAYARAMAN**, **R. 2009.** Antibiotic resistance: an overview of mechanisms and a paradigen shift. *Current Science*. **96** pp: **1475-1482**.
- JONES, J. G., GARDENER, S., SIMON, B. M., PICKUP, R. W.1986. Antibiotic resistant bacteria in Windermere and two remote upland tarns in the English Lake District. J. Appl. Bacteriol. 60 pp: 443-453.
- **JORA. 2009.** Journal Officiel de la République Algérienne. N° 34. 6P.
- **JORA. 2011.** Journal Officiel de la République Algérienne. N°18. 35P.

• JUNCO, TT., MARTIN, MG., TOLEDO, LP., GOMEZ, PL., BARRASA, JLM .2001. Identification and antibiotic resistance of faecal enterococci isolated from water samples. *Int J Hyg Environ Health*; 203 pp : 363-8.

K

- KANEENE, B.J., MILLER, R., SAYAH, R., JOHNSON, Y.J., GILLILAND, D., GARDNIER, J.C. 2007. Considerations when using discrimination function analysis of antimicrobial resistance profiles to identify sources of faecal contamination of surface water in Michigan. Appl Environ Microbial, 73 pp: 2878-90.
- KLEINER, D. K., KATZ, S. E., WARD, P. M. L. 2007. Development of in vitro antimicrobial resistance in bacteria exposed to residue level exposures of antimicrobial drugs, pesticides and veterinary drugs. Chemotherapy 53 (2) pp : 132-136.
- **KUMMERER, K and HENNINGER, A. 2003.** Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. Clinical Microbiology and Infection. 9 (12) pp: 1203-1214.

ſ.

- LAHLOU, AMIN I., SALORD, H., GILLE, Y., ROURE, C., TIGAUD, S., BAJOU, T., RATBI, N., KASSMI, H-L. 2008. *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolées à l'imipenème : clone émergent en milieu hospitalier. Les techniques de laboratoire. 11 pp : 4-9.
- LECLERC, H., MIZON, F. 1978. Eaux d'alimentation et bactéries résistantes aux antibiotiques. Incidences sur les normes. Rev Epidemiol Santé Publique ,26 pp: 137-46.
- LECLERC, H., FESTY, B., LAZAR, P. 1982. Connaissances actuelles de la pathologie hydrique. Epidémiologie et santé publique, Masson, Paris, 30 pp: 363-385.
- LECLERC, H., GAILLARD, G.L., SIMONET, M. 1995. Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Ed. Doin. 535P.
- LEE, D. G. 2006. Genomic analysis reveals that *Pseudomonas aeruginosa* virulence in combinatorial. Genome Biology. 7. R90.

- **LEVI, H. 2006.** Inquiétudes sur la présence d'antibiotiques et de bactéries antibiorésistantes dans les eaux. Environnement, Risques et Santé 5 (4) pp : 261-265.
- LEVY, S. B et MARCHALL, B. 2004. Antibacterial resistance. WorldWide causes, challenges ans responses. Nature Medecine. 10 pp: 122-129.
- LELOIR, Y et GAUTIER, M. 2010. Staphylococcus aureus, Edition Lavoisier. 209P.
- LINDBERG, R. H., OLOFSSON, U., RENDAHL, P., JOHANSSON, M. I., TYSKLIND, M., ANDERSSON, B. A. V. 2006. Behavior of Fluoroquinolones and Trimethoprin during Mechanical, Chemical, and active Sludge Treatment of Sewage Water and Digestion of Sludge' Environ. Sci. Technol. 40 (3) pp: 1042-1048.
- LINDBERG, R. H., WENNBERG, P., JOHANSSON, M. I., TYSKLIND, M., ANDERSSON, B. A. V.2005. Screening of Human Antibiotic Substances and determination of Weekly Mass Flower in Five Sewage Treatment Plants in Sweden. Environmental Science and Technology 39 (10) pp: 3421-3421.
- LOZNIEWSKI, A et RABAUD, C. 2010. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiche conseil pour la prévention du risque infectieux. Centre de coordination de lutte contre les infections nosocomiales-Sud Est.

M

- MACKEON, D. M., CALABRESE, J. P., BISSONNETTE, GK. 1995. Antibiotic resistant Gram negative bacteria in rural ground water supplies. Water Res; 29: pp: 1902-8.
- MADIGAN, M et MARTINKO, J. 2007. Biologie des microorganismes. Edition Nouveau Horizon 11^{eme} édition. 1047P.
- MARCEL, D. 1989. Chimie des oxydants et traitement des eaux. Edition Lavoisier Technique et Documentation. Paris. 55,60P.
- **MARTINEZ, J. L. 2009**. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. Environ. Pollut. 157pp: 2893–2902.
- MASSA, S., ARMUZZI, R., TROVATELLI, F.1995. Resistance to antibiotics in Gram negative non-fermentative bacteria isolated from natural mineral waters. *Ann Microbiol Enzimol*; 45 pp: 159-63.

- MERVAT, A., ABO-STATE, H., MAHDY, M., SAFAA, M., EZZAT, E., ABD EL SHAKOUR, H., MOSTAFA EL-BAHNASAWY, M. A. 2012. Antimicrobial resistance profiles of enterobacteriaceae isolated from Rosetta branch of river Nile, Egypt. World applied Sciences Journal; 19(9); pp: 1234-1243.
- MIAO, X. S., BISHAY, F., CHEN, M., METCALFE, C.D. 2004. Occurrence of Antimicrobials in the final effluents of Wastewater Treatment Plants in Canada. 'Environ. Sci. Technol. 38(13) pp: 3533-3541.
- MILHAULD, G., PINAULT, L., PERSON, J.M., BODIN, G., PUYT, J. D., ENRIQUEZ, B., EZUBEY, J. 1982. Les antibiotiques, école nationale vétérinaire d'Al Fort et de Nantes, pp. 2-135.
- MORINIGO, M.A., CORNAX, R., CASTRO, D., JIMENEZ-NOTARO, M., ROMERO, P., BORREGO, JJ. 1990. Antibiotic resistance of Salmonella strains isolated from natural polluted waters. *J Appl Bacteriol*; 68 pp. 297-302.

${\mathcal N}$

• **NWOSU**, **V. C. 2001.** Antibiotic resistance with particular reference to soil microorganisms. Res Microbial. 152 pp. 421-430.

0

- OBST, U., SCHWARTZ, T., VOLKMAN, H. 2006. Antibiotic resistant pathogenic bacteria and their resistance genes in bacterial biofilms. International Journal of Artificial Organs 29 (4) pp: 387-394.
- OLAYEMI, A. B et OPALEYE, F.I. 1990. Antibiotic resistance among coliform bacteria isolated from hospital and urban wastewaters. W. J. Microbiol. Biotech. 6 pp: 285-288.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). 2006. Utilisation sans risque des eaux usées, des excréta et des eaux ménagères Vol (2); 254P.

P

• PALUMBO, S.A. 1972. Role of iron and sulfur in pigment and slim formation by Pseudomonas aeruginosa. Journal of Bacteriology.

- PARVEEN, S., MURPHREE, R.L., EDMINSTON, L., KASPAR, C.W., PORTIER, K.M., TAMPLIN, M.L. 1997. Association of multiple-antibiotic-resistance profiles with point and nonpoint sources of *Escherichia coli* in Apalachicola Bay. *Applied and Environmental Microbiology*. 63 (7) pp: 2607-2612.
- PAPAPETROPOULOU, M., LLJOPOULOU, J., RODOPOULOU, G., DETORAKIS, J., PANIARA, O. 1994. Occurrence and antibiotic resistance of *Pseudomonas* species isolated from drinking water in southern Greece. J Chemoth; 6 pp: 111-6.
- **PITKANEN, T, 2010.** Studie on the detection methods of campylobacter and feacl indicator bacteria in drinking water, National Institute for Health and Welfare. Finland. 118P.
- **POTELON, J-L et ZYSMAN, K. 1998.** Le guide des analyses de l'eau potable. Edition de « La terre du cadre Territorial ».235P.
- PRESCOTT, L.M., HARLEY, J.P., KLEIN, D.A., BACK-CALBERG, C.M., DUSART, J. 2003. Microbiologie. 2ème Edition. Bruxelles: BOECK.

R

- Rahal, K., Belouni, R., and Benslimani, A. 2008. Standardisation de l'antibiogramme en médicine humaine à l'échelle nationale. Rec de L'OMS. 5éme édition. Algérie.
- **RAOUT, D. 1998.** Dictionnaire des maladies infectieuses : diagnostique, épidémiologie, répartition géographique, taxonomie, symptomatologie. Editions Elsevier. 1162P.
- REINTHALER, F. F., POSCH, J., FEIERL, G., WUST, G., HAAS, D., RUCKENBAUER, G., MASCHER, F and MMARTH, E. 2003. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* in sewage and sludge *Water Res* 37 pp: 1685-1690.
- RODIER, J., BEUFFE, H., BOURNAUD, M., BROUTIN, J.P., GEOFFRAY, C., KOVACSIK, G., LAPORTE, J., PATTEE, E., PLISSIER, M., RODI, L., VIAL, J. 1984. L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 7eme édition Paris. Edition Dunod. 1365P.

- RODIER, J., BAZIN, C., BROUTIN, J-P., CHAMBON, P., CHAMPSAUR, H., RODI, L. 2005. L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème} édition Paris. Edition Dunod. 1383P.
- **RODIER, J., LEGUBE, B., MERLET, N. 2009.** L'analyse de l'eau. 9eme édition. Dunod. Paris. 1400P.
- RYBARCZYK, H., ELKAIM, B., WILSON, J.G., LOQUET, N. 1996. L'eutrophisation en Baie de Somme : mortalités des peuplements benthiques par anoxie. Oceanologica acta. vol. 19, n°2 pp : 131-140.

S

- **SATIN, M et SELMI, B. 2006.** Guide technique de l'assainissement. 3ème Édition. Le Moniteur Edition. 726P.
- **SATIN, M, SELMI, B. 1999.** Guide technique de l'assainissement; 2 eme Edition. Paris: Le moniteur. 680P.
- **SERVAIS, P., PASSERAT, J. 2009.** Antimicrobial resistance of fecal bacteria in waters of the Seine River watershed (France). *Science of the Total Environment*, 408, pp: 365-372.
- SEVENO, N., KALLIFIDAS, D., SMALLA, K., VAN ELSAS. J., COLLARD, J., KARAGOUNI, A., WELLINGTON, M. 2002. Occurrence and reservoirs of antibiotic resistance genes in the environment. *Rev Med Microbiol* 13 pp: 15–27.
- SILVA, J., CASTILLO, G., CALLEJAS, L., LOPEZ, H., OLMOS, J. 2006. Frequency of Transferable Multiple Antibiotic Resistances amongst Coliform Bacteria Isolated from Treated Sewage Effluent in Antofagasta, Chile. Elect. J. Biotechn. 9 pp: 533-540.
- SIMMONS, G., HOPE, V., LEWIS, G., WHITMORE, J., GAO, W. 2001. Contamination of potable roof-collected rainwater in Auckland, New Zealand. *Water Research* 35 pp: 1518-1524.
- **SMAOUI, S. 2010.** Purification et caractérisation de biomolécules à partir des microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. 251P.
- **STALDER, T. 2012.** Implication des effluents d'activités hospitalières et de la filière carnée sur la dissémination de l'antibiorésistance : dynamique des intégrons de l'émission au rejet. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 4 P.

• SCHWARTZ, G., KOHNEN, W., JANSEN, B et OBST, U. 2003. Detection of antibiotic resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*, 43, 3, pp. 325-335

\mathcal{T}

- TARTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. 2003. Introduction à la microbiologie. Editions du Renouveau Pédagogique. France.
- TAMBEKAR, D.H., HIRULKAR. N.B., WAGHMARE, A.S. 2005. MAR indexing to discriminate the source of faecal contamination in drinking water. Nat Environ Poll Tech 4. pp: 525-528.
- **TENOVER, F.C. 2006.** Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine.* 119 **(6),** pp : 3-10.
- **TRAD-RAIS, M. 1989.** Surveillance bactériologique et parasitologie des eaux usées brutes et traitées de la ville de Tunis. Archs. Inst. Pasteur, Tunis. 65(3-4).pp: 293-305
- TUMEO, E., GBAGUIDI-HAORE, H., PARTY, I., BERTRAND, X., THOUVEREZ, M., TALON, D. 2008. Are antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalised patients recovered in the hospital effluents? *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 211, pp. 200-204.

${\mathcal V}$

• **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) pp: 657-664.

W

- WILLCOX, M.D. 2007. *Pseudomonas aeruginosa* infection and inflammation during contact lens wear: a review, Optometry and vision science: Official Publication of the American Academy of Optometry.
- WISE, R. 2002. Antimicrobial resistance: priorities for action. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 49(4) pp: 585–586.
- **WRIGHT, G. D. 2007.** The antibiotic resistance: the nexus of chemical and genetic diversity. Nature Rev. Microbial.5 pp: 175-186.

• WWW.SEAAL.DZ (Consulté le 22 février 2016).

Y

- YALA, D., MERAD, A.S., MOHAMEDI, D., OUARKORICH, M.N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n° 91.
- YANG, C.M., LIN, M.F., LIAO, P.C., YEH, H.W., CHANG, B.V., TANG, T.K., CHENG, C., SUNG, C.H., LIOU, M.L.2009. Comparison of antimicrobial resistance patterns between clinical and sewage isolates in a regional hospital in Taiwan. Ketters in Applied Microbiology, 48, pp: 560-565

Tableau XXXII: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les Entérobactéries.

Table de lecture 2 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries

Conditions du test :

Milieu : Gélose Mueller- Hinton Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland Contrôle de qualité :

Escherichia coli ATCC 25922

Incubation: 35°C, atmosphère ordinaire; 18h.

Antibiotiques testés	Charge des		Diamètres critiques (mm)	CMI critiques (µg/ml)			
Antibiotiques testes	Disques	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible	
β-lactamines :							
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	≤8	
Amoxicilline + Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4	
Cefazoline	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤8	
Cefalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤8	
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤8	
Cefotaxime	30µg	≤ 14	15 – 22	≥ 23	≥ 64	≤8	
Ceftriaxone	30µg	≤ 13	14 – 20	≥ 21	≥ 64	≤8	
Imipenem	10µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
Aminosides				†			
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥8	≤ 4	
Quinolones							
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	≤ 8	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	≤1	
Autres				1			
Chloramphenicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	≤8	
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	≤ 64	
Trimethoprime + sulfamethoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38	

^{*} Tableau extrait du Document M100 - S16. Vol. 26, n°3. 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement.

Tableau XXXIII: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Staphyloccocus spp.

Table de lecture 5 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Staphylococcus spp.

Conditions du test :

Milieu: Gélose Mueller- Hinton;

Inoculum: Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland Incubation: 35°C, atmosphère ordinaire; 18 à 24h.

Contrôle de qualité :

Staphylococcus aureus ATCC 25923 Staphylococcus aureus ATCC 29213 : Staphylococcus aureus ATCC 43300

A - 4:h: - 4: 4 4	Channa dan diaman		Diamètres critiques (mm)	CMI critiques (µg/ml)			
Antibiotiques testés	Charge des disques	Résistant Intermédiaire		Sensible	Résistant	Sensible	
<u>β-lactamines</u> :							
Penicilline	10 UI	≤ 28		≥29	ß-lactamase	≤ 0,12	
Oxacilline - S.aureus	1 µg	≤ 10	11 – 12	≥13	≥4	≤ 2	
- Staphylocoque coagulae négative***		≤ 17	_	≥18	≥0,5	≤ 0,25	
Cefoxitine - S. aureus et S. lugdunensis	30µg	≤ 19	_	≥20			
- Staphylocoque à coagulase négative		≤ 24	-	≥25			
Aminosides :	' <u>'</u>						
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 8	≤4	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥17	≥32	≤16	
Kanamycine	30µg	≤ 13	14 – 17	≥18	≥25	≤6	
Macrolides :							
Erythromycine	15µg	≤ 13	14 – 22	≥23	≥ 8	≤0.5	
Clindamycine	2μg	≤ 14	15 – 20	≥21	≥4	≤ 0,5	

^{*} Tableau extrait du Document M 100 - S16. Vol. 26, n°3. 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement.

Incuber pendant 24h.

^{***} Autre que S. lugdunensis

Tableau XXXIV: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Pseudomonas aeruginosa.

Table de lecture 3°: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Pseudomonas aeruginosa

Conditions du test :

Milieu : Gélose Mueller- Hinton

Contrôle de qualité :

Inoculum: Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Incubation: 35°C, atmosphère ordinaire; 18h.

Antibiotiques testés	Charge des		Diamètres critiques (mm	CMI critiques (µg/ml)			
Antibiotiques testes	disques	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible	
β-lactamines :							
Ticarcilline	75 µg	≤ 14		≥ 15	≥ 128	≤ 64	
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10 µg	≤ 14		≥ 15	≥ 128/2	≤ 64/2	
Piperacilline	100 µg	≤ 17		≥ 18	≥ 128	≤ 64	
Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤8	
Aztreonam	30 µg	≤ 15	16 – 21	≥ 22	≥ 32	≤8	
Imipenem	10 µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
Aminosides					1		
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	≤16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
Netilmicine	30 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 32	≤ 12	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 8	≤4	
Quinolones							
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥21	≥4	≤1	

^{*} Tableau extrait du Document M 100 - S16. Vol. 26, n°3. 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement.

Annexe III

Tableau XXXV: Résultats des analyses bacteriologiques de l'Oued Beni Aza.

Germes	СТ		CF		SF		ASR		S	SA			PA		V C	
Prélèvements	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S 2
20/01/2016	1,8×10 ⁶	1,8×10 ⁶	$1,1\times10^{6}$	1×10 ⁵	1,8×10 ⁶	1,8×10 ⁶	10×10 ⁴	1,8×10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0
03/02/2016	1,8×10 ⁶	1,8×10 ⁶	5×10 ⁵	7×10 ⁵	1,8×10 ⁶	1,8×10 ⁶	8×10 ⁴	1,6×10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0
21/02/2016	5×10 ⁵	5×10 ⁵	1×10 ⁵	1×10 ⁵	1×10 ⁶	1,4×10 ⁶	6×10 ⁴	1,8×10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0
06/03/2016	$1,1\times10^{6}$	1,4×10 ⁶	1×10 ⁵	0	1,2×10 ⁶	1,8×10 ⁶	0	3×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
20/03/2016	8×10 ⁵	1,8×10 ⁶	0	0	5×10 ⁵	8×10 ⁵	0	0	0	10	0	250	0	0	0	0
03/04/2016	7×10 ⁵	9×10 ⁵	0	2×10 ⁵	5×10 ⁵	1,8×10 ⁶	0	1×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
17/04/2016	1×10 ⁶	1,8×10 ⁶	2×10 ⁵	1×10 ⁵	1×10 ⁶	1,8×10 ⁶	0	0	0	0	0	360	5	9	0	0
02/05/2016	1,8×10 ⁶	1,8×10 ⁶	0	$1,1\times10^{6}$	0	7×10 ⁵	0	2×10 ⁴	0	0	0	0	3	7	0	0
Moyenne	1187500	1475000	250000	287500	862500	1487500	187500	72500	0	1,25	0	76,2 5	1	2	0	0
Ecart type	101,93	1136,05	467,70	501,56	868,72	1140,86	405,04	251,86	0	1,04	0	8,16	0,93	1,32	0	0

CT : Coliformes totaux, CF : Coliformes fécaux, SF : Streptocoques fécaux, ASR : Anaérobies Sulfito Réducteurs, S : Salmonelles, SA :

Staphyloccous aureus, PA: Pseudomonas aeruginosa, VC: Vibrions cholériques, U.F.C: Unité Formant Colonie, S1: Station n°1, S2: Station

n°2, l'unité de mesure : UFC/100 ml pour tous les germes et spores/20 ml pour les ASR

Tableau XXXVI: Résultats bactériologiques de la STEP Chenoua.

Germes	CT		CF		SF		ASR		S		SA		PA		VC	
Prélèvements	EB	EE	EB	EE	EB	EE	EB	EE	EB	EE	EB	EE	EB	EE	EB	EE
18/01/2016	1,8×10 ⁵	1,8×10 ⁴	3×10 ⁴	2×10 ³	1,8×10 ⁵	1,8×10 ⁴	1×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0
07/02/2016	$1,8\times10^{5}$	1,8×10 ⁴	1×10 ⁴	1×10 ³	$1,8\times10^{5}$	1,8×10 ⁴	5×10 ⁴	1×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
22/02/2016	7×10 ⁴	5×10 ³	0	0	1,8×10 ⁵	1×10 ³	1×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0
06/03/2016	$1,2\times10^5$	1,0×10 ⁴	4×10 ⁴	1×10 ³	$1,1\times10^{5}$	5×10 ³	4×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21/03/2016	$1,2\times10^{5}$	1,4×10 ⁴	1×10 ⁴	0	$1,4\times10^{5}$	7×10 ³	1×10 ⁴	1×10 ⁴	5	0	0	0	0	0	0	0
03/04/2016	5×10 ⁴	1×10 ³	1×10 ⁴	0	$1,8\times10^{5}$	3×10 ³	$1,1\times10^{5}$	1×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
17/04/2016	$1,2\times10^{5}$	1,1×10 ⁴	1×10 ⁵	0	$1,8\times10^{5}$	1×10 ³	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
02/05/2016	$1,2\times10^{5}$	1,8×10 ⁴	0	4×10 ⁵	$1,8\times10^{5}$	3×10 ³	5×10 ⁴	2×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
Moyenne	120000	11875	25000	1000	166250	7000	35000	6250	0,625	0	0	0	0	0	0	0
Ecart type	324,03	101,93	147,90	29,58	381,40	78,26	175	73,95	0	0	0	0	0	0	0	0

CT : Coliformes totaux, CF : Coliformes fécaux, SF : Streptocoques fécaux, ASR : Anaérobies Sulfito Réducteurs, S : Salmonelles, SA : Staphyloccous aureus, PA : Pseudomonas aeruginosa, VC : Vibrions cholériques, U.F.C : Unité Formant Colonie, EB : Eau Brute, EE : Eau Epurée.

Unité de mesure : UFC/100 ml pour tous les germes et spores/20 ml pour les ASR

Tableau XXXVII : Résultats de mesure des zones d'inhibition pour les Entérobactéries détectées, exprimés en millimètre.

	Pmi	Pmi	Smar	Sod	Sod	Sod	Sod	Ps2	Ps2	Kor	Kor	Kor	Kpn	Kpn
AM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CZ	0	9	0	0	0	11	0	0	0	17	0	9	0	10
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
FA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CT	15	13	11	12	14	24	20	13	14	11	13	14	13	12
	I	I	I	I	I	S	S	I	I	I	I	I	I	I
CTX	19	35	28	15	35	27	25	14	15	25	21	25	35	29
	I	S	S	I	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S
OFX	35	28	40	33	28	30	35	26	28	29	22	30	30	28
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
MT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	29
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
K	0	0	29	13	21	0	0	11	13	23	27	21	19	22
	R	R	S	I	S	R	R	I	I	S	S	S	S	S
С	19	24	35	28	37	30	21	15	33	25	28	40	27	33
	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
AMC	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IMP	27	30	0	11	14	10	21	19	20	0	0	0	16	7
	S	S	R	R	R	R	I	I	I	R	R	R	R	R
Е	7	14	0	0	16	0	0	0	14	15	0	0	0	0
	R	I	R	R	I	R	R	R	I	I	R	R	R	R
OX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
VA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
L	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	4	0	0
	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TOB	20	24	30	27	24	25	27	32	28	25	28	26	30	21
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

	Eam	Cfr	Cfr	Cfr	Ps1	Prov	Sal	Sal	Esa	Esa	Esa	Esa	Esa	Sfo
AM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CZ	0	0	0	9	0	34	0	0	0	0	0	0	0	10
	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
FA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CT	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CTX	28	35	28	30	28	31	0	22	28	36	26	28	35	32
	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
OFX	35	28	30	33	29	30	22	24	16	37	30	33	27	30
	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
MT	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K	21	14	22	17	13	24	22	11	18	17	28	25	28	16
	S	I	S	S	I	S	S	I	S	S	S	S	S	I
C	30	24	29	37	30	36	28	29	30	21	30	0	32	8
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	I
AMC	0	0	8	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IMP	0	0	0	32	25	23	25	30	25	0	0	0	0	32
	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S
Е	0	13	12	13	0	0	15	14	9	12	13	15	0	0
	R	I	I	I	R	R	I	I	I	I	I	I	R	R
OX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
VA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
L	0	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	4	11	0
	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	I	R
TOB	35	26	17	27	30	31	35	28	24	32	31	28	33	25
	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

	Cbr	Esc	Esc	Ksp	Ksp	Ksp	Ksp
AM	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R
CZ	0	21	26	0	0	0	0
	R	I	S	R	R	R	R
P	15	0	0	0	0	0	0
	I	R	R	R	R	R	R
FA	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R
CT	0	15	14	14	10	13	12
	R	I	I	I	I	I	I
CTX	35	33	30	24	29	30	26
	S	S	S	S	S	S	S
OFX	28	0	29	30	25	35	29
	S	R	S	S	S	S	S
MT	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R
K	25	0	20	0	25	0	0
	S	R	I	R	S	R	R
C	35	25	28	14	18	28	0
	S	S	S	I	S	S	R
AMC	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R
IMP	0	0	0	0	0	19	0
	R	R	R	R	R	I	R
Е	11	0	0				
	I	R	R	R	R	R	R
OX	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R
VA	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R
L	12	0	0	0	0	0	0
mc=	I	R	R	R	R	R	R
TOB	29	19	24	33	24	20	28
1	S	S	S	S	S	S	S
AX	0	0	0	0	0	0	0
	R	R	R	R	R	R	R

Tableau XXXVIII : Résultats de mesure des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* détectées, exprimés en millimètre.

	Pseudomonas	Pseudomonas	Pseudomonas	Pseudomonas
OX	0	0	0	0
	R	R	R	R
P	0	0	0	
	R	R	R	R
L	0	0	0	
	R	R	R	R
E	14	0	0	
	I	R	R	R
MT	0	0	0	
	R	R	R	R
AX	0	0	0	
	R	R	R	R
VA	0	0	0	
	R	R	R	R
OFX	20	22	27	24
	S	S	S	S
AMC	0	0	0	
	R	R	R	R
FA	0	0	0	
	R	R	R	R
K	9	9	15	17
	R	R	I	Ι
TCC	0	0	0	0
	R	R	R	R

Tableau XXXIX: Résultats de mesure des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus* détectées, exprimés en millimètre.

	Staphylococcus aureus	Staphylococcus aureus
P	13	20
	I	S
Е	15	30
	I	S
С	35 S 0 R 0	25
	S	S
FA	0	0
	R	R
AMC	0	0
	R	R
K	21	16
	S	I
OFX	30	26
	S	S
TCC	15	14
	I	I
MT	0	0
	R	R
VA	0	16
	R	I
OX	0	0
	R	R
AX	19	27
	S	S

Annexe I

* Appareillages et verreries

- Bain marie 80°C
- Bec Bunsen
- Boites de Pétri
- Etuves
- Glacière
- Pince stérile
- Pipettes Pasteur
- Portoir
- Réfrigérateur
- Tubes à essai

* Réactif, additifs et solution

- Eau physiologique stérile
- Eau de Javel
- Réactif kowacs
- TDA (Tryptophane désaminase)
- Alun de fer
- Sulfite de sodium
- Additif SFB
- **❖** Milieux de culture
- * Recherche des coliformes
- Bouillon lactosé au bromocrésol pourpre (BCPL, milieu simple et double concentration)

\checkmark	Peptone	5g
\checkmark	Extrait de viande	3g
\checkmark	Lactose	10g
\checkmark	Pourpre de bromocrésol	0,3g
\checkmark	Bacto agar difco	15g
✓	Eau distillée	1000ml

pH final = 6.9 ± 0.2

• Bouillon de Schubert en g/l d'eau distillée

Tryptophane	0,2g
Acide glutamique	0,2g
Sulfate de magnésium.	0,7g
Citrate de sodium.	0,5g
Sulfate d'ammonium	0,4g
Chlorure de sodium.	2g
Peptone	10g
Mannitol	7,5g
Phosphate disodique	4g
Phosphate monopotassique	0,6g
Eau distillée	500ml
	Acide glutamique. Sulfate de magnésium. Citrate de sodium. Sulfate d'ammonium. Chlorure de sodium. Peptone. Mannitol. Phosphate disodique. Phosphate monopotassique.

pH final = 7.4 ± 0.2

* Recherche des Streptocoques fécaux

• Milieu ROTHE (milieu simple concentration et double concentration) en g/l d'eau distillée

		milieu S/C	milieu D/C
✓	Hydrolysat trypsique de casaeine	12,6g	25,2g
\checkmark	Peptone bacteriologique	8 g	16g
\checkmark	Glucose	5g	10g
\checkmark	Chlorure de sodium	5g	10g
\checkmark	Phosphate dipotassique	2,7g	5,4g
\checkmark	Phosphate monopotassique	2,7g	5,4g
✓	Azide de sodium	0,2g	0,4g

pH final = 6.8 ± 0.2

• Milieu Litsky (EVA BROTH) en g/l d'eau distillée

\checkmark	Peptone	20g
\checkmark	Glucose	5g
	Chlorure de sodium	
\checkmark	Phosphate dipotassique	2,7g
\checkmark	Phosphate monopotassique	2,7g
\checkmark	Azothydrate de sodium	0,3g
\checkmark	Ethyl violet	5ml

	pH final= 6.8 ± 0.2	
•	Bouillon au sélénite de sodium cystéine SFB	
	✓ Lactose	4g
	✓ Tryptophane	5g
	✓ Phosphate disodique	10g
	✓ Sélénite de sodium	0,01g
	✓ L-Cystine	0,01g
	✓ Eau distillée	1000ml
	$pH = 7.2 \pm 0.2$	
•	Gélose Heckoten	
	✓ Peptone	12g
	✓ Extrait de viande	
	✓ Lactose	12g
	✓ Saccharose	12g
	✓ Salicine	2g
	✓ Citrate de fer III et d'ammonium	2g
	✓ Sels biliaires	9g
	✓ Fuchsine acide	0,1g
	✓ Bleu de bromothymol	0,065g
	✓ Agar	13g
	$pH = 7.6 \pm 0.2$	
•	Gélose Viande Foie (VF)	
	✓ Base viande foie	30g
	✓ Glucose	2g
	✓ Agar	6g
	✓ Eau distillée	1000ml
•	Gélose Chapman	
	/ Entwit do viou do	1
	✓ Extrait de viande	_
	✓ Peptone	_
	✓ Chlorure de sodium	•
	✓ Mannitol	•
	✓ Rouge de phénol	-
	✓ Gélose	159

	✓ Eau distillée	1000ml
	pH = 7,4	
•	• Bouillon cœur-cerveau (BHIB)	
	✓ Protéose-peptone	10g
	✓ Infusion de cervelle de veau.	12,5g
		5g
		2g
		5g
		um2,5g
	•	
•	• Eau peptonée alcaline (EPA)	
	1	20g
	✓ Chlorure de sodium	30g
	✓ Eau distillée pH= 8,6	1000ml
•	• Gélose nutritive alcaline et biliée (GNAB)
	✓ Peptone de viande	10g
	-	
		5g
	pH= 9	
•	• Gélose King A	
	✓ Peptone bacteriologique « A	»20g
		10g
		10g
	_	
	pH 7,2± 0,2 à	25°C
•	• Gélose King B	
	✓ Peptone bactériologique « B	»20g
		10ml
	•	ssium (K ₂ HPO ₄)

	✓ Sulfate de magnésium hydraté (MgSO ₄ 7H ₂ O)	=
	✓ Agar purifié	12g
	pH 7,2 ± 0,2 à 25°C	
•	Gélose au Cétrimide	
	✓ Peptone de gélatine	16g
	✓ Peptone de caséine	10g
	✓ Bromure de tétradonium (cétrimide)	0,2g
	✓ Acide nalidixique	0,015g
	✓ Sulfate de potassium	10g
	✓ Chlorure de magnésium	0,4g
	✓ Agar	10g
	pH= 7,1	
•	Gélose Mueller-Hinton	
	✓ Infusion de viande de bœuf	300ml
	✓ Peptone de casaeine	17,5g
	✓ Amidon de mais	1,5g
	✓ Agar	
	pH= 7,4	

Annexe II

Tableau I : Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau. (**Leclerc et al., 1982**).

Microorganismes	Pathologie	Origine de contamination
Aeromonas spp	GE et syndromes	I
	cholériques.	
Campylobacter jejuni	GE	I
Campylobacter coli		
Clostridium perfringens	GE	I
<i>E.coli</i> entéropathogènes,	GE et syndromes	I
entérotoxiques, entéroinvasives	cholériformes.	
Legionella pneumophila	Pneumopathie, fièvre.	Inhalation d'aérosols
Leptospira spp.	Leptospiroses	C (baignade, eaux, aliments)
	ictérohémorragiques.	
Salmonella typhimurium	GE	I
Salmonella enteridis	Infection systémiques.	
Shigella dysenteriae	GE et dysenterie.	I
<i>Shigella</i> sp	GE	C (baignades)
Staphylococcus aureus	Infections cutanées	С
	suppuratives.	
Vibrio cholerae	GE et choléra	I (eaux et coquillages)
Yersinia enterolitica	GE	I

I: Contamination par ingestion d'eau.

C: Contamination par contact avec l'eau contaminée.

GE: gastro-entérites. **spp**: Divers espèces.

 Tableau XXVIII : Table de N.P.P (table de Mac Grady).

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur		NPP	Limites de confiance à 95%		
3 tubes de 10 ml	3 tubes de 1 ml	3 tubes de 0,1 ml	dans 100 ml	Limite inférieure	Limite supérieure
0	0	1	3	< 0,5	9
0	1	0	3	< 0,5	13
1	0	0	4	< 0,5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800
3	3	3	1400	1	1

Tableau XXIX : table de lecture de la galerie Api $20\,\mathrm{E}$.

Tests	Reactions/Enzymes	Résultats négatifs	Résultats positifs
ONPG	B-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_2S	H ₂ S production	Incolore/ grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urease	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane desaminase	TDA/ immédiat	
		Jaune	Marron- rougeâtre
IND	Indole production	James/ Immédiat	
	Incolore	Vert-pâle / jaune	Rose
VP	Acetoin production	VP 1 + VP 2 / 10 min	
		Incolore	Rose/ rouge
GEL	Gelatinase	Aucune diffusion	Diffusion du pigment noir
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	Rhamose fermentation/ oxydation		
SAC	Sucrose fermentation/ oxydation		
MEL	Melibiose fermentation/ oxydation		
AMY	Amygdalin fermentation/ oxydation		
ARA	Arabinose		

Tableau XXX: Noms, abréviations et charge d'antibiotiques utilisés.

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques	Abréviation	Charge du disque
	Ampécilline	AM	10 μg
	Amoxicilline	AX	10 μg
β – lactamines	Amoxicilline + acide	AMC	$20 + 10 \mu g$
	clavulanique		
	Céfazoline	CZ	30 μg
	Céfotaxime	CTX	30 μg
	Imipéneme	IMP	10 μg
	Oxacilline	OX	10 μg
	Péncilline G	P	10μg
	Ticarcicline + acide	TCC	$75 + 10 \mu g$
	clavulanique		
Aminosides	Kanamycine	K	30 μg
	Tobramycine	TOB	10 μg
Quinolone	Ofloxacine	OFX	5 μg
Phénicole	Chloramphénicol	C	30 μg
Macrolides	Erythromycine	E	15µg
	Lincomycine	L	15 μg
Polypeptide	Colistine	CT	25μg
	Acide fusidique	FA	10µg
Divers	Metronidazole	MT	5 μg
	Vancomycine	VA	30 μg

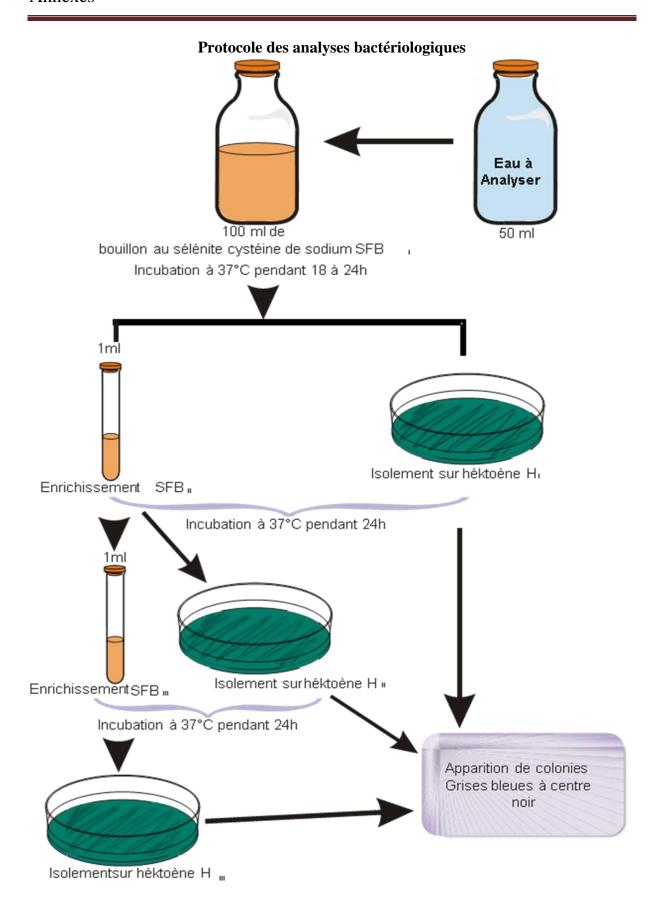
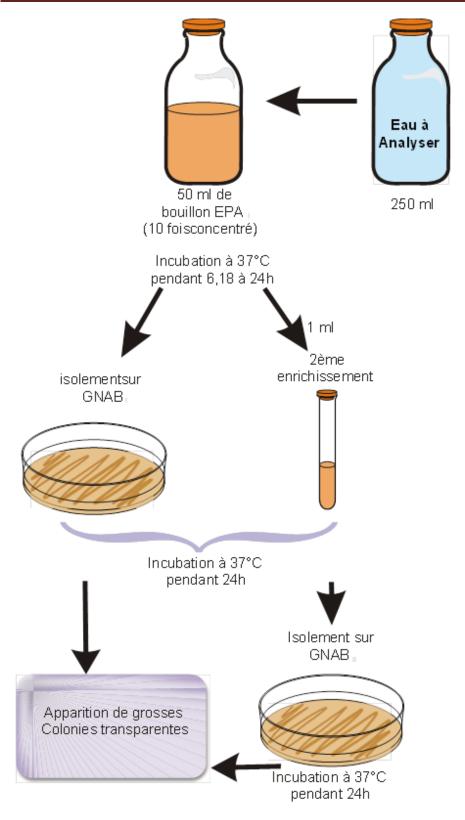


Figure 49: Recherche des Salmonelles



Recherche de Vibrion cholérique

Figure 50 : Recherche des Vibrions cholériques

Tableau XXXI: Normes microbiologiques des rejets des eaux usées (O.M.S, 2006)

Microorganismes	Concentration (en nombre par litre)
Bactéries	
 Coliformes totaux E.coli Entérocoques Salmonelles Vibrio cholériques 	$10^{3}-10^{7}$ $10-10^{6}$ $10-10^{5}$ $0-10$ $0-10$