



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE  
ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie générale et biologie moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

**Evaluation Bactériologique des eaux usées  
hospitalières du CHU de Constantine prélevées à  
partir de la station de relevage Sidi M'cid**

Présenté et soutenu par :

Bessila Chaima – Meghraoui Rayene

Soutenu le : 27/06/2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme Bouzraib Latifa (MAA- UFM Constantine)

Rapporteur : Dr. Boubekri Karima (MCA- UFM Constantine)

Examinatrice : Melle Abdelaziz Widad (MAA-UFM Constantine)

Année universitaire  
2017-2018

## *Remerciements*

*Nous remercions tout d'abord Allah qui nous a donné la santé, l'esprit, le courage et le savoir.*

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude et nos respectueux remerciements à notre encadreur Dr. **BOUBEKRI K** pour avoir nos encadrées, orientées, aidées et conseillées, et n'oublions jamais ses critiques bénéfiques afin de nous diriger vers un esprit scientifique.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les professeurs, responsables et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs conseils ont guidé nos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et répondre à nos questions durant la recherche.*

*Nous remercions vivement Mme **BOUZERAIB L** d'avoir accepté de présider le jury et également Melle **ABDELAZIZ W** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nos vifs remerciements vont à Melle **FERGANI Mounia** responsable du laboratoire de microbiologie N°14 de la Faculté et son équipe, qui nous ont beaucoup facilité la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier madame la directrice de la station d'épuration de Hamma Bouziane Mme **BOUROUBI** et Monsieur Rida.*

*Enfin, tous nos remerciements à nos très chers parents, nos amis, nos camarades ainsi que tous ceux qui nous ont toujours soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire :*

*À la plus belle femme sur terre, à cette source d'amour de tendresse, de  
patience*

*À ma mère !*

*À mon cher papa que Dieu le protège.*

*À tous mes frères et sœurs, et à toute ma famille.*

*À la petite AYA et à ma tante KHEIRA.*

*À mon binôme de travail ma chère RAYEN.*

*À tous mes amis et collègues*

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer.*

**CHAIMA**

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À mes très chers parents, que Dieu les garde et les protège.*

*À mes amies, surtout Sakina et Nasrou.*

*À mon cher oncle Abed El Waheb.*

*À toute la famille Meghraoui et Kifouche.*

*À mon binôme de travail ma chère Chaima.*

*À toute mes amies : Rokja, Saida, Sara, Amira, Hadjer, Sara, Rayhana,  
Chahinez, Rania et Marwa.*

*Sans oublier Meryouma et Noudjoud .*

*Rayene*

**Table des matières**

<b>Liste des abréviations</b> .....	iii
<b>Liste des figures</b> .....	vi
<b>Liste des tableaux</b> .....	viii
<b>Introduction</b> .....	01
<b>Recherche bibliographique</b> .....	03
I. Les eaux usées hospitalières.....	03
1. Définition.....	03
2. Les types des eaux usées.....	03
1.1. Les eaux usées domestique.....	03
1.2. Les eaux industrielles.....	03
1.3. Rejets de nature spécifiques à l'hôpital.....	03
1.3.1 Rejets spécifiques à certains soins.....	04
3. Les caractéristiques des effluents hospitaliers.....	04
2.1. Composition chimique.....	05
2.2. Caractéristiques Microbiologiques.....	06
2.3. Caractéristiques physicochimiques.....	06
3. Les risques liés aux eaux usées des hôpitaux.....	08
3.1. Le risque sanitaire.....	08
4. Le risque écologique.....	09
4.1. Le risque de contamination des écosystèmes aquatiques.....	09
II. Les déchets d'activités de soins et législations en Algérie.....	12
1. les déchets anatomiques.....	12
2. les déchets infectieux.....	12
3. les déchets toxiques.....	12
III. Traitement des eaux usées hospitalières.....	18
1. Traitement classique.....	18
2. Traitement en Algérie.....	21
3. Traitement par un nouveau procédé.....	26
<b>Matériel et méthodes</b> .....	29
1. Cadre d'étude.....	29
2. Echantillonnage des eaux usées hospitalières.....	30

3. Isolement des bactéries.....	32
4. Examen macroscopique et microscopique.....	33
4.1. Coloration de Gram.....	33
4.2. Test KOH.....	34
4.3. Coloration de spore.....	34
5. Tests biochimique.....	35
5.1 Test de l'oxydase.....	35
5.2 Test de catalase.....	36
5.3 Test de mannitol mobilité.....	36
5.4. Milieux sélectifs.....	36
6. La galerie API 20 E.....	37
7. Test de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).....	38
<b>Résultats et Discussion.....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>66</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>68</b>
<b>Annexe</b>	
<b>Résumés</b>	

## Liste des abréviations

- ADH** : Arginine Dihydrolase
- AMY** : Amygdaline
- API** : Appareillage et Procédé d'Identification.
- ARA** : Arabinose.
- ATB** : Antibiotique.
- CHU** : Centre hospitalo-universitaire.
- CIT** : Citrate de Simmons
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice.
- DBO5** : Demande Biochimique en Oxygène après incubation durant 5 jours à 20 °C.
- DCO** : Demande Chimique en Oxygène.
- FTAM** : Flore totale aérobie mésophile.
- GEL** : Gélatinase
- Gélose BCP** : Gélose lactosée au pourpre de bromocrésol.
- GN** : Gélose nutritive.
- GLU** : Glucose
- H<sub>2</sub>S** : Sulfure dihydrogène
- IND** : Indole
- INO** : Inositol
- LDC** : Lysine Décarboxylase.
- MAN** : Mannitol.
- MBR** : Bioréacteur à membrane.
- MEL** : Mélibiose
- MES** : Matières en suspensions.
- MVS** : Matières volatiles en suspensions.
- NO<sub>2</sub>** : Nitrite.
- N<sub>2</sub>** : Azote.
- ODC** : Ornithine décarboxylase.
- ONPG** : Ortho-Nitro-phényl-Galactoside.
- RHA** : Rhamnose.
- SAC** : Saccharose.

**SOR** : Sorbitol.

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**VP** : Voges-Proskauer.

**URE** : Uréase.

## Liste des Figures

<b>Figure 01:</b> la séparation physique des solides et des graisses des eaux usées par un clarificateur primaire.....	19
<b>Figure 02:</b> Fonctionnement d'un lit bactérien .....	20
<b>Figure 03:</b> un dégrilleur mécanique.....	22
<b>Figure 04:</b> des pompes submersibles .....	23
<b>Figure 05:</b> Un Dessableur.....	23
<b>Figure 06:</b> Épuration biologique aérobie.....	24
<b>Figure 07:</b> Un Clarificateur circulaire.....	25
<b>Figure 08:</b> Déshydratation des boues.....	26
<b>Figure 09:</b> Schéma des deux types de bioréacteurs à membrane .....	28
<b>Figure 10:</b> L'emplacement du CHU Dr. Benbadis Constantine par rapport à la station de relevage.....	29
<b>Figure 11:</b> Site de prélèvement (a, b) à la station de relevage (flèche rouge) Sidi M'cid.....	31
<b>Figure 12:</b> Prélèvement des échantillons au niveau de l'écoulement du tuyau d'évacuation de la station de relevage du CHU Dr. Benbadis Constantine.....	32
<b>Figure 13:</b> Les deux boites de Pétri avec les filtres à membrane.....	33
<b>Figure 14:</b> Filtration par le système de filtration Wheaton,USA.....	34
<b>Figure 15:</b> Aspect des colonies sur BCP après la filtration sur membrane .....	40
<b>Figure 16:</b> L'observation microscopique (X 100) après coloration de Gram .....	43
<b>Figure 17:</b> Test de Mannitol Mobilité.....	44
<b>Figure 18:</b> purification des souches sur la gélose BCP.....	44
<b>Figure 19:</b> Profil sur API 20E de la souche MB2.....	46
<b>Figure 20:</b> Profil sur API 20E de la souche MB4.....	46
<b>Figure 21:</b> Profil sur API 20E de la souche MB5.....	47
<b>Figure 22:</b> Profil sur API 20E de la souche MB1.....	47
<b>Figure 23:</b> Profil sur API 20E de la souche MB6 .....	47
<b>Figure 24:</b> l'aspect des colonies sur GN et après la coloration de Gram .....	48
<b>Figure 25 :</b> L'observation microscopique de la souche MB7 (X 100) après coloration de Gram.....	49

<b>Figure 26:</b> l'aspect de la souche MB 12 sur GN et après la coloration de Gram.....	49
<b>Figure 27:</b> Profil sur API 20E de la souche MB12.....	50
<b>Figure 28:</b> Profil sur API 20E de la souche MB11.....	50
<b>Figure 29 :</b> L'observation microscopique de la souche MB15 (X 100) après coloration de Gram.....	50
<b>Figure 30 :</b> Résultat du test catalase.....	51
<b>Figure 31:</b> Révélation du test d'oxydase.....	51
<b>Figure 32 :</b> Clés dichotomiques de différenciation des bacilles à Gram positif.....	52
<b>Figure 33:</b> Clés dichotomiques de différenciation des bacilles à Gram négatif.....	53
<b>Figure 34:</b> Clés dichotomiques de différenciation des Cocci à Gram positif.....	54
<b>Figure 35 :</b> Pourcentage de bactéries présentes dans les eaux usées.....	55
<b>Figure 36:</b> L'antibiogramme de <i>Staphylococcus</i> sp.....	58
<b>Figure 37:</b> L'antibiogramme d' <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	59
<b>Figure 38:</b> L'antibiogramme de la souche <i>Serratia ficaria</i> .....	60
<b>Figure 39:</b> L'antibiogramme de <i>Pseudomonas</i> sp.....	60
<b>Figure 40:</b> L'antibiogramme de <i>Corynebacterium</i> sp.....	61
<b>Figure 41:</b> L'antibiogramme de <i>Streptococcus</i> sp.....	62
<b>Figure 42:</b> L'antibiogramme de <i>Bacillus</i> sp.....	62
<b>Figure 43:</b> l'antibiogramme d' <i>Aeromonas</i> sp.....	63
<b>Figure 44:</b> l'antibiogramme de la souche <i>Micrococcus</i> sp.....	64

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01:</b> Exemples d'infections pouvant être causée par des déchets Médicaux dangereux.....	7
<b>Tableau 02:</b> les prescriptions relatives au traitement et à l'élimination des déchets d'activités de soins .....	13
<b>Tableau 03:</b> La nomenclature des déchets soins en Algérie.....	16
<b>Tableau 04:</b> Les antibiotiques testés classés selon leurs familles.....	39
<b>Tableau 05:</b> Descriptions Macroscopique et Microscopique des souches étudiées ...	41
<b>Tableau 06:</b> Les résultats des tests biochimiques des bacilles à Gram négatif.....	45
<b>Tableau 7 :</b> Identification présomptif des souches étudiées.....	55
<b>Tableau 08:</b> les profils de résistance des souches caractérisées.....	56

# *Introduction*

## **Introduction**

Les effluents hospitaliers sont des eaux polluées produites par différentes unités médicales. Elles sont représentées par les rejets domestiques, chimiques, radioactifs, les rejets des laboratoires, les rejets des pharmacies, les rejets des salles de soins. Ces différentes sources donnent finalement naissance à des rejets liquides hybrides, à la fois domestiques et industriels très spécifiques des activités de soins et de recherches médicales (Emmanuel, 2004).

De nombreux contaminants biologiques et chimiques de quantités non négligeables sont transportés par les eaux usées hospitalières tel que les virus et les bactéries, les composés perturbateurs endocriniens, les radioéléments, des produits pharmaceutiques résiduels, et des résidus actifs de produits d'hygiène et autres molécules (Kümmerer, 2001; Qadir et Scott, 2011). Certaines de ces substances ont tendance à persister même après un traitement avancé des eaux usées par les stations d'épurations, et peuvent contribuer largement à la dissémination des bactéries et gènes résistants aux antimicrobiens.

Les stations d'épuration municipales ne sont pas conçues pour traiter les déchets médicaux et biologiques. Dans ce contexte, la problématique des rejets d'effluents hospitaliers devient de plus en plus importante (Boillot, 2008).

Seuls quelques pays industrialisés recommandent le traitement primaire des effluents hospitaliers avant leur rejet dans le flux d'eaux usées principal qui conduit aux stations d'épuration municipales. Par ailleurs, dans de nombreux pays en développement, les effluents liquides hospitaliers générés par les communautés sont rejetés directement dans le milieu récepteur (les cours d'eau ou les sols) le plus souvent sans aucun traitement au préalable (Emmanuel, 2004).

En Algérie, les eaux usées des hôpitaux sont généralement évacuées vers les réseaux d'assainissement sans traitement préalable, ce qui provoque un risque potentiel pour l'homme et l'environnement. Ceci soulève la nécessité de réaliser des études sur la qualité des eaux usées hospitalières à la source, sans traitement préalable.

Le Centre Hospitalo-universitaire Dr. BENBADIS est parmi les établissements les plus importants de santé publique de toute la wilaya de Constantine, ainsi qu'il fait partie des plus grandes structures sanitaires de l'Algérie. Le CHU s'étend sur une superficie de 13 hectares, (dont 5 Ha de bâti), d'une capacité de 1427 lits technique et compte 51 services.

D'après la direction des moyens matériels de l'hôpital CHU de Constantine, il n'existe aucun traitement préalable concernant les effluents liquides hospitaliers. Ils sont collectés au

niveau de la station de relevage Sidi M'cid de Constantine. Les effluents collectés par les réseaux d'assainissement sont traités au niveau de la station d'épuration d'Ibn Ziad. Cette station d'épuration de type boue activée a une capacité nominale de traitement de 69.120 m<sup>3</sup>/j soit 450 000 EH (Equivalent habitants). La qualité du rejet des eaux usées traitées dans le milieu naturel est conforme aux normes en vigueur. Des projets sont programmés pour la réutilisation des eaux usées épurées en agriculture (Seaco, 2018)

Cette étude a pour objectifs :

- Recherche bibliographique sur les effluents hospitaliers, leurs effets sur la santé humaine et sur celle des écosystèmes, ainsi que les méthodes de traitements classiques utilisés en Algérie et les nouveaux procédés de traitement employés dans certains pays développés.
- Caractérisation et description bactériologique des eaux polluées générées par le CHU de Constantine et évaluation de la résistance et la sensibilité des isolats aux antibiotiques.

*Recherche*

*Bibliographique*

## II. Recherche Bibliographique

### I. Les eaux usées hospitalières

#### 1. Définition :

Les eaux usées hospitalières sont des rejets liquides des activités de soins composées à la fois de rejets domestiques et industriels spécifique à l'hôpital.

#### 1.1. Les eaux usées domestiques

Selon l'office National d'assainissement (l'ONA), les eaux usées domestiques proviennent des différents usages domestiques de l'eau. Elles sont essentiellement porteuses de pollution organique. Elles se répartissent en eaux ménagères, qui ont pour origine les salles de bains et les cuisines, et sont généralement chargées de détergents, de graisses, de solvants, de débris organiques, etc. et en eaux "vannes" ; il s'agit de rejets des toilettes, chargés de diverses matières organiques azotées et de germes fécaux.

#### 1.2. Les eaux industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures.

#### 1.3. Rejets de nature spécifique à l'hôpital

- Les rejets médicamenteux : Les médicaments utilisés dans les établissements de santé sont variés et représentent des quantités importantes. On peut citer à titre d'exemple, les analgésiques, les antipyrétiques, les antibiotiques, les antiviraux, le antifongiques (Darsy et *al.*, 2002).
- Les rejets contenant des métaux lourds : tels que le mercure issu de bris des thermomètres à mercure (qui tendent à disparaître) et argent issu du service de radiologie (Darsy et *al.*, 2002).

- les rejets des services médico-techniques : Les liquides provenant des salles d'opération ayant une forte concentration en matières organiques ou liquides biologiques tels que : sang, urines, selles, liquide gastrique, aspiration trachéo-bronchite, liquide d'épanchement péritonéal ou pleural, de drainage ou d'irrigation (Emmanuel, 2004).

### **1.3.1 Rejets spécifiques à certains soins :**

Certains services nécessitent l'utilisation de certains produits toxiques. C'est le cas :

- Service de l'hémodialyse (procédé lors duquel le sang du patient est épuré) qui rejette non seulement des toxines, mais également des produits chimiques (Formol, eau de Javel...), conséquence de la désinfection de l'appareil (Darsy et *al.*, 2002).
- Service de médecine nucléaire : ce service manipule des éléments radioactifs qui génèrent des déchets solides mais aussi des déchets liquides (Darsy et *al.*, 2002). Certains éléments radioactifs comme l'iode 131, et technétium 99m qui est l'isotope radioactif le plus utilisé dans le monde en imagerie scintigraphique sont susceptibles de dispersion, même si leur évacuation est soumise à réglementation (Boillot, 2008).
- Service de Laboratoires et de la pharmacie qui regroupent une très grande variété de molécules :
  - Biologique : sang, des crachats, des urines.
  - Chimique : des acides (acétique, lactique, citrique), des bases (soude, etc.), des solvants, des hydrocarbures benzéniques (toluène et xylène), des désinfectants (formol, alcool éthylique, eau de Javel), des colorants.
  - Des rejets provenant de la pharmacie (préparation de la teinture d'iode, désinfectants, etc.) (Boillot, 2008).

## **2. Les caractéristiques des effluents hospitaliers**

La démarche élaborée pour l'évaluation des dangers liés aux effluents hospitaliers, est basée sur une caractérisation de ces effluents en fonction de leur composition chimique (mesure de paramètres physiques et chimiques globaux et de polluants minéraux et organiques comme la recherche du chlore et de métaux lourds qui donne une idée plus précise sur le type de pollution engendrée par les effluents hospitaliers) ; de leur

caractérisation microbiologique ;de leur caractérisation écotoxicologique et de leur caractérisation physico-chimique (Evens et *al.*, 2004).

## **2.1. Composition chimique :**

**2.1.1. Paramètres physiques :** s'intéresse sur l'étude de la couleur et l'odeur, de la turbidité, la température, la conductivité...

**2.1.2. Paramètres chimiques :** il s'agit de la mesure des paramètres globaux comme la DBO5, la DCO, MES, Azote, etc. ( Moussaoui, 2016).

### **a. Demande biochimique en oxygène DBO :**

C'est la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes vivants pour assurer l'oxydation et la stabilisation des matières organiques présentes dans l'eau usée. C'est un paramètre qui permet d'évaluer la fraction de la pollution organique biodégradable (Vandevenne, 1982). La mesure de la DBO5 (Demande Biochimique en Oxygène après incubation durant 5 jours à 20°C) permet d'étudier le comportement d'une charge organique ou d'un échantillon. L'augmentation de la DBO5 indique la baisse de l'oxygène dans l'eau ce qui fait disparaître toute vie aquatique (Moussaoui, 2016).

### **b. Demande chimique en oxygène DCO :**

Elle représente la quantité d'oxygène consommée par les matières existant dans l'eau usée et oxydables dans des conditions opératoires définies. En fait, la mesure correspond à une estimation des matières oxydables présentes dans l'eau usée, quelle que soit leur origine organique ou minérale (Rodier et *al.*, 2005).

### **c. Matières en suspensions (MES) :**

C'est la quantité des matières solides (organiques et minérales) non dissoutes dans l'eau, et se subdivisent en deux catégories :

- Les matières totales en suspensions : obtenues après évaporation à 105°C (en étuve).Le poids du résidu sec obtenu représentera la teneur en MES ramenée au litre d'eau.

- Les matières volatiles (MVS) en suspensions : représentent la fraction organique des solides contenue dans l'eau. Après calcination (dans le four) à 600°C (Moussaoui, 2006).

**d. Les matières azotées :**

Les formes de l'azote dans les eaux usées sont différentes comme l'azote total, les nitrates ( $\text{NO}_3$ ) et les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ). En plus de la toxicité de la forme ammoniacale et nitrique l'azote intervient dans le phénomène de l'eutrophisation. Sa caractérisation et sa quantification sont primordiales pour les rejets liquides dans le milieu naturel (Deronzier et *al.*, 2001).

**2.2 Caractéristiques microbiologiques :**

Les eaux usées des hôpitaux contiennent deux à dix fois plus de bactéries résistantes aux antibiotiques que les eaux domestiques. Ce phénomène contribue à l'émergence et à la propagation de pathogènes. Les bactéries sont moins résistantes que les virus. Cependant, très peu de choses sont connues sur la survie des prions et des agents de maladies neurologiques dégénératives (Creutzfeldt-Jakob, Kuru, etc.) qui semblent être plus résistants que les virus (Cicr, 2011).

Le tableau ci-dessous (1) résume les infections pouvant être causées par les déchets médicaux contenus dans les effluents hospitaliers.

**2.3 Caractéristiques physico-chimiques :**

La caractérisation physico-chimique des eaux usées de l'hôpital indique la présence des molécules chlorées en concentrations élevées, et aussi la présence de métaux lourds en particulier le mercure et l'argent (Emmanuel, 2004).

Des composés organiques volatils, semi volatils et des métaux lourds sont considérés comme des polluants prioritaires contenus dans les effluents hospitaliers :

- Des composés organiques volatils : le benzène, le bromodichlorométhane, le Chloroforme, le toluène et le 1,1dichlorométhane.
- des composés organiques semi-volatils : le phénol et le 4-nitrophénol.
- des métaux lourds : le chrome, le cuivre, le plomb, le mercure, l'argent et le zinc... (Boillot, 2008).

**Tableau 1.** Exemples d'infections pouvant être causée par des déchets médicaux dangereux (Cicr, 2011).

Type d'infection	Agent causal	Vecteur de transmission
<b>Infections gastro-entériques</b>	Entérobactéries ( <i>Salmonella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Shigella</i> , etc.)	Fèces, vomissures
<b>Infections respiratoires</b>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère), virus de la rougeole	Sécrétions inhalées, salive
<b>Infections oculaires</b>	Virus de l'herpès	Sécrétions des yeux
<b>Infections cutanées</b>	<i>Streptococcus</i>	Pus
<b>Charbon bactérien</b> (anthrax en anglais)	<i>Bacillus anthracis</i>	Sécrétions cutanées
<b>Méningite</b>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Liquide céphalo-rachidien
<b>Sida</b>	Virus de l'immunodéficience humaine	Sang, sécrétions sexuelles, autres liquides biologiques
<b>Fièvres hémorragiques</b>	Virus Lassa, Ebola, Marburg, Junin	Sang et sécrétions
<b>Hépatite virale A</b>	Virus de l'hépatite A	Fèces
<b>Hépatites virales B et C</b>	Virus de l'hépatite B et C	Sang et autres liquides biologiques
<b>Grippe aviaire</b>	Virus H5N1	Sang, fèces

- Le mercure (Hg) : Le mercure est à l'origine de maladies spéciales qui affectent généralement le système nerveux. Il est considéré comme un polluant dans les effluents à cause son effet sur l'inhibition du métabolisme des microorganismes aquatiques (Narsis, 2012).
- La plomb (Pb) : il provoque un dysfonctionnement neurologique et rénal sur la santé humaine. Une fois dans l'eau, le plomb affecte les organismes aquatiques (Narsis, 2012).
- Le zinc (Zn) : Le zinc augmente l'acidité des eaux usées et provoque différents effets sur la santé humaine, y compris l'irritation de la peau, crampes d'estomac, anémie, endommagement du pancréas et perturbation du métabolisme de protéines (Narsis, 2012).

### **3. Les risques liés aux eaux usées des hôpitaux :**

Plusieurs études démontrent que les principaux effets des substances dangereux de l'hôpital (des résidus pharmaceutiques, des substances chimiques dangereuses, des agents pathogènes, des radio-isotopes...) qui ne peuvent être neutralisés par les usines de traitement des eaux usées, peuvent représenter un risque pour l'environnement et la santé publique (Darsy et *al.*, 2002)

#### **3.1. Le risque sanitaire :**

Les eaux usées hospitalières sont susceptibles d'être renfermer une grande variété d'agents pathogènes pour l'homme.

##### **3.1.1. Le risque infectieux:**

Les eaux des toilettes et des salles de bain des patients malades sont responsables le plus souvent à des infections urinaires et pulmonaires dues à la présence des bactéries dans les selles ou dans les urines (*Salmonelles, Shigella, Coliformes, Vibrions, Streptocoques, Entérobactéries...*), et des autres bactéries responsables à des infections nosocomiales (*Staphylocoques, Streptocoques, Pseudomonas...*). Toutes ces bactéries sont dangereuses car elles acquièrent une résistance aux antibiotiques (Darsy et *al.*, 2002).

Les agents infectieux strictement pathogènes sont responsables d'infections contagieuses. Ils proviennent des patients atteints de tuberculose, varicelle, infections à méningocoques, salmonelloses ou sida (Darsy et *al.*, 2002).

##### **3.1.2 Le risque toxique :**

Il concerne l'environnement et la santé humaine, les eaux hospitalières peuvent être contaminées par des métaux lourds et par des molécules organiques (solvants, antibiotiques, désinfectants, détergents, médicaments...). Le problème majeur concerne surtout les médicaments anticancéreux qui présentent des risques mutagènes et tératogènes importants (tératogène: qui provoque des malformations congénitales (végétaux ou animaux) anormaux) (Darsy et *al.*, 2002).

#### **4. Le risque écologique :**

C'est le risque de contamination du milieu environnemental par des microorganismes pathogènes ou autres produits toxiques. Le rejet des liquides médicaux vers le réseau d'assainissement sans aucun traitement préalable est la cause de problèmes majeurs posé par les effluents hospitaliers, au même titre que les eaux usées classiques urbains, vers le réseau d'assainissement sans aucun traitement préalable. Le dosage des polluants d'origine hospitalière montre que certaines substances, particulièrement les composés organohalogénés et les résidus de médicaments, quittent le plus souvent les stations d'épuration avec peu de dégradation ce qui provoque la pollution du milieu naturel entraînant un déséquilibre biologique (Emmanuel, 2004).

##### **4.1. Le risque de contamination des écosystèmes aquatiques :**

La contamination des écosystèmes aquatiques naturels par les eaux usées hospitalières est un problème majeur en matière d'environnement et de santé humaine. Les désinfectants, les détergents, les produits pharmaceutiques, les radionucléides et les solvants sont largement utilisés dans les hôpitaux à des fins médicales et de recherche (Carraro *et al.*, 2016).

Dans certains pays en développement notamment l'Algérie, le Mexique, les hôpitaux rejettent généralement leurs eaux usées dans des fosses septiques équipées de puits de diffusion.

Le rejet de composés chimiques des activités hospitalières dans l'environnement naturel peut entraîner la pollution des ressources en eau et des risques pour la santé humaine (Carraro *et al.*, 2016).

Certaines études ont permis de confirmer la toxicité élevée des effluents hospitaliers et d'élaborer des hypothèses de travail quant à la provenance de cette toxicité. L'hypothèse la plus retenue est celle portant sur la présence de rejets contenant des produits désinfectants, détergents (Emmanuel, 2004).

##### **a) Les désinfectants :**

Les désinfectants sont des produits très largement utilisés dans les hôpitaux, l'industrie et les foyers domestiques, soit en tant que tels, soit comme composants de produits cosmétiques (mousse à raser par exemple). L'utilisation des désinfectants en milieu hospitalier est très diversifiée (désinfection des surfaces, de l'instrumentation, de la peau (antiseptiques), des cuisines, etc.) (Boillot, 2008).

Il existe différentes classifications des désinfectants, parmi les désinfectants les plus employés dans les hôpitaux on peut citer :

❖ **Les produits chlorés :**

L'eau de Javel et les autres hypochlorites sont les désinfectants les plus utilisés dans les hôpitaux. Ils appartiennent à la famille des halogènes et agissent en oxydant les acides aminés aromatiques des protéines, ce qui induit l'inhibition de certaines enzymes et une modification des protéines structurelles (Boillot, 2008).

❖ **les produits contenant des aldéhydes et dérivés :**

Les principaux produits désinfectants qui font partie de cette catégorie sont : le Formaldéhyde ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), le glutaraldéhyde ( $\text{CHO}-3(\text{CH}_2)-\text{CHO}$ ), et l'aldéhyde succinique. L'ensemble de ces produits est bactéricide à des concentrations élevées sur les bactéries Gram-(Québec (Province) et *al.*, 2009).

❖ **les sels ammoniums quaternaires :**

Ils ont à la fois un pouvoir détergent et un pouvoir désinfectant (Emmanuel, 2004).

❖ **les dérivés phénoliques :**

Une molécule de phénol peut servir de base à la création de divers désinfectants dont les phénols halogénés utilisés comme agents antimicrobiens, par exemple le chlorophénol(Québec (Province) et *al.*, 2009).

❖ **les produits à base d'alcool :**

Parmi les différents types d'alcools les plus utilisés, on trouve les molécules d'éthanol (alcool éthylique) et d'isopropanol (alcool isopropylique appelé alcool à friction) (Québec (Province) et *al.*, 2009).

❖ **l'acide péracétique—  $\text{CH}_3\text{-COOOH}$  (Emmanuel, 2004).**

**b) Les détergents :**

Un détergent est un produit servant à « décoller la saleté » par une action physique et chimique. Les principaux détergents sont : les détergents anioniques, les détergents cationiques et les détergents non ioniques (Emmanuel, 2004).

❖ **Les détergents anioniques :**

Sont l'ensemble des agents tensio-actifs solubles dans l'eau et présentant un groupe hydrophile à caractère anionique. Un agent tensioactif est un corps qui, même aux concentrations les plus faibles, a une action sur l'énergie superficielle de son solvant. Ces détergents sont les, hydrates de carbone terminés par un prolongement très variable de composition mais présentant toujours un caractère anionique (Armangau, 1967).

❖ **Les détergents cationiques :**

Ce sont des ammoniums quaternaires, en raison de leur pouvoir détergent, ils entrent dans la composition de nombreux produits détergents-désinfectants, et en contacte avec des détergents non ioniques pour la prédésinfection des dispositifs médicaux (Québec (Province) et *al.*, 2009).

❖ **Les détergents non ioniques :**

Ces détergents sont les plus utilisés à cause de leur bonne tolérance cutanée qu'ils présentent, si la chaîne carbonée est linéaire, les enzymes naturelles assurent beaucoup plus facilement la biodégradabilité du composé que si cette chaîne est ramifiée (Emmanuel, 2004).

## **II. Les déchets d'activités de soins et législations en Algérie**

Le monde génère de plus en plus de déchets ; les hôpitaux et les centres de santé ne font pas exception. La gestion des déchets générés par les services de santé est complexe. Elle doit être bien comprise et prise en compte par toutes les personnes travaillant dans les établissements de santé, du personnel chargé du nettoyage aux administrateurs. L'élimination de ces déchets mobilise l'opinion et les pouvoirs publics (Cicr, 2011).

En Algérie, le décret exécutif n° 2003-478 du 15 Chaoual 1424 correspondant au 9 décembre 2003 définit les modalités de gestion des déchets d'activités de soins. Le chapitre I de cette législation décrit les catégories de déchets d'activités de soins comme suit :

Les déchets d'activités de soins sont classés en trois catégories:

**1. les déchets anatomiques :** Se sont tous les déchets anatomiques et biopsiques humains issus des blocs opératoires et des salles

**2. les déchets infectieux :** Sont qualifiés de déchets infectieux, les déchets contenant des microorganismes ou leurs toxines, susceptibles d'affecter la santé humaine.

**3. les déchets toxique :** Sont qualifiés de déchets toxiques, les déchets constitués par:

- les déchets résidus et produits périmés des produits pharmaceutiques, chimiques et de laboratoire;
- les déchets contenant de fortes concentrations en métaux lourds;
- les acides, les huiles usagées et les solvants.

Le tableau(2) résume les prescriptions relatives au traitement et à l'élimination des déchets d'activités de soins en Algérie.

La nomenclature des déchets, y compris les déchets spéciaux dangereux et la classification systémique des déchets sont fixés par le décret exécutif n° 06-104 du 29 Muharram 1427correspondant au 28 février 2006. Les déchets provenant des soins médicaux ou vétérinaires et/ou de la recherche associée (sauf déchets de cuisine et de restauration ne provenant pas directement des soins médicaux) sont référencés enregistrés sous le code 18 (Tableau 2).

**Tableau 2:** les prescriptions relatives au traitement et à l'élimination des déchets d'activités de soins (partie 1).

La section	le décret exécutif n° 2003-478
<p><b>Section 1 :</b> Des prescriptions générales</p>	<p><b>Art. 13.</b> - Les déchets d'activités de soins doivent être triés à la source, de façon à ce qu'ils ne soient ni mélangés aux déchets ménagers et assimilés, ni mélangés entre eux.</p> <p><b>Art. 14.</b> - Le compactage des déchets d'activités de soins est interdit.</p> <p><b>Art. 15.</b> - Une fois pleins au deux tiers, les sachets de pré collecte des déchets d'activités de soins, prévus par les articles 6, 9 et 11 ci-dessus, doivent être solidement fermés et mis dans des conteneurs rigides et munis de couvercle, et expédiés vers les locaux de regroupement.</p> <p><b>Art. 16.</b> - Les conteneurs doivent être de la même couleur que les Sachets de pré-collecte, et comporter la mention de la nature du déchet de façon aisément lisible. Une fois pleins, ils doivent être transférés dans le local de regroupement, en vue de leur enlèvement pour traitement.</p> <p><b>Art. 17.</b> - Les conteneurs ayant servi à la collecte et au transport des déchets d'activités de soins sont obligatoirement soumis au nettoyage et à la décontamination après chaque utilisation.</p>
<p><b>Section 2 :</b> Des prescriptions relatives aux locaux de regroupement</p>	<p><b>Art. 18.</b> - Les déchets d'activités de soins ne doivent en aucun cas être déposés en dehors des locaux de regroupement.</p> <p><b>Art. 19.</b> - Les locaux de regroupement doivent être réservés uniquement à l'entreposage des déchets d'activités de soins. Ils doivent être ventilés, éclairés, à l'abri des intempéries et de la chaleur, dotés d'arrivée d'eau et d'évacuation des eaux usées, être nettoyés après chaque enlèvement et être désinfectés périodiquement.</p>

**Tableau 2:** les prescriptions relatives au traitement et à l'élimination des déchets d'activités de soins (Partie 2).

La section	le décret exécutif n° 2003-478
	<p><b>Art. 20.</b> - Les locaux de regroupement doivent être fermés et gardés afin d'éviter l'accès de toute personne non autorisée. Une inscription mentionnant l'usage du local est apposée, de manière apparente, sur la porte.</p> <p><b>Art. 21.</b> - La durée de stockage des déchets d'activités de soins dans les locaux de regroupement, avant leur enlèvement pour traitement, ne doit pas dépasser vingt-quatre heures (24 h) pour les établissements de santé possédant un incinérateur, et quarante-huit heures (48h) pour les établissements de santé ne possédant pas d'incinérateur.</p>
<p><b>Section 3 :</b> Des prescriptions relatives au traitement des déchets d'activités de soins</p>	<p><b>Art. 22.</b> - Les modalités de traitement des déchets anatomiques Sont fixées par arrêté conjoint des ministres chargés de l'environnement, de la santé, et des affaires religieuses.</p> <p><b>Art. 23.</b> - Les déchets toxiques sont traités dans les mêmes Conditions que les déchets spéciaux de même nature, et ce, conformément à la réglementation en vigueur.</p> <p><b>Art. 24.</b> - Les déchets d'activités de soins infectieux doivent être incinérés.</p> <p><b>Art. 25.</b> - L'incinération des déchets d'activités de soins infectieux est effectuée à l'intérieur de l'établissement de santé si celui-ci possède un incinérateur, ou à l'extérieur de l'établissement de santé: - dans un incinérateur desservant plusieurs établissements de santé; - dans une installation d'incinération relevant d'une entreprise spécialisée dans le traitement des déchets et dûment habilitée pour le traitement des déchets d'activités de soins.</p> <p><b>Art. 26.</b> - L'installation de traitement des déchets infectieux est soumise à une autorisation conformément aux dispositions de l'article 42 de la loi n° 2001-19 du 12 Ramadhan 1422 correspondant au 12 décembre 2001 susvisée.</p>

**Tableau 2:** les prescriptions relatives au traitement et à l'élimination des déchets d'activités de soins. (Partie 3)

La section	le décret exécutif n° 2003-478
	<p><b>Art. 27.</b> - Tout gestionnaire d'un établissement de santé qui confie les déchets d'activités de soins qu'il génère, en vue de leur traitement, doit le faire conformément aux dispositions de l'article 19 de la loi n° 2001-19 du 12 Ramadhan</p>
	<p>1422 correspondant au 12 décembre 2001, susvisée. Les frais de traitement des déchets d'activités de soins sont à la charge de l'établissement de santé qui les génère.</p> <p><b>Art. 28.</b> - Les déchets et résidus produits par les installations d'incinération doivent être éliminés conformément aux dispositions de la loi n° 2001-19 du 12 Ramadhan 1422 correspondant au 12 décembre 2001, susvisée.</p> <p><b>Art. 29.</b> - Lors de la manipulation des déchets d'activités de soins, le personnel chargé de la pré-collecte, de la collecte, du transport et du traitement, doit être muni de moyens de protection individuelle, résistants aux piqûres et coupures. Il doit être informé des risques encourus lors de la manipulation des déchets, et formé aux bonnes pratiques de manipulation de ceux-ci.</p>

**Tableau 3** : La nomenclature des déchets de soins en Algérie. (Partie 1)

Code du Déchet	Désignation du Déchet	Classe* du Déchet	Critères de dangerosité
<b>18</b>	Déchets provenant des soins médicaux ou vétérinaires et/ou de la recherche associée (sauf déchets de cuisine et de restauration ne provenant pas directement des soins médicaux)		
<b>18.1</b>	<i>Déchets provenant des maternités, du diagnostic, du traitement ou de la prévention des maladies de L'homme</i>		
18.1.1	Déchets piquants, coupants et tranchants	SD	Infectieuse
18.1.2	Déchets anatomiques et organes, y compris sacs de sang et réserves de sang (sauf rubrique 18.1.3)	S	
18.1.3	Déchets dont la collecte et l'élimination font l'objet de prescriptions particulières vis-à-vis des risques d'infection	SD	Toxique Infectieuse
18.1.4	Déchets dont la collecte et l'élimination ne font pas l'objet de prescriptions particulières vis-à-vis des risques d'infection (par exemple vêtements, plâtres, draps, vêtements jetables, langes)	S	
18.1.5	Produits chimiques à base de ou contenant des substances dangereuses	SD	toxique
18.1.6	Produits chimiques autres que ceux visés à la rubrique 18.1.5	S	
18.1.7	Médicaments cytotoxiques et cytostatiques	SD	Toxique cancérogène
18.1.8	Médicaments autres que ceux visés à la rubrique 18.1.7	S	
18.1.9	Déchets d'amalgame dentaire	SD	Toxique toxique vis-à-vis de la reproduction dangereuse pour l'environnement

\*; (S) spéciaux, (SD) spéciaux dangereux

**Tableau 3** : La nomenclature des déchets de soins en Algérie. (Partie 2)

Code du Déchet	Désignation du Déchet	Classe* du Déchet	Critères de dangerosité
18.1.9	Déchets non spécifiés		
<b>18.2</b>	<i>Déchets provenant de la recherche, du diagnostic, du traitement ou de la prévention des maladies des Animaux</i>		
18.2.1	Déchets piquants, coupants et tranchants	SD	Infectieuse
18.2.2	Déchets dont la collecte et l'élimination font l'objet de prescriptions particulières vis-à-vis des risques d'infection	SD	Toxique infectieuse
18.2.3	Déchets dont la collecte et l'élimination ne font pas l'objet de prescriptions particulières vis-à-vis des risques d'infection	S	
18.2.4	Produits chimiques à base de ou contenant des substances dangereuses	SD	Toxique
18.2.5	Produits chimiques autres que ceux visés à la rubrique 18.2.4	S	

\* ; (S) spéciaux, (SD) spéciaux dangereux

### **III. Traitement des eaux usées hospitalières**

#### **1. Traitement classique :**

Les eaux usées hospitalières sont constituées de divers composants potentiellement dangereux qui ont un impact négatif sur les environnements et la santé humaine. Par conséquent, le traitement des eaux usées de l'hôpital est très nécessaire (Sewage, 2018). Le traitement compact des effluents d'hôpitaux se fait en plusieurs étapes :

#### **1.1 Étape préliminaire ou prétraitement :**

Le prétraitement est la première étape du procédé de traitement. Il consiste à enlever les objets tels que les bâtons, les chiffons, et tous les déchets solides et inorganiques lourds à travers les moustiquaires. L'élimination de ces matériaux protège les équipements de la station contre les dommages et augmente l'efficacité des étapes ultérieures (Sewage, 2018).

Prétraitement des eaux usées au sein de l'établissement

- Dégrillage des déchets solides (compresses, seringues...)
- Dégraissage des graisses des rejets de cuisine
- Déshuilage des huiles et hydrocarbures des ateliers ou garages
- Bassins tampons pour les eaux issues de la blanchisserie, avec régulation de pH des débits journaliers
- Dilution des détergents et désinfectants

#### **1.2. Stade de traitement primaire:**

C'est une étape permettant la séparation physique des solides et des graisses des eaux usées. L'eau s'écoule dans le clarificateur (filtre) primaire (le plus souvent bassin de forme cyclonique) pendant quelques heures pour permettre aux particules solides de s'installer et les particules plus légères de flotter vers le haut pour qu'elles soient éliminées du réservoir, le solide décanté est appelé boue primaire (Caue 60).

Il existe deux méthodes de traitement primaire : Traitement primaire (sans ajout de réactifs) ou traitement primaire physico-chimique (avec ajout de réactifs). Le traitement primaire pour les techniques extensives et le traitement physico-chimique pour les techniques intensives (Caue 60).



**Figure 1 :** la séparation physique des solides et des graisses des eaux usées par un clarificateur primaire.

Il existe deux méthodes de traitement primaire : Traitement primaire (sans ajout de réactifs) ou physico chimique (avec ajout de réactifs). Le traitement primaire pour les techniques extensives et le traitement physico-chimique pour les techniques intensives (Caue 60).

### **1.3.Étape de traitement secondaire :**

Le traitement secondaire consiste d'une part à éliminer les matières inorganiques dissoutes présentes sous forme soluble et colloïdale des eaux usées hospitaliers à l'aide des bactéries en particulier des bactéries aérobies qui sont utilisées pour transformer naturellement la pollution organique (traitement biologique) (Sewage, 2018).

D'autre part, les eaux usées issue du réservoir primaire s'écoulent dans le réservoir d'aération dans un clarificateur secondaire, et l'air est fourni par une soufflante d'air pour mettre de l'oxygène aux microbes. Les solides se déposent comme boues secondaires et dont une partie est recyclée pour le processus de boues activées et le reste est mélangé avec la boue primaire qui sera envoyée au réservoir de digestion des boues ensuite éliminée (Sewage, 2018).

Les techniques de traitement biologique les plus couramment employées sont :

- **les lits bactériens** : où les bactéries sont fixées sur un support, les eaux usées arrivent par le système de distribution des effluents dans le lit bactérien, elles sont ensuite dispersées sur le support bactérien. Le support bactérien repose sur un système de supportage (Hamon Thermal, 2018).



**Figure 2** : Fonctionnement d'un lit bactérien

Le ruissellement des eaux sur les supports permet le développement d'un film biologique. L'oxygénation par ventilation naturelle ou forcée va permettre le traitement de ces eaux notamment pour les pollutions dissoutes (carbone et ammoniacque) (Hamon Thermal, 2018).

-**Les boues activées** : où les bactéries évoluent librement dans l'eau, on force ici le mélange du dioxygène, des eaux usées et des bactéries dans des bassins.

Les espèces sont sélectionnées selon ce que l'on souhaite éliminer : carbone, azote, phosphore. Les bactéries et leurs déchets du métabolisme forment, dans un bassin appelé clarificateur, des boues (boues secondaires) qui sont ensuite traitées et utilisées pour la fertilisation des sols par exemple. Une partie de ces boues retourne dans les bassins pour éviter une trop grande perte en bactéries (Moulin et *al.*, 2013).

#### **1.4. Stade de traitement tertiaire:**

Le traitement tertiaire, parfois décrit comme un traitement avancé, est effectué après un traitement biologique. Cette étape permettant l'élimination des matières organiques et les micro-organismes pathogènes qui n'ont pas été éliminées lors du traitement biologique, ces microorganismes seront donc éliminés par un processus appelé désinfection. La désinfection peut être réalisée par des désinfectants physique ou chimique comme le chlore, la lumière UV, l'ozone, etc. Les agents de la désinfection éliminent les polluants organiques en fonction de l'état des eaux usées (pH, clarté, etc.). Les eaux usées désinfectées peuvent être éliminées ou réutilisées (Sewage, 2018).

- **La chloration :**

Lors de la chloration, on verse de l'hypochlorite de sodium et de l'hypochlorite de calcium dans l'eau usée. La quantité requise dépend de la capacité d'absorption de chlore par l'eau et des exigences de désinfection (Maribia, 2009).

- **L'ozonation :**

L'ozone est le plus puissant oxydant et désinfectant existant pour épurer de l'eau usée. Son principal avantage : il ne produit aucun dérivé indésirable et se transforme en oxygène (Maribia, 2009).

- **Désinfection aux ultraviolets :**

L'eau usée à désinfecter est exposée à des rayonnements ultraviolets à ondes courtes. Les germes sont ainsi éliminés de manière sûre sans modification (Maribia, 2009).

#### **2. Traitement en Algérie :**

En Algérie, les eaux usées des hôpitaux sont généralement évacuées vers les réseaux d'épuration sans traitement préalable, ce qui provoque un grand danger qui menace la santé humaine et l'environnement.

D'après la direction des moyens matériels de l'hôpital CHU Constantine, il n'existe aucun traitement préalable au niveau de l'hôpital, aussi bien d'origine infectieuse que chimique. Selon la directrice de la station d'épuration de la wilaya de Constantine les eaux usées de l'hôpital sont collectées au niveau de la station de relevage Sidi M'cid ensuite elles sont évacuées à travers des tuyaux spécifique vers la station commune de traitement de Hamma Bouziane situé à 12Km de Constantine sur la route de Mila où il existe le processus de traitement suivant :

## **2.1. Prétraitement :**

Consiste à éliminer les éléments les plus grossiers, il est composé de :

Dégrillage mécanique : c'est pour retirer les déchets solides de taille importants comme les feuilles d'arbres, les branches, les objets métalliques etc.

Cette opération se fait par 3 cribles à râeaux mécaniques constitués d'un barreau de 12 mm de largeur, avec une capacité maximale de 1200 l/s de chaque crible.

Après le dégrillage l'eau est dirigée vers un post de relevage à travers des pompes submersible qui relève l'eau vers le tamis rotatif.



**Figure 3 :** un dégrilleur mécanique.



**Figure 4** : des pompes submersibles au niveau de la station de relevage

- dessablage : permettre l'élimination des solides fins et les matières flottantes en surface (l'élimination des huiles).
- Dégraissage : pour enlever les graisses des eaux usées.



**Figure 5** : Un Dessableur

## **2.2 Épuration biologique :**

C'est un traitement biologique basé sur l'élimination des polluants dissous grâce à des microorganismes aérobie capables de les consommer.

Ce traitement s'effectue dans quatre bassins d'aération mécanique fonctionnant en parallèles, les disques biologiques sont placés en série sur des axes en rotation lente partiellement immergés pour être en contact avec l'air. Le principe général est de favoriser la croissance des bactéries aérobies.



**Figure 6 :** épuration biologique aérobie.

## **2.3. Clarification par décantation :**

La clarification permet de séparer par décantation les boues activées de l'eau épurée, la décantation se fait dans huit décanteurs circulaires dans laquelle les matières en suspension seront éliminées en deux heures (l'eau faire traverser des bassins préalablement conditionné avec les réactifs chimiques par l'effluent à faible vitesse, de façon à ce que les matières en suspension et les flocc puissent sédimenter) dont le but d'élimines les particules les plus fines.



**Figure 7 :** Un Clarificateur Circulaire.

#### **2.4. Épaisseurs des boues :**

L'épaississement consiste à laisser s'écouler les boues par gravitation avec deux bassins circulaires de 17 m de diamètre munis d'un agitateur à pieux fixé sur le pont. Cette étape peut être précédée par l'ajout des flocculant organiques de synthèse (polyélectrolytes) ou minéraux afin de faciliter la séparation des phases solide et liquide des boues.

#### **2.5. Retour des boues en excès :**

Les boues activées de retour sont re foulées par trois pompes à vis d'Archimède : débit unitaire 600l/s.

#### **2.6. Lits de séchage des boues :**

Le principe ici est d'épandre des boues liquides sur une surface de 21,600 m<sup>2</sup> avec un lit constitué de graviers et de sable. Il s'applique à l'air libre ou bien en bâtiment fermé avec une ventilation mécanique.

#### **2.7. Chloration des eaux pour l'irrigation :**

C'est une désinfection de l'eau par l'ajout du chlore juste avant le rejet, avec un Débit chloré égale à 300 l/s.



**Figure 8 :** Déshydratation des boues.

Après la désinfection, la station effluente l'eau vers oued Rhumel, et les boues d'épuration qui sont exemptés de produit toxique peuvent être recyclés par la suite comme des engrais en agriculture à travers un conditionnement propre pour faciliter leur manutention et leur entreposage sur site.

### **3. Traitement par un nouveau procédé**

En Chine, en Suisse, en France et autres payées développées, il existe un système de traitement spécifique concernant les eaux usées hospitaliers avant leur évacuation vers les réseaux d'assainissement. Ce nouveau procédé de traitement est plus efficace par rapport aux systèmes de traitement connus, c'est un procédé qui consiste à utiliser un bioréacteur à membrane (MBR) qui assure l'élimination complète des microorganismes pathogènes par un traitement biologique. Le bioréacteur à membrane est une installation d'épuration réalisée simultanément deux fonctions : une fonction d'épuration biologique, et une fonction de séparation membranaire physique. (Couplage d'une séparation membranaire avec procédé biologique pour le traitement d'effluents) (Qiaoling et *al.*, 2010).

❖ **Traitement biologique :**

Les eaux usées sont traitées microbiologiquement dans le MBR grâce à un procédé des boues activées. L'oxygène nécessaire pour le processus de biodégradation provient de l'air ambiant (Seyhi et *al.*, 2010).

❖ **Traitement physique :**

Qui se caractérise par le remplacement du traditionnel décanteur secondaire par une unité de filtration membranaire, dont la sélectivité remarquable représente une barrière infranchissable par les espèces épuratoires (Seyhi et *al.*, 2010).

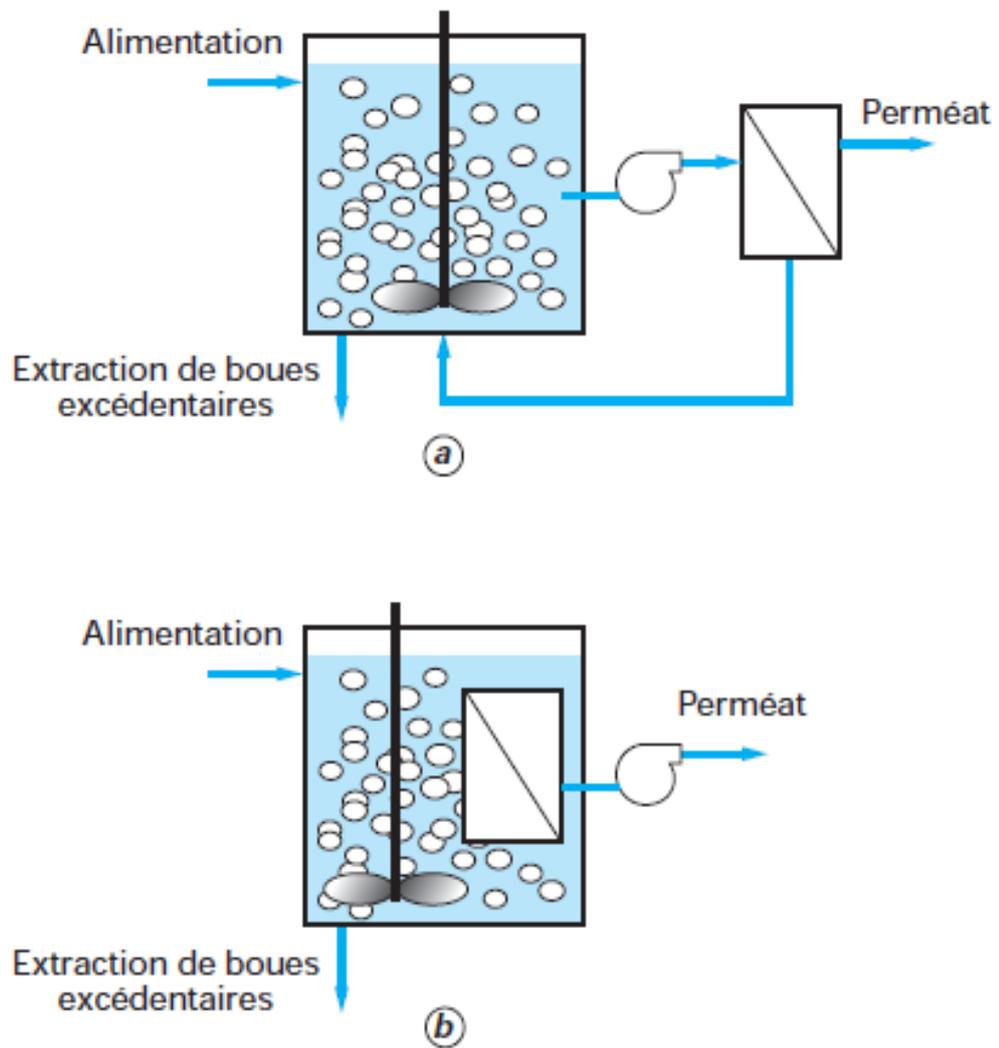
**3.1. Les types de bioréacteur :**

Il existe deux grands types de bioréacteurs à membrane : les bioréacteurs à membrane "à boucle externe" (les membranes se situent alors à l'extérieur du réacteur) (figure 9a) et les bioréacteurs à "membranes immergées" (figure 9b) (Brm, 2012).

**3.2. Les avantages**

L'élimination des particules toxiques et des polluants dissous permet d'obtenir une eau traitée d'excellente qualité pouvant être réutilisée pour un certain nombre d'applications (arrosage des espaces verts, lavage des rues, fontaines, arrosage des golfs, etc.), comme il présente également les avantages suivants :

- Economisez 50% de la surface d'occupation par rapport au système traditionnel.
- réduire le temps de la réaction (environ 1,5 min, 2,5-5% du processus conventionnel de traitement des eaux usées), et réalise un bon effet d'inactivation des microorganismes.
- Une désinfection très efficace et plus élevée atteinte dans les effluents MBR à faible dose et avec moins de sous-produits désinfectants (Qiaoling et *al.*, 2010).



**Figure 9** : Schéma des deux types de bioréacteurs à membrane : (a) à boucle externe et (b) à membrane immergée (Brm, 2012).

*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*

## 1. Cadre d'étude

Notre travail porte sur la caractérisation bactériologique des eaux usées hospitalières du CHU Dr. Benbadis de Constantine.

La partie pratique a eu lieu au niveau du laboratoire de Microbiologie (Laboratoire 14) de la Faculté Sciences de la Nature et de la Vie (Université Frères Mentouri Constantine 1), sur une période allant du 22 avril 2018 à la fin du mois de mai de la même année.

Le CHU de Constantine a pour mission :

- Assurer les activités de diagnostic, de soins, d'hospitalisation et des urgences médico-chirurgicales, de prévention ainsi que de toute activité concourant à la protection et à la promotion de la santé de la population.
- Contribuer à la protection et à la promotion de l'environnement dans les domaines relevant de la prévention, de l'hygiène, de la salubrité et de la lutte contre les nuisances et fléaux sociaux.
- Effectuer, dans le cadre de la réglementation en vigueur, tous travaux d'étude et de recherche dans le domaine des sciences de la santé.



**Figure 10:** L'emplacement du CHU Dr. Benbadis Constantine par rapport à la station de relevage

## 2. Echantillonnage des eaux usées hospitalières

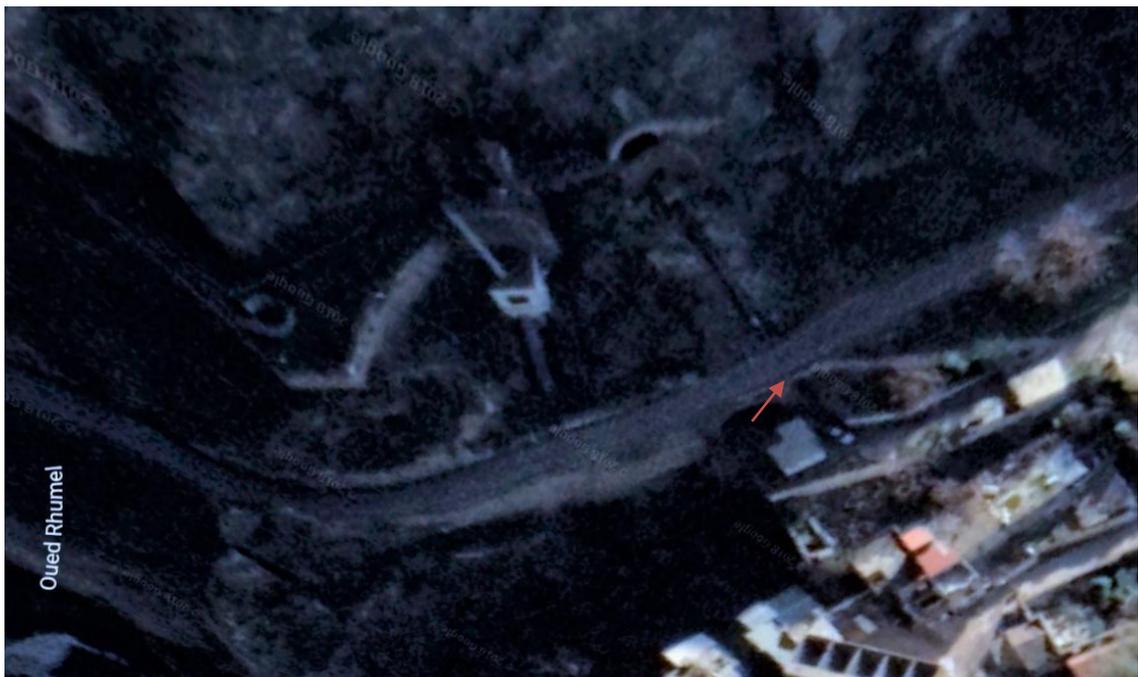
### 2.1. Lieu de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués à partir des eaux usées hospitalières au niveau de la station de relevage Sidi M'cid à Constantine. Cette eau polluée est acheminée à la station par une conduite à écoulement gravitaire.

La station se compose de trois conduites D3, D4 et D5. La D3 est une conduite pour les eaux usées domestiques, D5 est pour les eaux usées industrielle et D4 est la conduite des effluents hospitaliers, d'où deux échantillons sont été prélevés. Les effluents collectés par les réseaux d'assainissement sont traités au niveau de la station d'épuration d'Ibn Ziad.



(a)



(b)

**Figure 11:** Site de prélèvement (a, b) à la station de relevage (flèche rouge) Sidi M'cid  
(Images prises par Google Earth, Juin 2018)

## 2.2 Prélèvement d'échantillons

Le 22 avril 2018, à une température de 20°C, et après une semaine de pluie, des échantillons instantanés sont prélevés dans des bouteilles stériles dans un intervalle inférieur à 15 minutes, et cela au niveau de l'écoulement du tuyau d'évacuation de la station de relevage. Un espace d'environ 2,5 cm a été laissé entre l'échantillon et le bouchon du contenant. Les échantillons ont été transportés dans une glacière contenant des packs de glace pour fournir des conditions isothermes de 5°C. L'analyse des échantillons a été réalisée dès l'arrivée au laboratoire.



**Figure 12 :** Prélèvement des échantillons au niveau de l'écoulement du tuyau d'évacuation de la station de relevage Sidi M'cid Constantine

### **3. Isolement des bactéries**

Les bactéries contenues dans 100 ml d'eau usée ont été isolées par un système de filtration stérile (Wheaton, USA) en utilisant des membranes filtrantes stériles de 0.45 $\mu$ m (Wattman, Germany). Après filtration, le filtre a été récupéré et déposé sur une boîte de Pétri contenant le milieu de culture gélosé BCP (Institut Pasteur, Algérie). Par la suite les deux boîtes de Pétri qui contiennent les filtres à membrane ont été incubées à 30°C pendant 24-48h. Après incubation les boîtes ont été dénombrées sur filtre et exprimées en CFU/100 ml



**Figure 13 :** Les deux boîtes de Pétri avec les filtres à membrane avant incubation

#### **4. Examen macroscopique et microscopique**

##### **4.1 Coloration de Gram**

Après l'observation de l'aspect des colonies obtenues sur milieux gélosés, des étalements minces et homogènes sont fixés sur des lames, puis colorés par la méthode de Gram (annexe1), l'observation a été réalisée sous microscope (Canon, Japon). Cette méthode de coloration permet de classer les bactéries en deux grands groupes : bactéries dites à Gram positifs et des bactéries dites à Gram négatifs.



**Figure 14 :** Filtration par le système de filtration Wheaton, USA.

#### 4.2 Test KOH

Afin de confirmer si les bactéries sont à Gram positif ou négatif, le test de KOH a été réalisé. Ce test consiste à mettre en contact une colonie bactérienne posée sur une lame propre avec une goutte d'une solution de KOH à 3% et mélangé la suspension à l'aide d'une anse de platine et par la suite levée de 1-2 cm vers le haut.

Si un filament se forme entre la pipette et la lame, les bactéries sont à Gram négatif. Si rien n'est entraîné par la pipette. Les bactéries sont à Gram positif. Le but de cette méthode est de déterminer rapidement si une bactérie est à Gram positif ou négatif sans passer par les étapes de coloration habituelles et sans utiliser un microscope.

#### 4.1 Coloration de la spore :

Une spore est une petite unité qui se forme au sein de la bactérie en cas de mauvaises conditions environnementales. Elle permet donc de protéger l'ADN de la

chaleur et de la dessiccation. La coloration avec des colorants simple est donc inefficace. Il faudra donc utiliser des colorants spécifiques. On choisira plutôt le vert de malachite à froid pour éviter le dégagement de gaz nocifs.

**Procédure :**

Des étalements minces et homogènes de chaque isolat bactérien de culture pure sont fixés sur une lame, puis colorés par la méthode de BARTHOLOMEW (vert malachite à froid):

Après la préparation des frottis par 20 passages dans la flamme (altération des structures pariétales et perméabilisation de la spore), ils ont été couverts par le vert de malachite pendant 10 min et ensuite lavés à l'eau distillée.

L'étape suivante été de couvrir les frottis par la fuchsine à 0,25% et les laissés en contact pendant 10 sec. Par la suite, les frottis ont été lavés à l'eau distillée, séchés puis l'observation a été réalisée sous microscope optique à l'immersion.

**Lecture des résultats :**

Les spores apparaissent vertes dans des corps bactériens roses, La position de la spore, sa forme, ainsi que la déformation qu'elle peut engendrer ou pas est un critère d'identification bactérienne

**5. Tests biochimique**

**5.1 Test de l'oxydase**

Le test a été réalisé en utilisant des disques d'oxydase. Un de ces disques a été placé sur une lame propre ensuite, une colonie bactérienne a été déposée avec précaution sur le disque.

S'il y a apparition d'une tache violette au bout de trente secondes, la bactérie est oxydase positive et elle possède le cytochrome oxydase. L'absence de la coloration violette est due à l'absence de l'enzyme recherchée, cela indique que la bactérie est dépourvue de cette enzyme respiratoire.

## **5.2 Test de catalase**

Sur une lame propre une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été déposée, à l'aide d'une pipette Pasteur. Si après l'ajout de la colonie bactérienne il y a apparition de bulles (dégagement gazeux de dioxygène), cela signifie que la bactérie produit l'enzyme de catalase.

## **5.3 Test mannitol mobilité**

C'est une gélose molle conditionnée en tubes qui permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries.

L'ensemencement a été réalisé par piqûre centrale jusqu'au fond des tubes à l'aide d'une pipette Pasteur. Après incubation, la fermentation du mannitol se traduit par l'acidification du milieu qui vire au jaune (teinte acide du rouge de phénol).

Les bactéries mobiles envahissent tout le milieu à partir de la piqûre centrale (du fait de la faible teneur en agar du milieu).

## **5.4 Milieux sélectifs**

Les milieux sélectifs ont été ensemencés par la technique de stries et la lecture a été effectuée après 24h d'incubation à 37°C.

### **➤ Gélose de Chapman**

La gélose Chapman (Institut Pasteur, Algérie) a été utilisée pour la détection des germes halophiles. Parmi ces germes, figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylocoque*, mais aussi les *Microcoques*, les *entérocoques* et les *Bacillus*.

### **Principes**

Ce milieu contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g/L), ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* tolérant les fortes concentrations en NaCl.

La fermentation du mannitol peut être étudiée par virage au jaune du le rouge de phénol autour des colonies.

### **Lecture des résultats**

Les colonies mannitol + sont entourées d'une auréole jaune.

Ainsi des colonies pigmentées en jaunes et mannitol + : forte suspicion de *S. aureus*.

➤ **La Gélose nutritive (GN) :**

La GN (Institut Pasteur, Algérie) a été utilisé pour la détection et l'isolement des bactéries non exigeantes. Il ne permet pas de sélectionner une souche bactérienne précise.

➤ **Gélose Lactosée au Pourpre de Bromocrésol (BCP)**

Le BCP (Institut Pasteur, Algérie) a été utilisé pour la détection et l'isolement des bactéries appartenant aux Entérobactéries. Il permet la croissance des bactéries non exigeantes.

### **Principes**

La gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP) est un milieu non sélectif, utilisé pour les détections et isolement des enterobactériaceae dans l'eau et les produits alimentaires. La fermentation du lactose en acide est révélée, en présence de pourpre de bromocrésol, par le virage du bleu violacé au jaune.

### **La lecture des résultats**

- Les germes lactose-négatif donnent des colonies de couleur bleue.
- Les germes lactose-positif donnent des colonies bleu violacée

## **6. La galerie API 20 E**

Ce sont des protocoles miniaturisés que l'on utilise pour effectuer simultanément une série de tests biochimiques d'identification, sur un organisme donné. Cela nécessite l'utilisation de kits commerciaux qui économisent du temps, d'espace et du matériel.

Afin d'identifier les souches bactériennes à Gram négatif, et oxydase négative, appartenant à la famille des *Enterobactriaceae*, la galerie api 20 E a été réalisée en préparant une suspension bactérienne de 0.5 Mc Ferland dans 5 ml d'eau distillée.

La suspension bactérienne préparée a été introduite dans chaque microtubule à l'aide d'une micropipette où la pointe de l'embout est appuyée sur le côté intérieur pour éviter

la formation de bulles. Les microtubules des tests CIT, VP et GEL ont été remplis par l'inoculum jusqu'à la cupule alors que les microtubules correspondant aux tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et UREE ont été remplis par la suspension bactérienne et recouverts par une couche d'huile de vaseline pour assurer la condition d'anaérobiose.

La période d'incubation est de 24h à 37°C, dans une atmosphère humide permettant à la bactérie de réagir avec les substrats. Les réactions produites se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs :

- VP : une goutte d'hydroxyde de potassium (40%) et une goutte d'alpha-naphtol (6%) sont ajoutées (il faut attendre 10 minutes avant de faire la lecture de la réaction).
- TDA : une goutte de chlorure ferrique (10%) est additionnée. La lecture de la réaction se fait immédiatement.
- IND : la lecture de la réaction se fait immédiatement après l'ajout d'une goutte du réactif de James.
- Deux tests complémentaires sont effectués : la réduction des nitrates en nitrites (NO<sub>2</sub>) et en azote (N<sub>2</sub>) en ajoutant des réactifs NIT 1 et NIT 2, puis le Zinc dans le tube GLU.

A l'aide du tableau de lecture (annexe 04). Les résultats des réactions obtenues sont notés sur une fiche de résultats standards.

Les résultats positifs ou négatifs de tous les tests permettent de déterminer le code de la bactérie étudiée. Après leur regroupement en groupe de 3, une valeur (de 0 à 7) est donnée pour chaque groupe.

Les chiffres obtenus pour chaque groupe sont rassemblés pour avoir un seul nombre composé de 7 chiffres. Ce dernier servira par la suite à l'identification de la souche en question, en faisant usage d'un catalogue analytique spécifique de la galerie API 20 E ou par le logiciel «API web ® Biomérieux».

### **5. Test de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)**

Un antibiogramme a été réalisé afin de tester la sensibilité ou la résistance des souches isolées à partir d'eau usée. A partir d'une boîte fraîche, une colonie bactérienne a été prélevée et suspendue dans 5ml de bouillon nutritive de 0,5 Mc Ferland, et incubée à 37°C pendant 6h. Ensuite, cette suspension bactérienne a été utilisée pour ensemercer

sur la gélose Mueller Hinton par écouvillonnage. La technique par écouvillonnage consiste à faire plonger l'écouvillon stérile dans la suspension et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Ensemencer toute la surface du milieu (3 passages à orientation décalée de 60° pour la boîte et l'écouvillon).

Par la suite, des disques imprégnés d'une dose connue d'antibiotique ont été déposés à la surface de cette gélose.

Après incubation à 37°C pendant 24h, le diamètre de la zone d'inhibition a été déterminé afin d'estimer la concentration minimale inhibitrice (annexe 6).

-La liste des antibiotiques utilisés :

**Tableau 4:** Les antibiotiques testés classés selon leurs familles

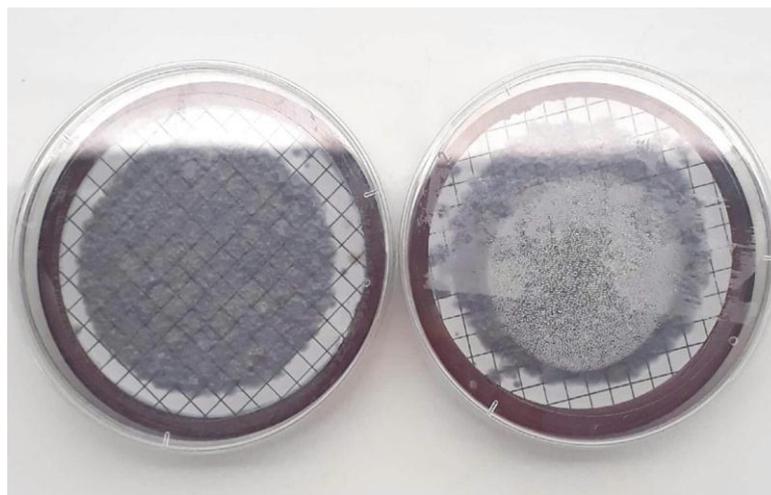
Famille d'antibiotique	L'antibiotique	L'abréviation	La charge du disque
Bêta-Lactamines	Amoxicilline	AMX	25µg
	Cefoxitine	FOX	30 µg
	Cefazoline	KZ	30 µg
	Cefotaxime	CTX	30 µg
	Piperacilline	PI	100 µg
	Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	30 µg
Aminosides	gentamicine	HLG	120 µg
Phénicoles	chloramphénicol	C	30 µg
Sulfamides	Triméthoprim/sulfaméthoxazole.	SXT	25 µg
Quinolones	acide pipémidique	PA	20 µg
	Péfloxacine	PEF	5 µg
polypeptides	Nitroxoline	NO	30 µg

*Résultats*  
*et*  
*Discussion*

## Résultats et Discussion

### I. La filtration sur membrane :

Afin d'évaluer la qualité bactériologique des effluents hospitaliers, deux échantillons ont été analysés par filtration de 100 ml de chaque échantillon sur membrane afin de récupérer tout les germes présent dans ce volume (Fig.15).



**Figure 15 :** Aspect des colonies sur BCP après la filtration sur membrane.

Après incubation à 30°C de 24-48h, les résultats ont démontré que les colonies étaient indénombrables sur la gélose BCP. Selon Darsy et *al.*, (2002), le niveau de contamination microbienne des eaux usées hospitalières est très variable dépendamment de l'heure, le jour ou le débit au moment du prélèvement. Comme précisé auparavant, l'échantillonnage a été effectué le jour du 22 Avril 2018, et qu'en avril à Constantine, la température maximale était de 21°C (avec un record à 29°C durant le mois) et la minimale de 11°C. Il y a eu beaucoup de précipitations ce mois-ci, avec en tout 83mm sur le mois et 2.73mm par jour. Le record de précipitations sur un jour fut 17.2mm. En dépit de ces conditions la charge bactérienne était élevée et indénombrable dans 100ml d'effluent liquide de soins. Cela est expliqué par le fait que les rejets liquides de l'hôpital CHU de Constantine sont très chargés en comparant avec le nombre de lits et le taux de consommation d'eau par jour.

### II. Identification présomptive des isolats

#### 1. Aspects microscopique et macroscopique :

Les principales caractéristiques macroscopique et microscopique des souches étudiées sont résumées dans le tableau suivant:

**Tableau 5** : Descriptions Macroscopique et Microscopique des souches étudiées  
(partie1)

Souches	Aspect macroscopique					Aspect microscopique			
	Forme et taille	Couleur	Surface	Opacité	Odeur	Coloration de Gram	Mobilité	Aspect des cellules	Présences de spores
<b>MB1</b>	grande colonie circulaire	Jaune	VISQUEUSE	Opaque	+	-*	+	Bacille	ND*
<b>MB2</b>	grande colonie circulaire	Blanche	VISQUEUSE	Translucide	-	-	+	Bacille	ND
<b>MB3</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	Translucide	-	-	+	Bacille	ND
<b>MB4</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	Translucide	-	-	-	Bacille	ND
<b>MB5</b>	grande colonie circulaire	Blanche	VISQUEUSE	Translucide	-	-	+	Bacille	ND
<b>MB6</b>	Petite colonie circulaire	Blanche	solide	Translucide	-	-	+	Bacille	ND
<b>MB7</b>	Petite colonie circulaire	verdâtre	VISQUEUSE	Opaque	+	-	+	Bacille	-
<b>MB8</b>	Petite colonie circulaire	verdâtre	VISQUEUSE	Opaque	+	-	+	Bacille	-
<b>MB9</b>	Petite colonie circulaire	Blanche	Solide	translucide	+	+	-	Cocci en amas	-
<b>MB10</b>	grande colonie circulaire	Blanche	VISQUEUSE	translucide	+	+	-	Cocci en amas	-
<b>MB11</b>	Petite colonie circulaire	Blanche	VISQUEUSE	Translucide	+	+	-	Cocci en courte chaînette	-

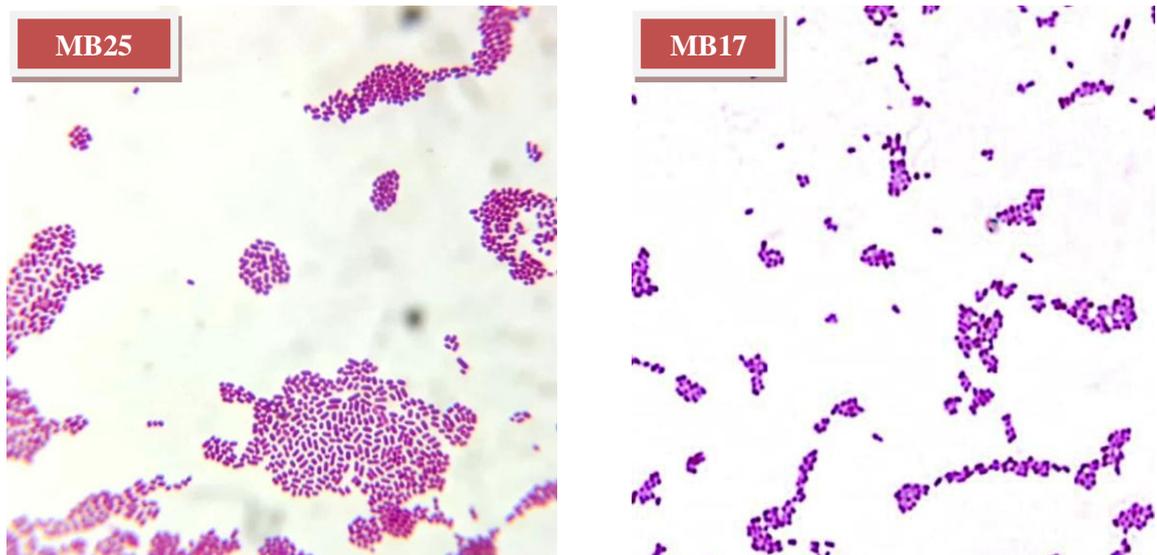
\*+, caractère positif ; -, caractère négatif ; ND, caractère non déterminé

**Tableau 5** : Descriptions Macroscopique et Microscopique des souches étudiées (partie 2)

Souches	Aspect macroscopique					Aspect microscopique			
	Forme et taille	Couleur	Surface	Opacité	Odeur	Coloration de Gram	Mobilité	Aspect des cellules	Présences de spores
<b>MB12</b>	Petite colonie circulaire	Jaune	Solide	Opaque	+	+	-	Cocci en amas	-
<b>MB13</b>	Petite colonie circulaire	Blanche	VISQUEUSE	Opaque	+	+	-	diplocoque	-
<b>MB14</b>	Petite colonie circulaire	Jaune	VISQUEUSE	opaque	+	+	-	diplocoque	-
<b>MB15</b>	Envahissante	Jaune claire	Solide	transparente	-	+	-	Cocci en tétrade	-
<b>MB16</b>	Envahissante	Jaune claire	VISQUEUSE	transparente	-	+	-	Cocci en tétrade	-
<b>MB17</b>	Petite colonie circulaire	Jaune claire	Solide	translucide	+	+	-	Cocci en courte chaînette	-
<b>MB18</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	opaque	-	+	-	Bacille	+
<b>MB19</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	transparente	-	+	-	Bacille	+
<b>MB20</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	transparente	-	+	-	Diplocoque	-
<b>MB21</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	Opaque	-	+	-	Cocci en amas	-
<b>MB22</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	Translucide	-	+	-	Cocci en chaînette	-
<b>MB23</b>	Envahissante	Blanche	VISQUEUSE	transparente	-	+	-	Cocci en chaînette	-
<b>MB24</b>	Colonie moyenne circulaire	Blanche	solide	opaque	-	+	-	Bacille	-
<b>MB25</b>	Colonie mo circulaire	Blanche	VISQUEUSE	opaque	-	+	-	Bacille	-

\*+, caractère positif ; -, caractère négatif ; ND, caractère non déterminé

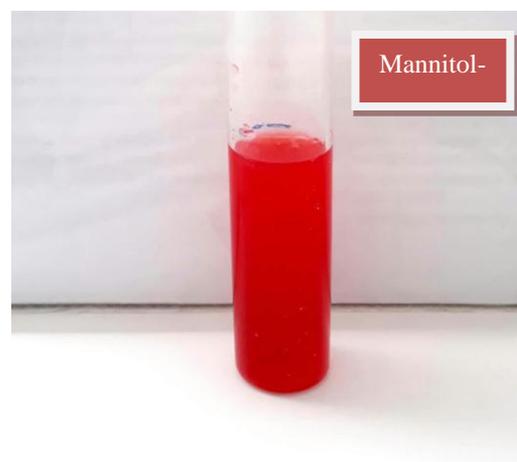
L'observation microscopique à l'objectif à immersion (fig16) montre des Bacilles à Gram négatif et des Bacilles et des Cocci à Gram positif. Huit souches sur 25 sont des bacilles à Gram négatif dont une seule souche est immobile. Quatre souches sont des bacilles à Gram positif dont deux sporulées, et les 13 autres souches sont des Cocci en chaînette ou diplocoques. Les résultats du Gram ont été confirmés par le test de KOH à 3%



**Figure 16:** l'observation microscopique (X100) après coloration de Gram

L'ensemencement du milieu mannitol mobilité a permis de distinguer que les souches MB2, MB3, MB5, MB1, MB6, MB18, MB19, sont mobiles par la formation de voile au niveau de la pique centrale. Par contre le reste des souches sont immobiles par l'absence de voile (fig 17).

Le virage de la couleur du milieu (rouge de phénol) au jaune (indique que les bactéries fermentent le sucre mannitol et produisent des acides (mannitol+).





**Figure 17** : Test de Mannitol Mobilité

## 2. Etude des tests biochimiques

Le milieu Chapman est un milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles, spécifiquement les bactéries du genre *Staphylococcus*.

Parmi les isolats testés, six souches (MB14, MB9, MB11, MB12, MB13, MB10) poussent sur ce milieu formant des colonies dorées, et fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.

La gélose lactosée au BCP est un milieu utilisé pour la détection et l'isolement des entérobactéries. Il contient un critère de différenciation : la fermentation du lactose révélée par le virage en milieu acide de l'indicateur coloré de pH: le bromocrésol pourpre.



**Figure 18** : purification des souches sur la gélose BCP

Le virage du milieu pourpre au jaune indique que les bactéries : MB6, et MB5, fermentent le lactose (lactose +), et les colonies bleues pourpres dans le reste des souches indiquent que ces bactéries sont lactose –.

**b. Profils sur API 20 E**

Les résultats des tests biochimiques sur les galeries API 20E sont regroupés dans le tableau 6

**Tableau 6 :** Les résultats des tests biochimiques des bacilles à Gram négatif.

Tests	Souches					
	MB1	MB2	MB3	MB4	MB5	MB6
Oxydase	+	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Ortho- Nitro-phenyl-Galactoside (ONPG)	-	+	+	+	+	-
Arginine Dihydrolase (ADH)	-	-	-	-	-	-
Lysine Décarboxylase (LDC)	-	-	-	-	-	-
Ornithine Décarboxylase (ODC)	-	-	-	-	-	-
Citrate de Simmons (CIT)	+	+	+	-	+	+
Thiosulfate de sodium (H <sub>2</sub> S)	-	-	-	-	-	-
Uréase (URE)	-	-	-	-	-	+
Tryptophane (TDA)	-	-	-	-	-	+
Indole (IND)	-	-	-	-	-	-
Pyruvate de sodium (VP)	-	+	-	+	+	-
Gélatinase (GEL)	+	+	+	+	+	-
Glucose (GLU)	+	+	+	+	+	+
Mannitol (MAN)	+	+	+	+	+	-
Inositol (INO)	-	+	+	+	+	+
Sorbitol (SOR)	+	+	+	+	+	-
Rhamnose (RHA)	-	+	+	+	+	-
Saccharose (SAC)	+	+	+	+	+	-
Melibiose (MEL)	+	+	+	+	+	-
Amygdaline (AMY)	+	+	+	+	+	-

Arabinose (ARA)	+	+	+	+	+	-
Nitrite (NO <sub>2</sub> )	+	+	+	+	+	+
Azote (N <sub>2</sub> )	+	+	+	+	+	-

\*+, réaction positive; -\*, réaction négative

Les souches MB7 et MB8, sont des bacilles à Gram négatif, avec catalase positive, oxydase positive, lactose-, indole- et mobilité positive, capables de liquéfier la gélatine. Elles réduisent le nitrate en nitrite et ne fermentent pas le glucose. Ces isolats sont facilement distinctifs grâce à une pigmentation verdâtre sur la gélose nutritive. D'après l'analyse des résultats obtenus, les deux souches (MB7 et MB8) sont suspectées d'être *Pseudomonas* sp.

Les souches MB2, MB3 et MB4 appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à Gram négatif. Ces bactéries sont catalase positive et oxydase négative, ONPG +, indole-, lactose-, capables de fermenter le mannitol et le glucose possèdent la Gélatinase. Après l'analyse des résultats de la galerie Api 20 E par le logiciel «API web ® Biomérieux» les souches MB2 et MB3 (fig19) sont suspectées d'être *Serratia ficaria*, et la souche MB4 (fig 20) est suspectée d'être *Serratia plymuthyca*.



Figure 19 : Profil sur API 20E de la souche MB2.



Figure 20 : Profil sur API 20E de la souche MB4.

L'isolat bactérien MB5 (fig 21) est bacille à Gram négatif, mobilité positive, lactose+, catalase positive et oxydase négative, H<sub>2</sub>S-, indole- et possède le citrate perméase. La souche MB5 est suspectée d'être *Pantoea* spp.



**Figure 21 :** Profil sur API 20E de la souche MB5.

La souche MB1 appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* (fig 22). Il s'agit d'un bacille à Gram négatif, catalase positive et oxydase négative, mobilité positive, citrate positif, ONPG-, indole-, lactose-, avec une fermentation du glucose. D'après l'analyse des résultats, la souche MB1 est identifiée *Aeromonas hydrophila*.



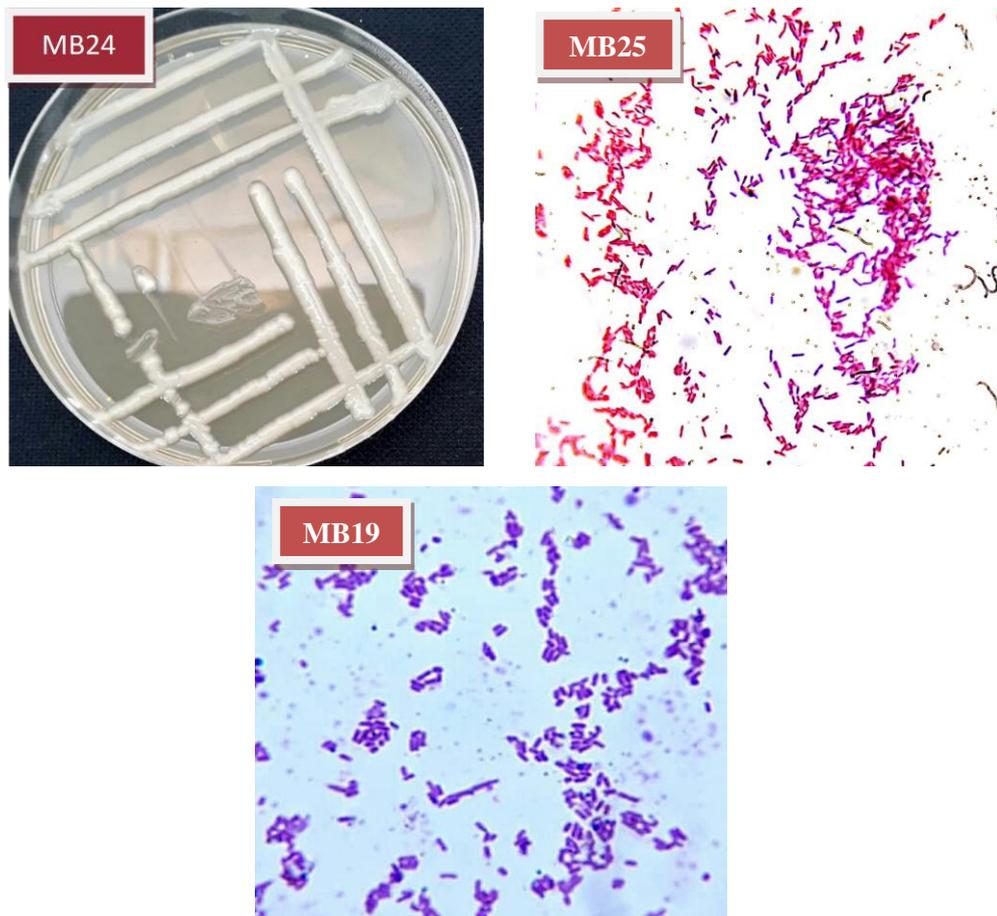
**Figure 22 :** Profil sur API 20E de la souche MB1.

L'isolat bactérien MB6 est bacille à Gram négatif, fermente le lactose, catalase positive et oxydase positive, citrate positive (fig 23). Cette bactérie appartient au groupe des bactéries ONPG-, TDA+ et VP-. Fermente le glucose et l'inositol mais incapable d'utiliser les autres glucides testés, mais capable de réduire des nitrates en nitrites. L'isolat MB6 est identifié *Providencia stuartii*.



**Figure 23 :** Profil sur API 20E de la souche MB6.

Les quatre isolats MB24, MB25, MB18et MB19 sont des bacilles non motiles à Gram positif (fig 24), catalase positive, oxydase négative et ne fermentent pas le lactose. D'après les résultats obtenus et selon la coloration des spores, les souches MB18, MB19 sont sporulées, elles sont donc suspectées d'être *Bacillus* sp. Par contre les bactéries MB24, MB25 qui ne sont pas sporulées, sont suspectées d'être *Corynebacterium* sp.



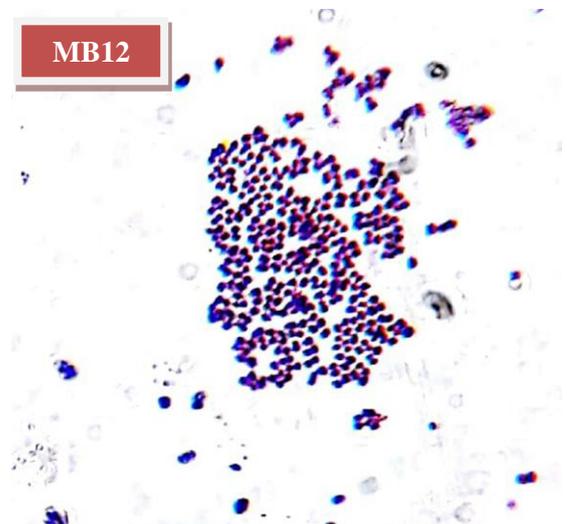
**Figure 24 :** L'aspect des colonies su GN et après la coloration de Gram

La bactérie MB17 représente des coques à Gram positif (fig 16), groupés en chaînettes, de couleur jaune crème sur GN, oxydase négative, catalase négative, lactose-, immobile, dépourvus de spores. Selon les résultats des milieux sélectifs, la souche ne fait pas partie des entérobactéries et ne fermente pas le lactose. D'après ces résultats la souche MB17 est suspectée d'être *Streptococcus* sp.



**Figure 25 :** L'observation microscopique de la souche MB 7 (X 100) après coloration de Gram

Les souches MB9, MB10, MB11, MB12 (fig 26), MB13 et MB14, sont des coques à Gram positif, groupées en amas et en diplocoques, catalase positive, oxydase négative, lactose- et immobiles. Selon les résultats des milieux sélectifs, ces souches ne fermentent pas le lactose, et représentent des colonies jaunes dorées sur le milieu Chapman. D'après ces résultats ces bactéries sont suspectées d'être *Staphylococcus* sp.



**Figure 26 :** l'aspect de la souche MB 12 sur GN et après la coloration de Gram

Après l'analyse des résultats de la galerie API® Staph Biomérieux® SA par le logiciel «API web ® Biomérieux SA», la souche MB12 (fig 27) est suspectée d'être *Staphylococcus lentus*, et la souche MB11 (fig 28), est suspectée d'être *Staphylococcus xylosus*.

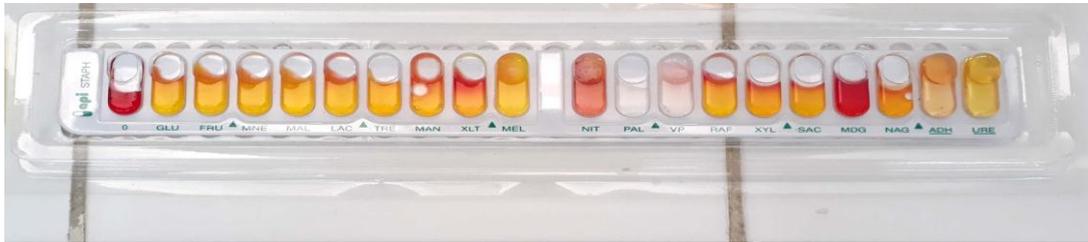


Figure 27 : Profil sur API 20E de la souche MB12.

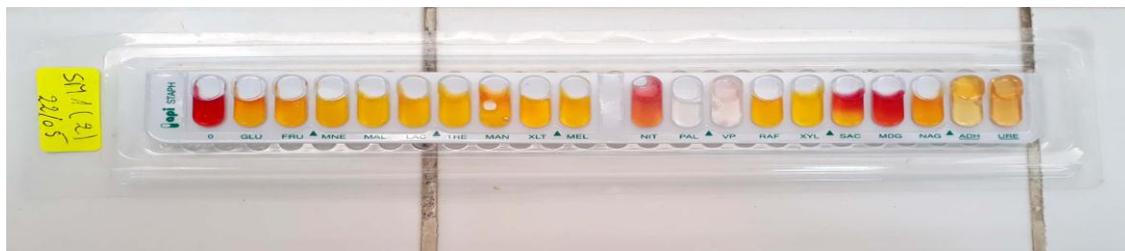


Figure 28 : Profil sur API 20E de la souche MB11.

Les souches MB15, MB16, MB20, MB21, MB22, MB23 représentent des coques à Gram positif (fig 29), catalase positive, oxydase positive et mobilité positive, lactose-. Selon les résultats des milieux sélectifs, elles ne fermentent pas le lactose, et elles sont autre que *Staphylococcus*. Ces critères s'appliquent sur les coques appartenant au genre *Micrococcus*.

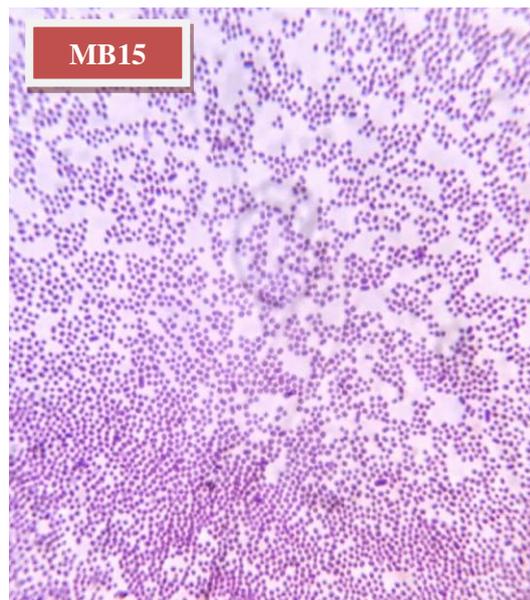


Figure 29 : L'observation microscopique de la souche MB15 (X 100) après coloration de Gram



**Figure 30** : Résultat du test catalase



**Figure 31** : Révélation du test oxydase

Les souches à Gram positif n'ont pas pu être identifiées par la galerie biochimique API 20<sup>E</sup> destinée principalement à l'identification des bacilles à Gram négatif, mais leurs résultats biochimiques obtenus à partir de l'ensemencement de la galerie API 20<sup>E</sup> ont été pris en considération. Il ya une possibilité de prédire les genres auxquels appartiennent ces souches à Gram positif en s'appuyant sur des organigrammes de Bergey's manuel.

Les clés dichotomiques sont tracées suivant des couplets de descriptions de la présence ou de l'absence du caractère chez la bactérie. Ces clés sont établies en se basant sur les informations que donne la 9ème édition du « Bergey's manual of determinative bacteriology » 1994, sur les caractères phénotypiques des groupes bactériens.

Les diagrammes ci-dessous résument l'identification présomptive des isolats étudiés.

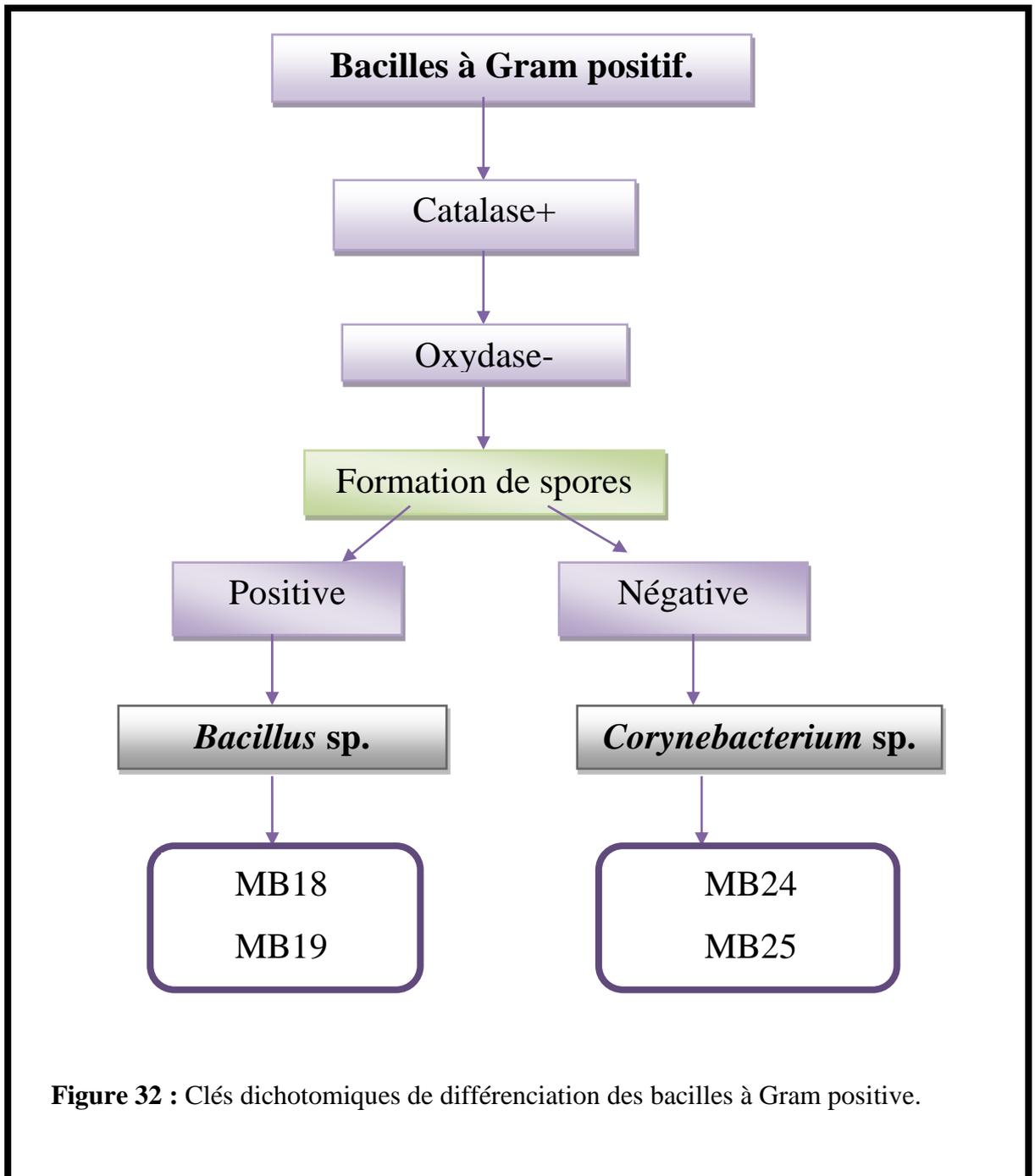


Figure 32 : Clés dichotomiques de différenciation des bacilles à Gram positive.

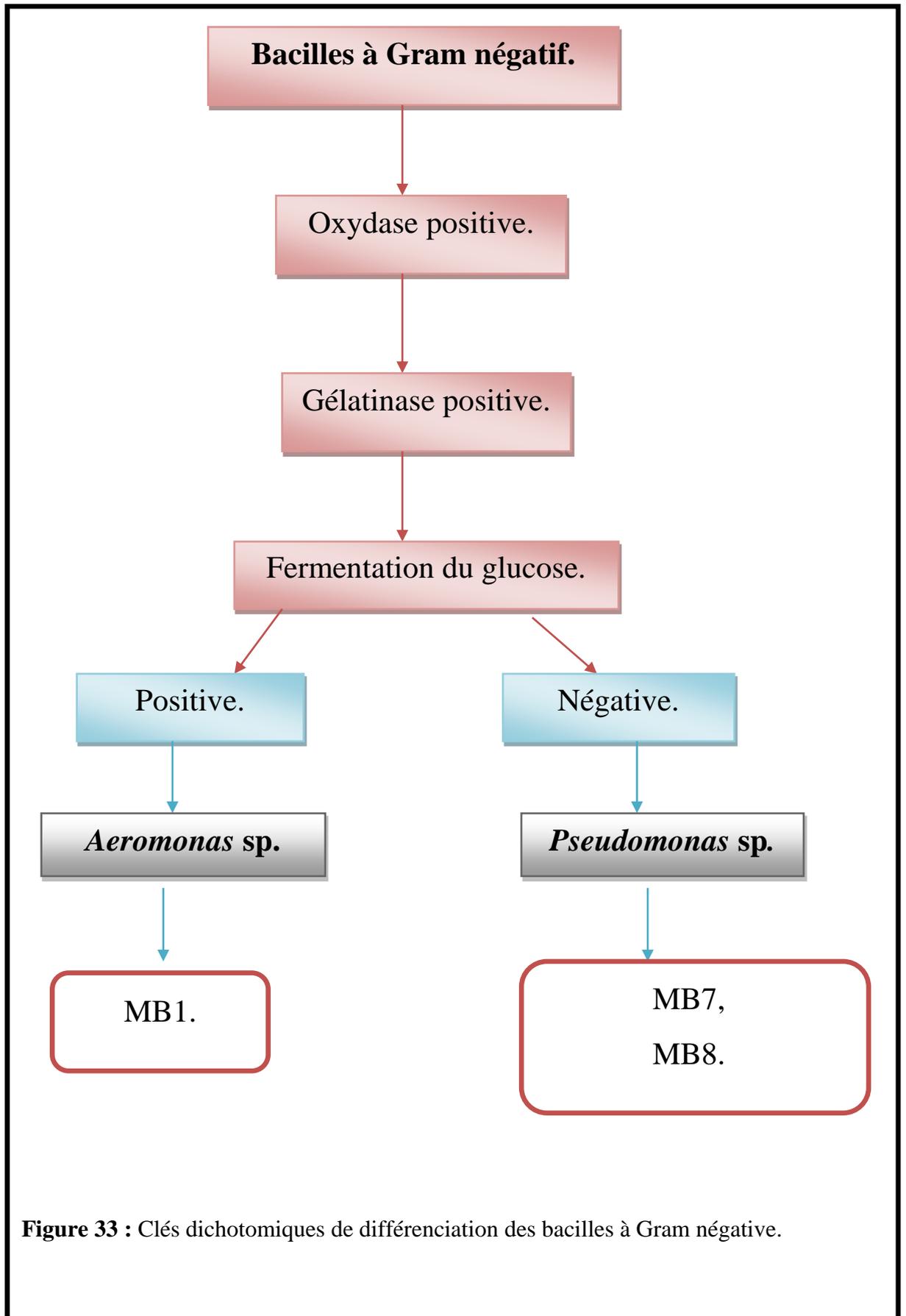


Figure 33 : Clés dichotomiques de différenciation des bacilles à Gram négative.

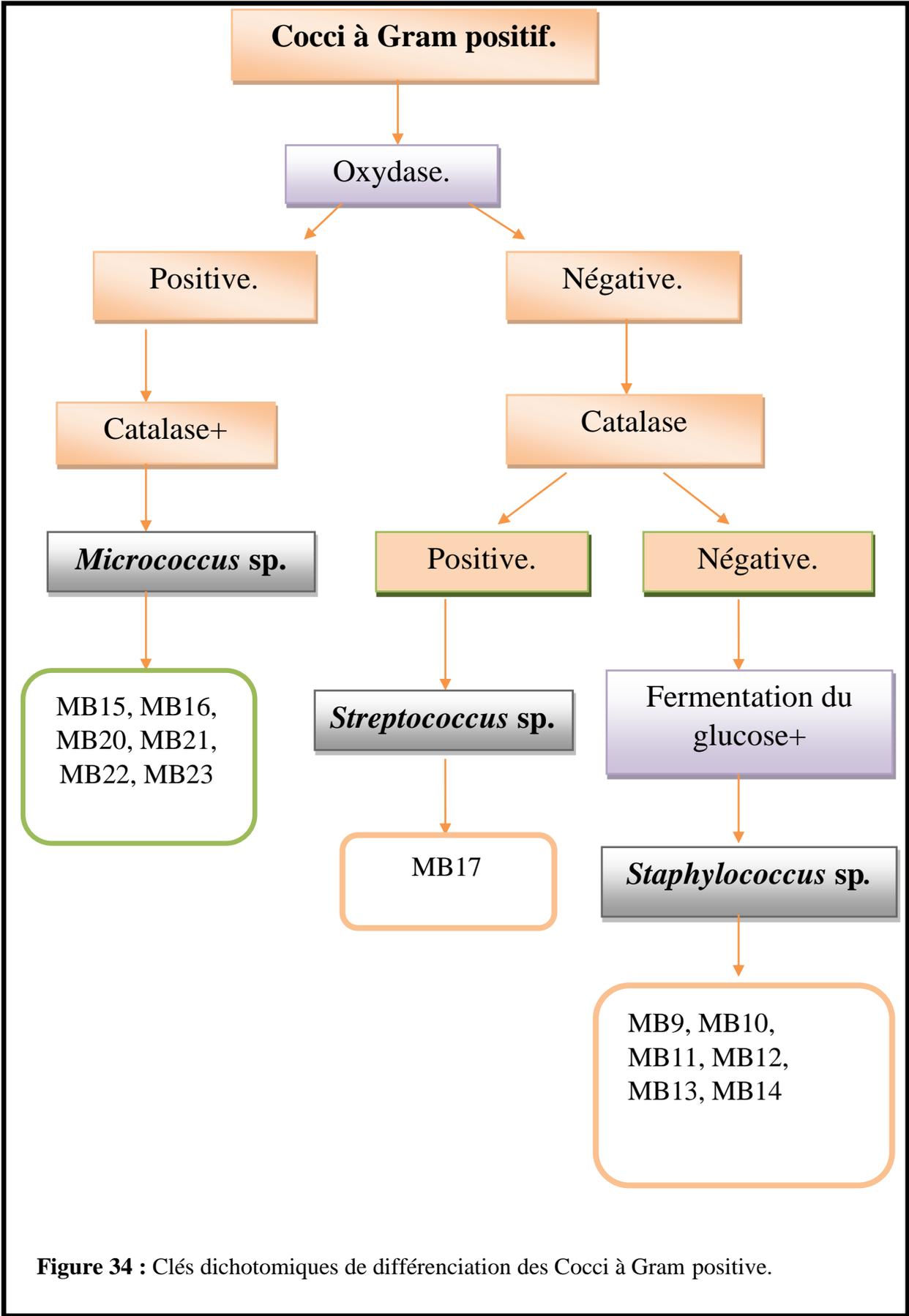
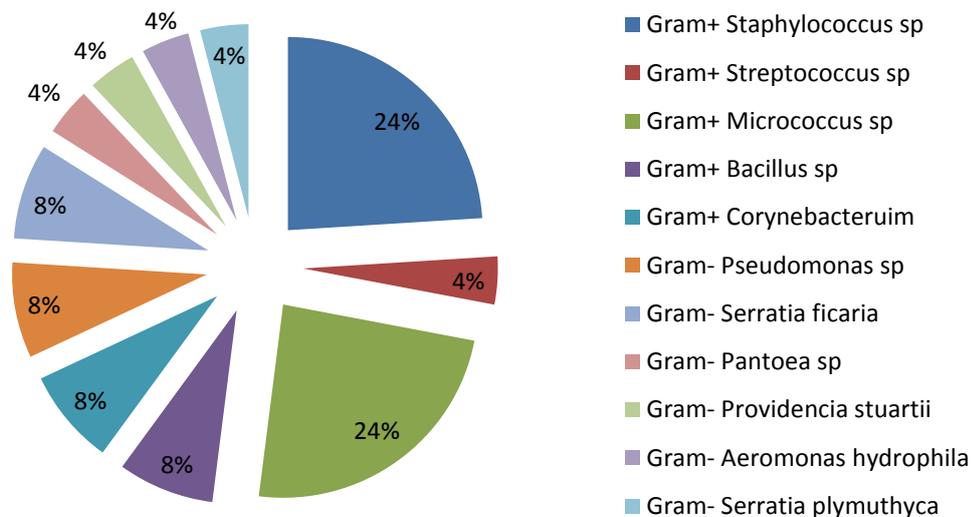


Figure 34 : Clés dichotomiques de différenciation des Cocci à Gram positive.

**Tableau 7 :** Identification présumptif des souches étudiées

Gram	Souches	Genre et/ou espèces suspectés
Bacille G-	MB7, MB8	<i>Pseudomonas</i> sp.
	MB2, MB3	<i>Serratia ficaria</i>
	MB4	<i>Serratia plymuthyca</i>
	MB1	<i>Aeromonas hydrophila</i>
	MB5	<i>Pantoea</i> sp.
	MB6	<i>Providencia stuartii</i>
Bacille G+	MB18, MB19	<i>Bacillus</i> sp.
	MB24, MB25	<i>Corynebacterium</i> sp.
Cocci G+	MB17	<i>Streptococcus</i> sp.
	MB9, MB10, MB13, MB14	<i>Staphylococcus</i> sp.
	MB11	<i>Staphylococcus xylosus</i>
	MB12	<i>Staphylococcus lentus</i>
	MB15, MB16, MB20, MB21, MB22, MB23	<i>Micrococcus</i>

**figure 35 :** pourcentage des bactéries présentes dans les eaux usées



### 3. Résultats d'antibiogramme :

L'antibiogramme a été réalisé pour les 20 isolats bactériens de l'eau usée hospitalier on utilisant 12 antibiotiques de différentes familles. La mesure du diamètre des zones d'inhibition de chaque souche pour chacun des antibiotiques testés permet de caractériser les souches comme étant sensible ou résistante et intermédiaire.

D'après les résultats obtenus et en comparant les valeurs mesurées avec les diamètres critiques. Selon la fiche des zones d'inhibition (société française de microbiologie), on peut classer les souches bactériennes selon leurs diamètres d'inhibition pour chaque antibiotique en trois catégories bien définies : sensible, résistante et sensibilité intermédiaire.

**Tableau 8:** les profils de résistance des souches caractérisées

ATB Souche	CTX 30µg	KZ 30µg	PI 100 µg	PEF 5µg	HL G 120 µg	SXT 25µg	FOX 30µg	PA 20µg	C 30µg	AM C 30µg	AM X 25µg	NO 30µg
MB4	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	R	I
MB9	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	R	I
MB11	R	I	R	I	R	R	R	S	R	R	R	R
MB5	R	R	R	R	S	R	I	S	I	R	R	I
MB16	R	R	R	R	I	R	I	I	I	R	R	I
MB10	R	R	R	R	S	R	S	I	S	R	R	I
MB22	S	S	I	I	S	S	S	S	S	R	R	I
MB13	S	I	S	S	S	S	S	S	S	I	R	I
MB2	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	I	S
MB12	R	R	I	R	S	S	R	I	S	R	R	I
MB24	R	R	R	R	S	R	I	I	S	R	R	I
MB8	R	R	S	R	S	R	I	S	S	R	R	S
MB7	R	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R	I
SM14	R	S	S	R	S	S	R	S	I	R	R	I

<b>MB15</b>	S	I	I	R	S	R	R	S	S	R	R	I
<b>MB6</b>	R	R	I	S	R	R	I	S	R	R	R	R
<b>MB18</b>	I	S	I	I	S	S	S	S	I	R	R	I
<b>MB1</b>	R	R	R	R	S	R	I	S	I	R	R	I
<b>MB17</b>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	I	I	I
<b>MB23</b>	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I

**R**: la souche est Résistante      **S** : la souche est Sensible      **I** : la souche est Intermédiaire

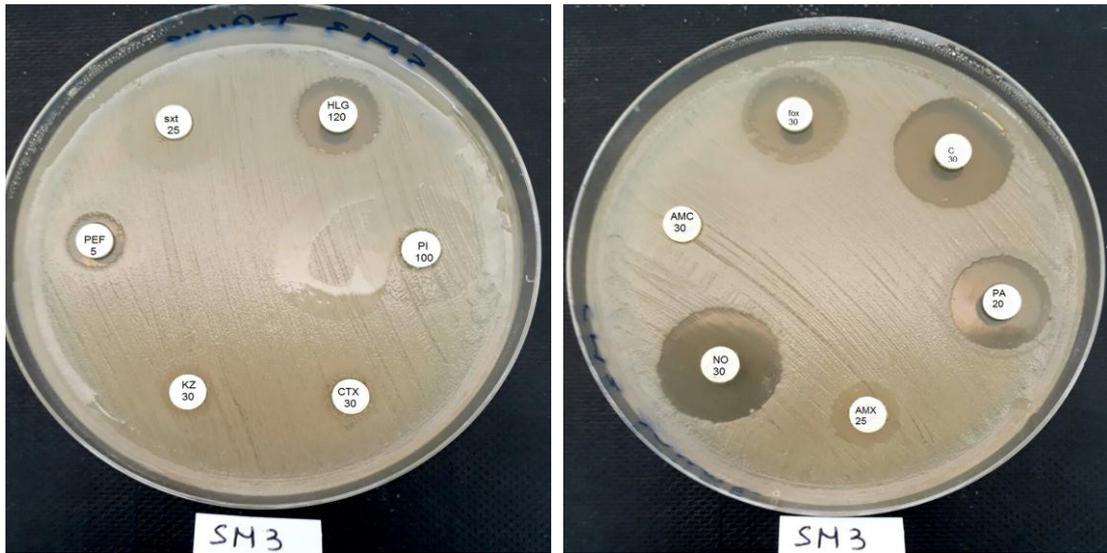
Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité *in vitro* : Sensible (S), Résistante (R) et Intermédiaire (I).

Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte, les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée, les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible.

D'après les résultats d'antibiogramme ont révèlent que les six souches qui ont été identifiées comme *Staphylococcus* sp. (fig 36) MB9, MB10, MB11, MB12, MB13, MB14 sont sensible aux Gentamicine, Cefoxitine, Chloramphénicol et Triméthoprime/sulfaméthoxazole Résistante aux Cefazoline, Pefloxacine, Amoxicilline/ac. clavulanique et Amoxicilline et à une sensibilité intermédiaire au Nitroxoline.

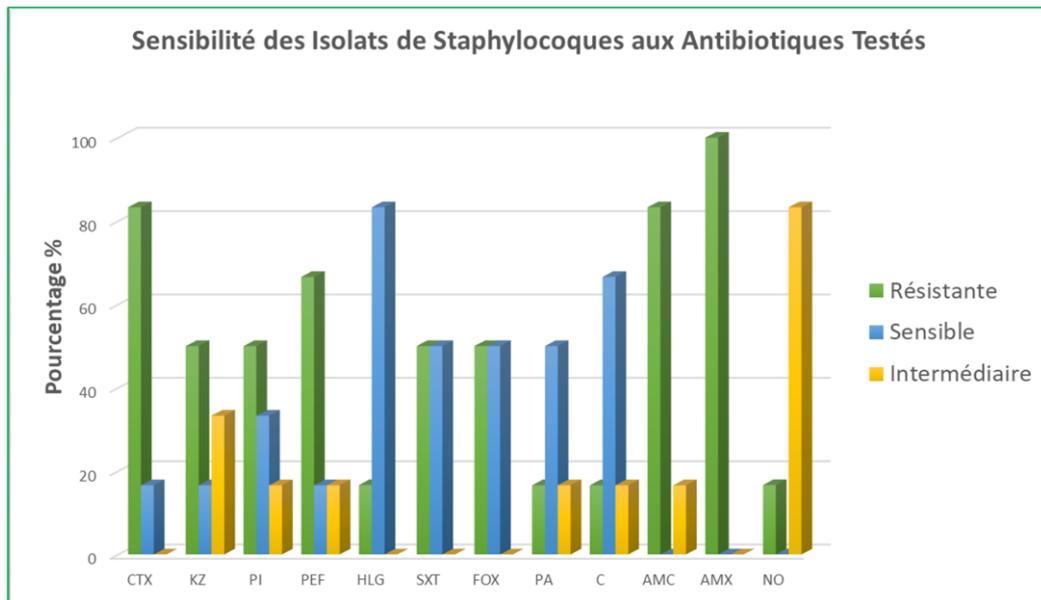
Selon les références, *Staphylococcus* sp. présente une résistance importante vis-à-vis les antibiotiques de la famille Bêta-Lactamines et elles sont soit sensibles soit intermédiaires vis-à-vis les autres familles.

Ces résultats concordent avec les résultats obtenus par Mekkaoui en 2017.



**Figure 36:** L'antibiogramme de *Staphylococcus* sp.

Le graphe suivant représente le taux de sensibilité des isolats de *Staphylococcus* sp. vis-à-vis des antibiotiques testés.

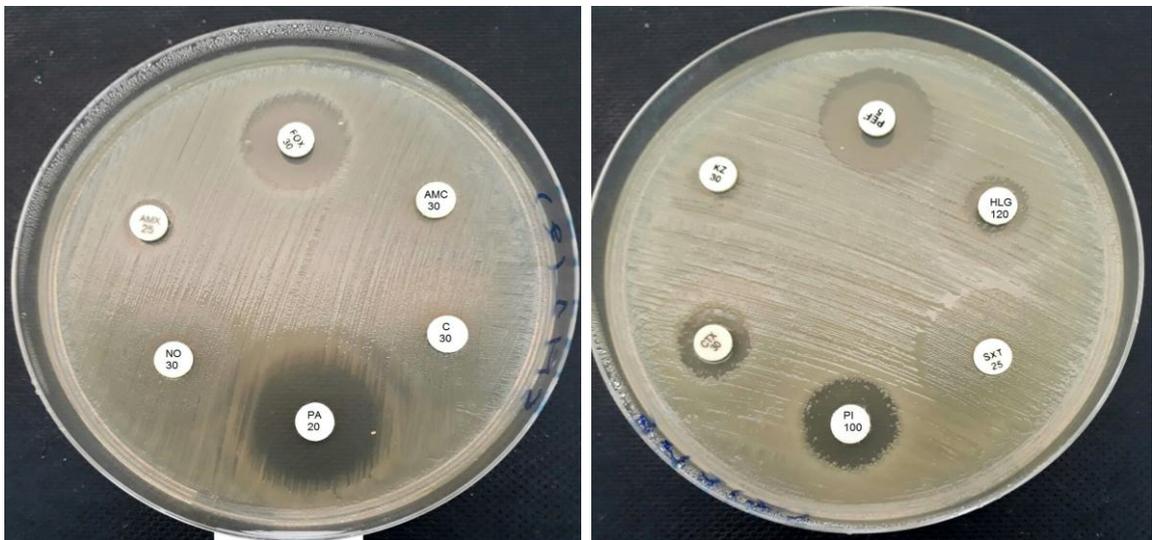


D'après le graphe, on observe que les souches de *Staphylococcus* sont résistantes avec des pourcentages plus élevés aux antibiotiques (Ils sont résistantes à 100% à l'Amoxicilline et à 80% au Cefotaxime et à l'Amoxicilline+acide clavulanique).

Les souches qui ont été identifiées comme *Enterobacteriaceae* (fig 37) MB4, MB5, MB2, MB6, MB1 sont sensibles aux Gentamicine, Pefloxacine, Acide pipémidique. Ces souches ont été Résistantes aux Amoxicilline, Amoxicilline/ac. Clavulanique, Cefazoline, céfotaxime, Triméthoprim/sulfaméthoxazole et à une sensibilité intermédiaire aux Nitroxoline, Cefoxitine, Amoxicilline/ac. Clavulanique, Chloromphenicol.

Selon les références 63,3 % d'entérobactéries résistantes à la fois à aux moins 3 familles d'antibiotiques (bêtalactamines, aminosides et fluoroquinolones)

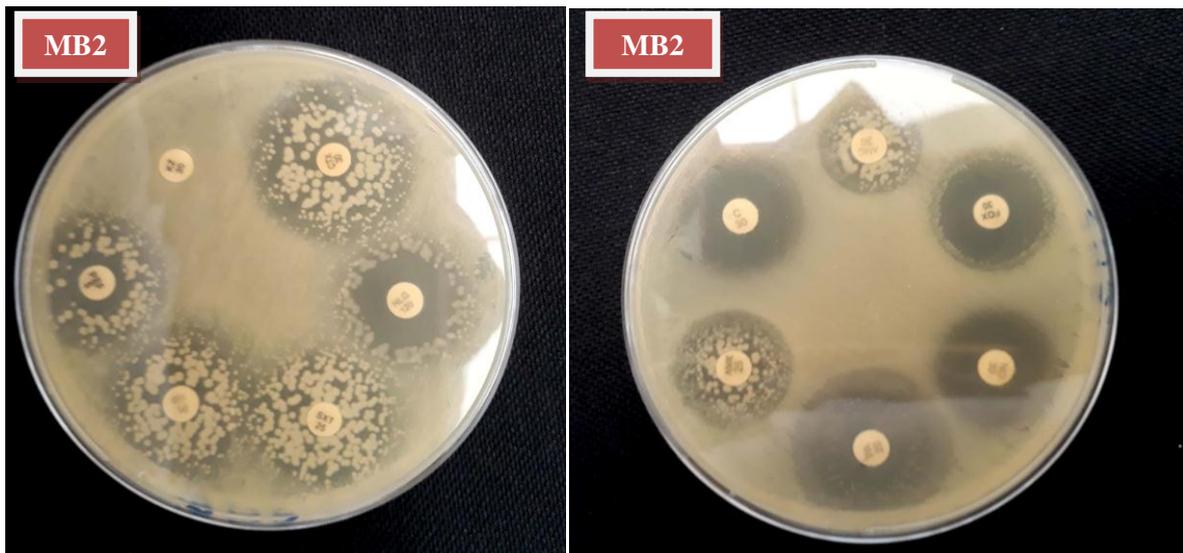
Ces résultats sont proches de celui rapporté par Guessennd et *al.*, 2013.



**Figure 37 :** L'antibiogramme d'*Aeromonas hydrophila*

Les *Serratia* sont parmi les espèces bactériennes les plus résistantes aux antibiotiques. Elles ont une résistance naturelle vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques. Parmi les *Serratia*, des souches pratiquement « résistantes à tout » peuvent se rencontrer. Elles posent des problèmes thérapeutiques difficiles.

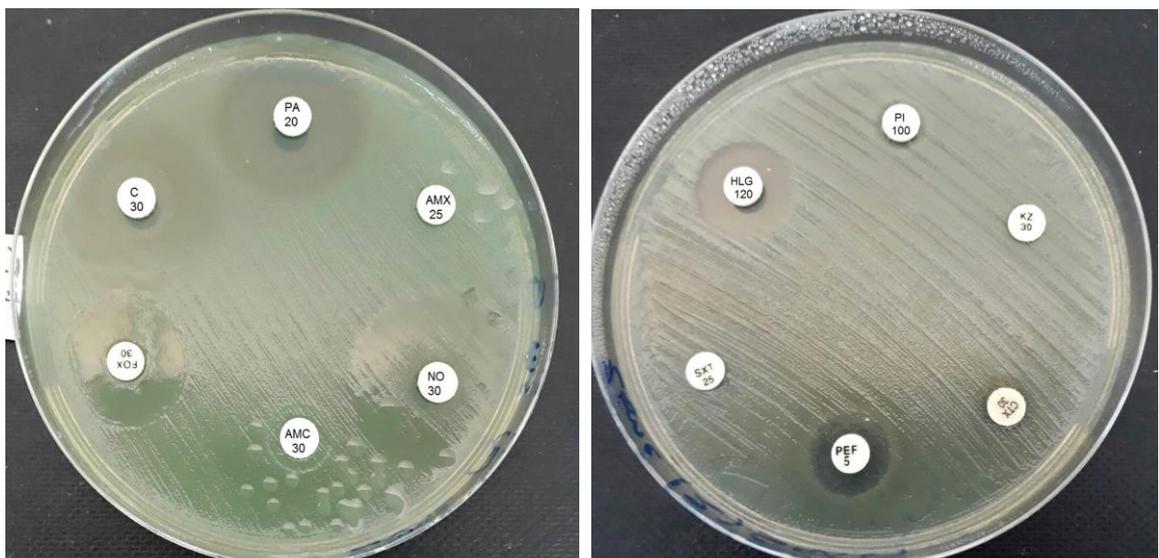
La plupart des souches de *Serratia* donne sur antibiogramme une zone d'inhibition autour de la colistine avec une repousse « en cocarde » autour du disque (fig 38). Cet aspect peut parfois s'observer avec d'autres espèces bactériennes.



**Figure 38** : L'antibiogramme de la souche *Serratia ficaria*

Les souches qui ont été identifiées comme *Pseudomonas* sp. (fig 39) MB7, MB8 sont sensible aux Pipéracilline, Gentamicine, Acide pipémidique. Ces souches sont résistantes aux céfotaxime, Cefazoline, Pefloxacine, Cefoxitine, Amoxicilline Triméthoprime/sulfaméthoxazole, Amoxicilline/ac. Clavulanique et ont une sensibilité intermédiaire au Nitroxoline.

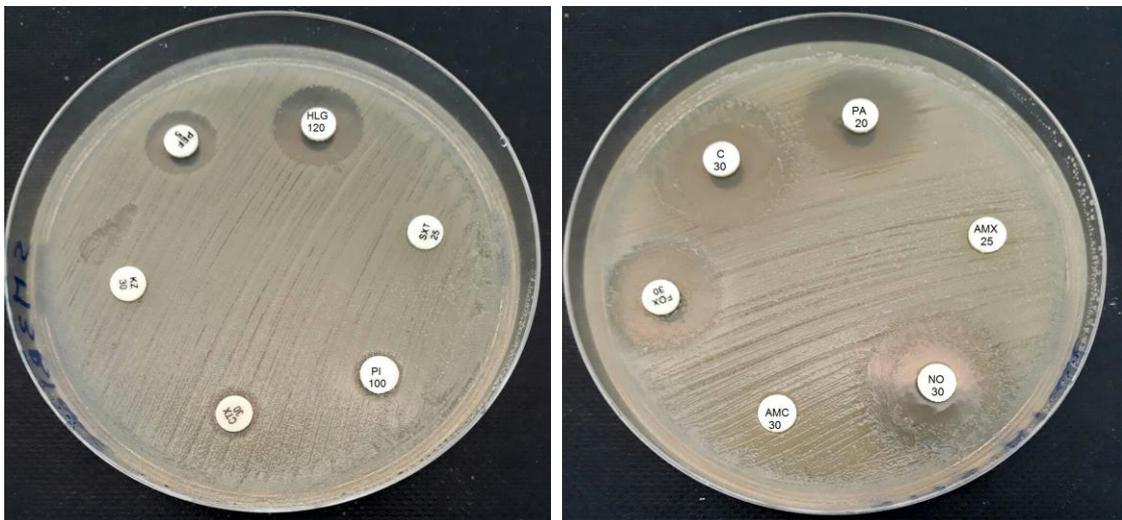
Selon les références, *Pseudomonas spp* résistantes à la fois aux bêtalactamines et aux Fluoroquinolones. Notre résultat sont accord avec les résultats de Guessennd et *al.*, (2013).



**Figure 39** : L'antibiogramme de *Pseudomonas* sp.

La souche *Corynebacterium* sp. (fig 40) MB24 est sensible aux Gentamicine, Chloramphénicol. Elle été Résistante aux cefotaxime, Cefazoline, Piperacilline, Pefloxacine, Amoxicilline Triméthoprime/sulfaméthoxazole, Amoxicilline/ac. Clavulanique et à une sensibilité intermédiaire au Cefoxitine, Nitroxoline, Acide pipémidique.

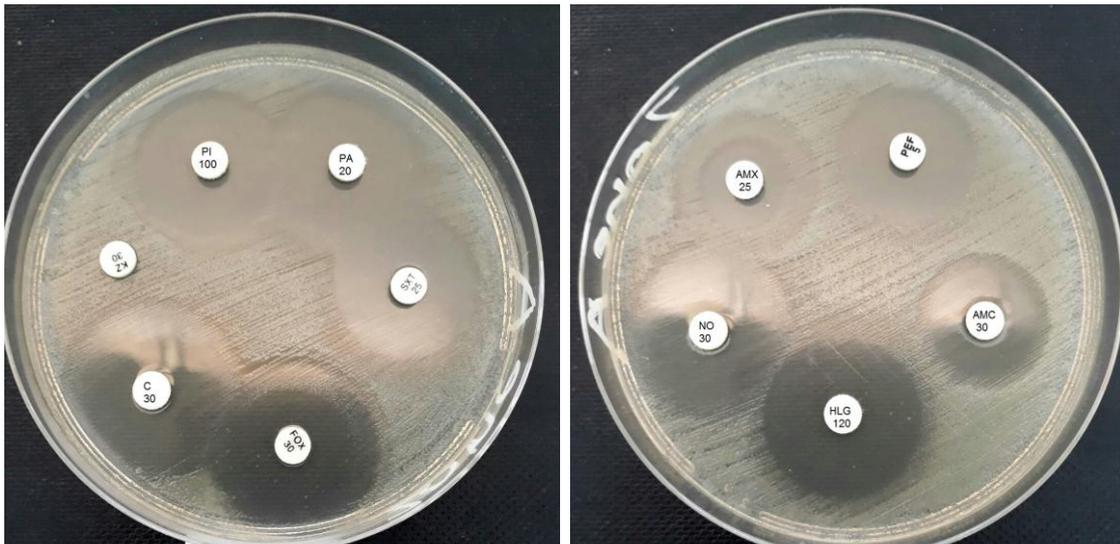
Selon les résultats des études réalisées antérieures, les souches de *Corynebacterium* étaient sensibles aux beta-lactamine, à la péfloxacine et a certain céphalosporines. Donc nos résultats ne sont pas compatibles avec Thomas et *al* en (2003).



**Figure 40:** L'antibiogramme de *Corynebacterium* sp.

La souche *Streptococcus* sp. (fig 41) MB17 est sensible aux Pipéracilline, Pefloxacine, Triméthoprime/sulfaméthoxazole, Gentamicine, Cefoxitine, Chloromphenicol, Acide pipémidique. Mais résistante aux céfotaxime, Cefazoline et à une sensibilité intermédiaire aux Amoxicilline/ac. Clavulanique, Amoxicilline, Nitroxoline.

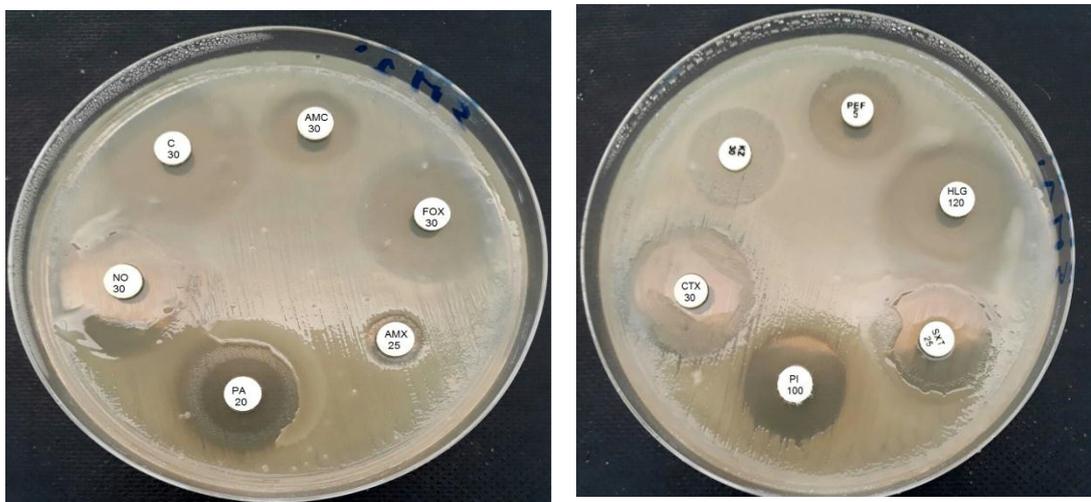
D'après les résultats de Youngho et *al* en 2016 les streptocoques résistent aux Amikacin, gentamicin, kanamycin paromomycin. Nos résultats ne sont pas identiques aux résultats précédents.



**Figure 41** : l'antibiogramme de *Streptococcus* sp.

La souche *Bacillus* sp. (fig 42) MB18 est sensible aux Cefazoline, Gentamicine, Triméthoprime/sulfaméthoxazole, Cefoxitine, Acide pipémidique. Résistante aux Amoxicilline/ac. Clavulanique, Amoxicilline et à une sensibilité intermédiaire aux cefotaxime, Piperacilline, Pefloxacine, Chloromphenicol.

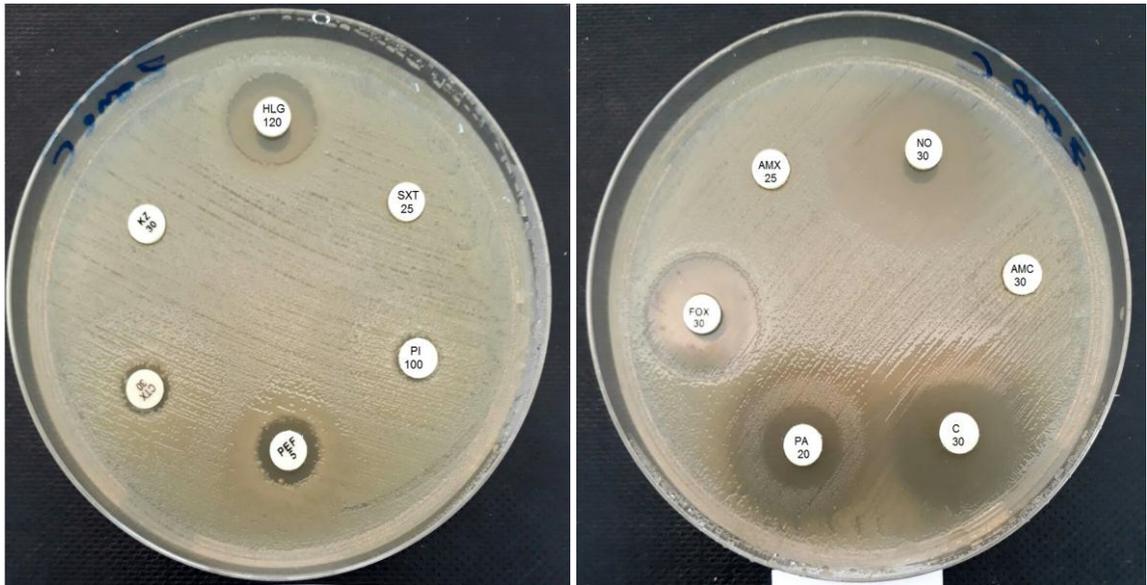
Selon les résultats précédents, *Bacillus* sp. a une sensibilité aux antibiotiques gentamicine et Sulfaméthoxazole et possède également une sensibilité intermédiaire au Chloramphénicol Cela confirme que nos résultats sont identiques à thomas et al en (2003).



**Figure 42:** L'antibiogramme de *Bacillus* sp.

La souche *Aeromonas* sp. (fig 43) MB1 est sensible aux Gentamicine et acide pipémidique. Elle est Résistante aux autres antibiotiques.

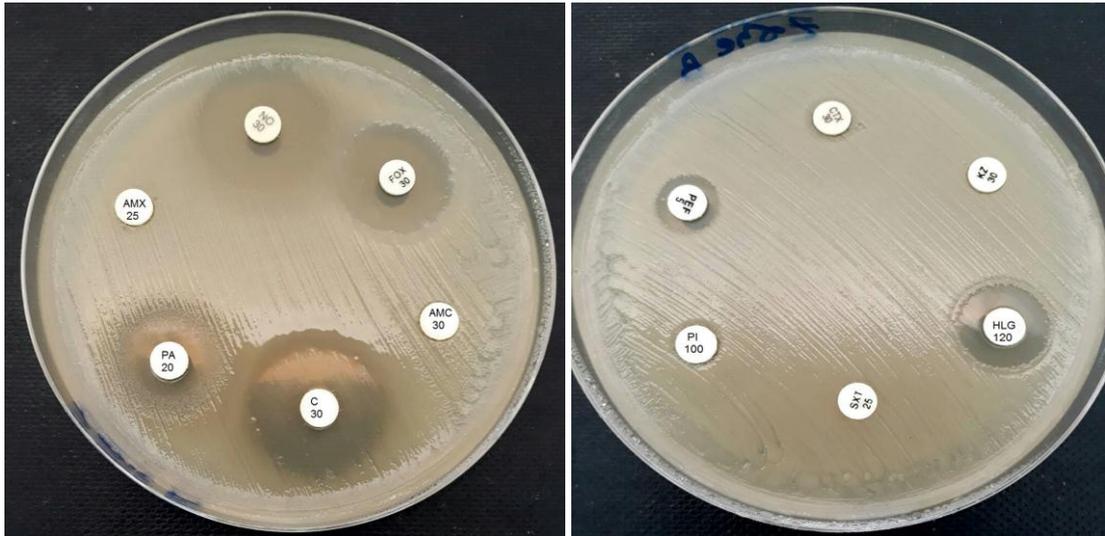
Selon les notes de référence, *Aeromonas* sp. est résistants à l'Amoxicilline et ne présentent aucune résistance à la gentamicine. Nous concluons que nos résultats sont identiques aux résultats précédents du Mary,D



**Figure 43 :** l'antibiogramme d '*Aeromonas* sp.

Les deux souches qui ont été identifiées comme *Micrococcus* sp. (fig 44) MB15, MB16 sont sensibles aux Chloromphenicol et sont résistantes aux Amoxicilline/ac. Clavulanique, Amoxycilline, Triméthoprim/sulfaméthoxazole, péfloxacine et à une sensibilité intermédiaire au Nitroxoline.

A partir des résultats de Thomas et *al* en (2003), La bactérie a une grande sensibilité contre l'antibiotique Chloromphenicol et ceci est cohérent avec nos résultats.



**Figure 44** : l'antibiogramme de la souche *Micrococcus* sp.

Les résultats de cette recherche préliminaire sur la caractérisation bactériologique des effluents hospitalières non traités du CHU de Constantine : des produits antibiotiques et autre molécules chimique rejets par les services de soins de cette établissement qui montrant une contamination élevée par des agents infectieux multirésistants et responsable des infections nosocomiales

Le *Pseudomonas* et le *Staphylocoque* sont les bactéries les plus souvent impliquées dans les infections ou les contaminations hospitalières (Guessennd et *al.*,2013).

Ces agents infectieux appartiennent à la flore hospitalière qui est composé des flores des malades, du personnel hospitalier et des germes de l'environnement. Nos résultats concordent avec les résultats obtenus par Schlosser en 1999, qui a montré que les *Pseudomonas* (plus de 10 fois supérieur) et des staphylocoques pathogènes ont été identifiées comme étant plus concentrées dans les effluents hospitaliers.

Les *Streptocoques* et les *Bacillus* sont des bactéries pathogènes. Le genre *streptocoque* est souvent responsable des infections respiratoires et cutanées. La bactérie *providencia stuartii* est souvent pathogène, elle est responsable principalement à des infections urinaires et autres infections chez l'homme.

Par contre le genre *Serratia* est rarement pathogène, mais ces bactéries sont fréquemment présentes dans l'environnement hospitalier. Chez l'homme, ces bactéries sont responsables : d'infections urinaires, d'infections respiratoires, et de contaminations des plaies.

Nos résultats sont proches avec les résultats d'Ekhaïse et P Omaywoya en (2008) qui ont montré, que les genres bactériens *streptocoques*, *Bacillus* et *Serratia*, étaient parmi les isolats les plus fréquemment distribués dans les eaux usées de l'hôpital.

*Aeromonas hydrophila* est reconnu comme un agent pathogène opportuniste, il est souvent isolée dans des infections de plaies subies en milieu aquatique. Nos résultats concordent avec les résultats obtenus par Picão en (2013) qui a montré que la famille des *Aeromonadaceae* était représentée dans les eaux usées de l'hôpital (avec un pourcentage de 18,6%).

Les genres *Corynebacterium*, *Micrococcus* et *Pantoea* sont souvent présentés aux niveaux des eaux usées.

Dans cette étude il faut noter l'absence de la bactérie témoin de contaminations

*Escherichia coli* qui peut être probablement lié à la concentration plus élevée en désinfectants et antibiotiques Darsy et al., (2002).

*Conclusion*  
*et*  
*Perspectives*

## Conclusion et perspectives

Cette recherche port sur l'identification phénotypique de vingt-cinq souches bactériennes isolées à partir des eaux usées du Centre Hospitalo-universitaire Dr. BENBADIS (au niveau de la station de relevage de sidi M'cid), aussi que l'évaluation des germes multirésistantes vis-à-vis des antibiotiques.

La première partie de cette étude concerne à l'identification de vingt-cinq isolats, en se basant sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques.

La coloration de Gram nous a permis d'obtenir huit souches à Gram négatif et dix-sept à Gram positif. Ces résultats ont été confirmés par le test de KOH.

Les tests biochimiques (API 20<sup>E</sup>, API® Staph) et les milieux sélectifs (Chapman et BCP) ont permis l'identification des souches étudiées comme suit: *Pseudomonas* sp, *Serratia ficaria*, *Serratia plymuthyca*, *Pantoea* sp, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus* sp, *Providencia stuartii*, *Corynebacterium* sp, *Streptococcus* sp, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus xylosus*, *Micrococcus*.

La deuxième partie de ce travail est consacré à la réalisation d'un antibiogramme pour tester la sensibilité ou la résistance des isolats vis-à-vis plusieurs antibiotiques (CTX, KZ, PI, PEF, HLG, SXT, FOX, PA, C, AMC, AMX, NO), Les bactéries sont révélés d'être multirésistantes aux différentes antibiotiques notamment l'Amoxicilline, le Triméthoprime/ sulfaméthoxazole, le Cefotaxime et le Cefazoline.

Sur le plan microbiologique, le danger qui caractérise les effluents hospitaliers est la présence de bactéries responsables des infections nosocomiales, aussi bien la présence de certaines bactéries multirésistantes aux antibiotiques, à la suite de l'exposition de ces rejetés pathogènes à des concentrations d'antibiotiques dans les cours d'eau contaminé de l'hôpital.

En perspective les techniques de base et de haute performance comme le séquençage génomiques, l'extraction de l'ADN des souches isolées, profils

électrophorétiques de l'ADN total des isolats identifiées, la mesure de paramètres chimiques (DBO<sub>5</sub>, DCO, MES, Azote), dénombrement de la FTAM..., doivent être réalisées, et aussi d'effectuées des analyses microbiologique après le traitement des effluents hospitaliers.

*Références*  
*Bibliographique*

## Références Bibliographiques

**Ameziane, N., Benaabidate, L.** (2014). Caractérisation microbiologique des effluents de l'hôpital Mohamed V de Meknès et étude de leur impact sur l'environnement. *Nature & Technologie*; 10 (18) : 31-38.

**Armangau, C.** (1967). Tentative d'utilisation des détergents anioniques comme traceurs de pollution fécale: Expériences réalisées sur l'émissaire du Lez à Palavas. *Trav. inst. Péchesmarit* ; 31 (4) :8 p.

**Belokda, w.** (2009). Contribution à une gestion des effluents liquides hospitaliers. Mémoire master : génie de l'environnement et santé. Université chouaib doukkali el Jadida.

**Boillot, C.** (2008). Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques. Thèse INSA de Lyon : Spécialité Sciences de l'environnement industriel et urbain. Lyon : École Doctorale de Chimie de Lyon (chimie, procédés, environnement) : 298 p.

**Brm (Bioréacteur à Membrane).** (2012). Bureau d'Etudes Industrielles Energies Renouvelables et Environnement (BEI ERE) [en ligne] (consultée le 6/04/2018)

**URL** : [hmf.enseeiht.fr/travaux/.../bioreacteur-membranes-principe-et-methodes-de-dimensio](http://hmf.enseeiht.fr/travaux/.../bioreacteur-membranes-principe-et-methodes-de-dimensio).

**Carraro, E., Bonetta, S., Bertino, C., Lorenzi, E., Bonetta, S., Gilli, G.** (2016). Gestion des effluents hospitaliers : risques chimiques et physiques, risques microbiologiques et législation dans différents pays. *Journal of Environmental Management*; 168 : 185-199.

**Caue 60.** Les principes de base de l'épuration des eaux usées : Eau et aménagements [en ligne] (consulté le 21/03/2018).

**URL** : <http://www.caue60.com/amenagement-paysager/eau-et-amenagements/les-principes-de-base-de-lepuration-des-eaux-usees/>

**Cicr (Comité International de la Croix-Rouge).** (2011). Manuel de gestion des déchets médicaux. Genève, Suisse : 1-164

**Darsy, C., Lescure, I., Payot, V., Rouland, G.** (2002). Effluents des établissements hospitaliers : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues : 10 p.

**Déronzier, G., Schérite, S., Racault, Y., Canler, J.P., Liénard, A., Héduit, A., Duchène, P.** (2001). Traitement de l'azote dans les stations d'épuration biologique des petites collectivités. Document Technique FNDAE, Cemagref éditions, Antony; 25 : 79 p.

**Décret exécutif définissant les modalités de gestion des déchets d'activités de soins.** (2003). *Journal Officiel de la République Algérienne*; 2003 (478) : 7 p.

**Ekhaïse, F.O. and Omavwoya, B.P.** (2008). Influence of Hospital Wastewater Discharged from University of Benin Teaching Hospital (UBTH), Benin City on its Receiving Environment. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*; 4 (4): 484-488.

**Emmanuel, E.** (2004). Évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse INSA de Lyon : Spécialité Sciences et Techniques du Déchet. Lyon : école doctorale de chimie de Lyon : 247 p.

**Evens, E., Perrodin, Y., Blanchard, J.M., Keck, G., Vermande, P.** (2004). Approche méthodologique de l'évaluation des risques écotoxicologiques des effluents hospitaliers vis-à-vis de la Step locale et de l'écosystème aquatique récepteur. *Déchets-sciences-techniques*; 35 : 18-27.

**DOI :** 10.4267/dechets-sciences-techniques.2116

**Guessennd, N., Ouattara, M., Ouattara, N., Nevry, R., Gbanon, V., Tiekoura, K., Dosso, M., Ger, B.** (2013). Étude des bactéries multirésistantes des effluents hospitaliers d'un centre hospitalier et universitaire (CHU) de la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *J. Appl. Biosci*; 69: 5456-5464.

**DOI:** 10.4314/jab.v69i0.95071

**Hamon Thermal.** Traitement des eaux usées [en ligne] (consulté le 18/03/2018).

**URL :** <http://www.hamon-watersolutions.com/introduction-63.php>

**Hannachi, A.I., Gharzouli, R., Djellouli Tabet, Y.** (2014). Gestion et Valorisation des Eaux Usées en Algérie. *Larhyss Journal*; 19 : 51-62.

**Kouider Moussaoui, A.** (2016). Traitement des déchets (solides et liquides) des hôpitaux. Mémoire master : Génie de l'environnement. Université de djilali bounaama, Khemis Miliana : 75 p.

**Leprat, P.** (1998). Les rejets liquides hospitaliers, quels agents et quelles solutions techniques? Les Assises Nationales Qualibio 1998 « Santé et Environnement Hospitalier », Caen : 10-13.

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

**Maribia's Blog.** (2009). Méthodes de désinfection de l'eau [en ligne] (consulté le 29/03/2009).

**URL :** <https://maribia.wordpress.com/methodes-de-desinfection-de-l'eau.html>

**Mary, D.** (2006). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture source in Australia; 100 (5) : 1103-1113.

**Mekkaoui, E.A., Ammari, K.** (2017). Identification phénotypique de huit souches bactériennes isolées à partir des eaux usées hospitalières et isolement de leurs bactériophages à partir du sol. Mémoire master : Microbiologie Générale et biologie Moléculaire des Microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine : 40-43.

**Moulin, S., Rozen- Rechels, D., Stankovic, M.** (2013). Traitement des eaux usées. Centre d'Enseignement et de Recherches sur l'Environnement et la Société : 10 p.

**Narsis, S.** (2012). Contribution à l'étude d'impact de l'exploitation du gisement ferrifère de la mine de l'Oueanza sur l'environnement. Magistère (Ecole doctorale) : Biologie. Annaba : Université Badji mokhtar annaba : 75 p.

**Picão, R.C., Cardoso, J.P., Campana, E.H., Nicoletti, A.G., Petrolini, F.V.B., Assis, D.M., Juliano, L., Gales, A.C.** (2013). The route of antimicrobial resistance from the hospital effluent to the environment: focus on the occurrence of KPC-producing *Aeromonas* spp. And Enterobacteriaceae in sewage. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*; 76: 80–85.

**DOI:** 10.1016/j.diagmicrobio.2013.02.001

**Qadir, M., Scott, C. A.** (2011). Contraintes non pathogènes liées à l'irrigation avec des eaux usées. In : Drechsel P., Scott C. A., Raschid-Sally L., Redwood M., et Bahri A. In : *L'irrigation avec des Eaux usées et la santé*. Québec : Presses de l'Université du Québec: 109-135

**Qiaoling, L., Yufen, Z., Lingyun, C., Xiang, Z.** (2010). Application of the MBR for the treatment of hospital wastewater in China; 250 (2): 605-608.

**Québec (Province), Groupe Hygiène et salubrité au regard de la lutte aux infections nosocomiales, Giguère, D., (2009).** Hygiène et salubrité en milieu de soins: démarche pour le développement de stratégies d'entretien des surfaces. MSSS, Québec: 77 p.

**Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J.P., Chambon, P., Champsaur, H., Rodi, L.** (2005). *L'analyse de l'eau : Eaux Naturelles, Eaux Résiduares, Eau de Mer*. Dunod, 8ème édition, Paris: 757-564.

**Seaco (Société de L'eau et de L'assainissement de Constantine).** L'eau et la sante [en ligne] (Consulté en Juin 2018).

**URL:** [http://www.seaco.dz/Service\\_assainissement](http://www.seaco.dz/Service_assainissement)

**Schollosser, O.** (1999). Intestinal parasite carriage in workers exposed to swage. *European Journal of Epidemiology*; 15(3): 261-265.

**Sewage Treatment Plant For Hospitals.** Save water save planet[en ligne] (consulté le 18/02/2018).

**URL:** Sewage Treatment Plant for Hospitals /STP for Hospitals [www.neoakruthi.com/.../sewage-treatment-plant-for-hospitals.htm](http://www.neoakruthi.com/.../sewage-treatment-plant-for-hospitals.htm).

**Seyhi, B., Patrick, D., Géraldo, B., Jean-François, B., Heran, M.** (2010). État actuel des connaissances des procédés de bioréacteur à membrane pour le traitement et la réutilisation des eaux usées industrielles et urbaines; 3 (24): 283–310.

**Thomas, S., Wolfgang, K., Bernd, J., Ursula, O.** (2003). Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance gene in wastewater; 43 (3): 325-335.

**Vandevenne, L.** (1982). Gestion des eaux usées urbaines et industrielles : Caractérisation-Techniques d'épuration-Aspects économiques. Rue Lavoisier – F 75384 Paris Cedex 08 : Technique et Documentation (Lavoisier); 14 (503).

**Yungho, A., Jeongdong, C.** (2016). Bacterial communities and antibiotic resistance communities in a full scale hospital wastewater traitement.

# *Annexes*

## Annexes 1 : coloration de Gram

**Principe :** Par la coloration différentielle de Gram, les bactéries Gram positif (Gram+) sont colorées en violet, les bactéries Gram négatif (Gram-) sont colorées en rose, ceci étant dû à une différence de composition de la paroi. Effectué à partir d'un frottis ou un étalement.

Etapes	Mode opératoires	Temps	Principe
Coloration primaire	Verser le violet de Gentiane sur la lame Jeter le colorant et rincer à l'eau	1 min	Le colorant violet pénètre dans les cellules bactériennes et toutes les bactéries sont colorées en violet
Mordantage	Verser la solution de Lugol Jeter le Lugol et rincer à l'eau	1 min	Cette étape permet de stabiliser la coloration violette par la formation de complexe chimique entre le violet et le Lugol
Décoloration	Faire couler de l'alcool-acétone sur la préparation, puis rincer à l'eau	15 secs	L'alcool pénètre dans la bactérie, La coloration au violet de Gentiane disparaît. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.
Coloration secondaire	Recouvrir la préparation de Fuschine Laver à l'eau	1 min	La Fuschine recoloré en rose les bactéries précédemment décolorées : les bactéries Gram -
Séchage	Sécher délicatement avec du papier buvard		

---

## Annexes 2 : les milieux de culture

- **Milieu Gélose nutritive (Pronadisa.laboratorios Conda S,A)**

Extrait de viande .....	1,0 g/l
Extrait de levure .....	2.5 g/l
Peptone .....	5,0 g/l
Chlorure de sodium .....	5,0 g/l
Agar .....	15, 0 g/l
pH = 7, 0	

- **Milieu Gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP)**

Tryptone.....	5g/l
Extraite de viande.....	3g/l
Lactose.....	10g/l
Pourpre de bromocresol.....	25mg
Agar .....	13g
pH =.7	

- **Milieu mannitol mobilité**

Hydrolysats tryptique de caséine .....	10g
mannitol.....	7,5g
Rouge de phénol.....	0 ,04g
Nitrate de potassium.....	1,0g
Agar.....	3,5g
pH =.7,8	

- **Milieu Mueller-Hinton**

Infusion de viande de bœuf .....	300ml
Peptone de caséine.....	17,5g
Amidon de maïs.....	15g
Agar.....	15g
pH : 7,4	

- **King B**

Protéase peptone n°03 .....	20g
Glycérol.....	10ml
Sulfate de magnésium.....	1,5g
Potassium phosphate dibasique.....	1,5g
Agar.....	15g
Eau distillée .....	1L

pH = 7,2

- **Milieu Chapman**

Peptone.....	10,0g
Extrait de viande de bœuf.....	1,0g
Chlorure de sodium .....	75,0g
Mannitol .....	10,0g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar agar .....	15,0g
Eau distillée .....	1L

pH = 7,4

- **Milieu mac Conkey**

Peptone .....	20g
Lactose .....	10g
Sels biliars.....	1,5g
Cristal violet.....	0,001g
Rouge neutre.....	0,05g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	15g

pH = 7,1

---

### Annexes 3 : réactifs utilisés

- **Réactif de la recherche de l'oxydase**

Support imprégné de tétraméthyle-p-phénylènediamine chlorhydrate.

- **Réactif TDA**

Perchlorure de fer ..... 3,4g/l

H<sub>2</sub>O.....100ml

- **Réactif kovacs**

p-diméthylamino-benzaldéhyde..... 5,00 g

Alcool iso-amylque..... 75 ml

Acide chlorhydrique pur .....25 ml

- **Réactif de Voges-Proskauer**

VP 1 (5 ml) composition :

KOH ..... 40 g

H<sub>2</sub>O ..... 100 ml

VP 2 (5 ml) composition :

Alpha-naphtol ..... 6 g

Ethanol ..... 100 ml

- **Réactif de Griess**

#### Réactif I

Acide sulfanilique (nitrite1).....0,8g/l

Acide Acétique 5N..... 100ml

#### Réactif II

a-naphtylamine (nitrite 2)..... 0,5 g/l

Acide acétique 5N .....100ml

- **Réactif de poudre de zinc**
- **Huile de vaseline**

Annexe 4 : Galerie Api 20<sup>E</sup>

Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révéléateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
CIT <sub>1</sub>	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
VP <sub>1</sub>	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
GEL <sub>1</sub>	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> )	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

## Annexe 5 : API® Staph bio Mérieux® SA

Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACTose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLiToI)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> jaune   violet	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle   violet-rose	
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

## Annexe 6 : l'antibiogramme

Le principe de l'antibiogramme est de mettre en culture des bactéries, et d'appliquer un disque contenant un antibiotique, afin de voir quels effets il joue sur la bactérie ciblée.

Tableau : les résultats de lecture d'antibiogramme des souches isolées

ATB Souche	CT X 30μ g	KZ 30μ g	PI 10 0 μg	PE F 5μg	HL G 120 μg	SXT 25μ g	FO X 30μ g	PA 20μ g	C 30μ g	AM C 30μg	AM X 25μg	NO 30μ g
MB4	32 mm	6	25	22	22	23	26	25	25	18	14	25
MB9	9	6	9	11	21	6	22	14	24	12	6	20
MB11	12	14	15	19	11	6	19	21	6	6	9	6
MB5	9	6	9	11	21	6	21	19	22	11	6	20
MB16	6	6	6	10	14	6	20	15	22	6	6	22
MB10	8	6	9	12	22	6	22	18	22	12	6	23
MB22	30	20	20	20	25	25	22	25	27	15	9	25
MB13	30	14	25	22	25	26	27	25	25	19	16	27
MB2	30	6	26	24	28	24	28	27	30	20	15	30
MB12	6	8	20	10	15	20	15	17	20	6	12	20
MB24	7	6	7	12	16	6	20	17	23	6	6	22
MB8	8	6	20	13	15	6	20	20	29	10	6	30
MB7	12	6	24	12	25	6	9	21	14	11	6	15
MB14	9	20	24	12	17	25	18	20	15	15	15	26
MB15	30	17	20	11	21	6	15	20	24	12	6	25
MB6	9	6	17	22	10	6	17	25	6	6	7	6
MB18	25	18	19	19	21	20	23	20	20	15	9	18
MB1	8	6	7	10	17	6	20	23	22	6	6	24
MB17	7	6	26	24	28	20	29	28	29	20	20	28
MB23	31	6	27	24	28	25	30	30	30	20	26	28

# *Résumé*

## Résumé

Les effluents non traités générés par les activités hospitalières ont la réputation d'être dangereuses, car ils sont susceptibles de disséminer des germes pathogènes et des bactéries multirésistantes dans l'environnement, mais aussi des molécules tels que les antibiotiques pouvant induire des effets importants sur la faune et la flore aquatique et la santé humaine.

L'objectif de cette étude est la caractérisation bactériologique des échantillons d'eaux usées hospitalières du CHU de Constantine prélevées en avril 2018 à partir de la station de relevage Sidi M'cid, à travers une identification phénotypique des isolats par les techniques bactériologiques conventionnelles et évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Les résultats des tests phénotypiques ont permis l'identification présomptive de 25 isolats étudiés : 52% sont des Cocci à Gram positif dont six isolats appartenant au genre *Staphylococcus* (*Staphylococcus xylosus* *Staphylococcus lentus*) et *Streptococcus* sp, et six autres souches *Micrococcus* sp. 16% sont des bacilles à Gram positif appartenant au genre *Bacillus* sp. et *Corynebacterium* sp. Par contre les bacilles à Gram négatif représentent 32 % des isolats, dont *Pseudomonas* sp, *Serratia ficaria*, *Serratia plymuthyca*, *Pantoea* sp, *Aeromonas hydrophila* et *Providencia stuartii*.

La plus part de ces bactéries sont multirésistantes aux différentes familles d'antibiotiques testés: Amoxicilline, Triméthoprime/ sulfaméthoxazole, Cefotaxime et Cefazoline.

Il ressort de cette étude préliminaire que les effluents hospitaliers non traités renferment la plupart des bactéries pathogènes multirésistantes impliquées dans les infections communautaires et nosocomiales. Cette résistance peut aussi être acquise à la suite de l'exposition répétée de ces pathogènes à des concentrations d'antibiotiques dans les cours d'eau contaminé du CHU Constantine.

**Mots clés :** Effluents hospitaliers, antibiotiques, multirésistances, infections nosocomiales, déchets de soins, eaux usées, CHU Constantine, station de relevage Sidi M'cid

## Abstract

Untreated effluents generated by hospital activities have the reputation of being dangerous because they are likely to disseminate pathogens and multidrug-resistant bacteria in the environment, but also molecules such as antibiotics that can induce significant effects on the aquatic fauna, flora and human health.

The objective of this study is the bacteriological characterization of Constantine hospital (UHC) effluent samples collected on April 2018 from the Sidi M'cid wastewater pumping station, through phenotypic identification of the isolates by conventional bacteriological techniques and evaluation of their sensitivity to antibiotics by the agar diffusion method.

The results of the phenotypic tests allowed the presumptive identification of 25 isolates studied: 52% are Gram-positive Cocci including six isolates belonging to the genus *Staphylococcus*; *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus lentus*, and *Streptococcus* sp, and six other strains *Micrococcus* sp. 16% are Gram positive bacilli belonging to the genus *Bacillus* sp. and *Corynebacterium* sp. In contrast, Gram-negative bacilli represent 32% of the isolates, including *Pseudomonas* sp, *Serratia ficaria*, *Serratia plymuthica*, *Pantoea* sp, *Aeromonas hydrophila* and *Providencia stuartii*. Most of these bacteria are multi-resistant to the different families of antibiotics tested: Beta-Lactamines, Amoxicilline, Trimethoprim / sulfamethoxazole, Cefotaxime and Cefazoline.

This preliminary study shows that untreated hospital effluents contain most of the multidrug-resistant pathogens involved in community-acquired and nosocomial infections. This resistance can also be acquired as a result of repeated exposure of these pathogens to antibiotic concentrations in wastewater streams of Constantine UHC.

Key words: Hospital effluents, health risks, antibiotics, multidrug-resistant bacteria, nosocomial infections, health care waste, wastewater, Constantine University Hospital Center (UHC).

## ملخص

النهايات السائلة غير المعالجة الناتجة عن أنشطة المستشفيات قد تكون خطرة لأنها المسؤولة عن انتشار الجراثيم الممرضة و البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية في البيئة، و انتشار جزيئات مثل المضادات الحيوية التي يمكن أن تحدث تأثيرات على البيئة المائية الحيوية، النباتية و الحيوانية و على صحة الإنسان.

الهدف من هذه الدراسة هو الوصف البكتيريولوجي لعينات من مياه الصرف الصحي للمركز الاستشفائي الجامعي بقسنطينة التي تم اخذها في شهر افريل 2018 من محطة ضخ مياه الصرف الصحي سيدي مسيد، و هذا من خلال تحديد الجانب الظاهري للعزلات البكتيرية بواسطة التقنيات البكتيريولوجية التقليدية و تقييم حساسيتها للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار على وسط أجار.

سمعت نتائج الاختبارات المظهرية بتشخيص محتمل لـ 25 عزلة : 52% مكورات إيجابية الجرام، بما في ذلك ستة عزلات تنتمي إلى جنس المكورات العنقودية *Staphylococcus xylosus* ، *Staphylococcus lentus* و *Streptococcus sp.* وستة سلالات أخرى *Micrococcus sp.* 16% عصيات إيجابية الغرام تنتمي إلى جنس *Corynebacterium Bacillus sp.* في المقابل، 32% من العزلات تمثل عصيات سلبية الغرام ، بما في ذلك *Pseudomonas sp.* ، *Serratia ficaria* ، *Pantoea sp.* و *Serratia plymuthyca*.

معظم هذه البكتيريا هي متعددة المقاومة لعائلات مختلفة من المضادات الحيوية المختبرة: *Bêta-Lactamines* ، *Amoxicilline* ، *Triméthoprim/ sulfaméthoxazole* ، *Cefotaxime* et *Cefazoline*.

تظهر هذه الدراسة الأولية أن نهايات المستشفيات السائلة غير المعالجة تحتوي على معظم البكتيريا الممرضة المقاومة للمضادات الحيوية المسؤولة عن عدوى المستشفيات و المنقولة عن المجتمع. يمكن أن تكون هذه المقاومة ناتجة عن التعرض المتكرر لهذه الجراثيم الممرضة لتركيزات مختلفة من المضادات الحيوية المتواجدة في نيارات الصرف الصحي للمستشفى الجامعي بقسنطينة .

ال كلمات المفتاحية: مياه الصرف الصحي للمستشفيات ، المخاطر الصحية، المضادات الحيوية، البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة، عدوى المستشفيات، نهايات الرعاية الصحية ، ومركز المستشفى الجامعي بقسنطينة.

**Evaluation Bactériologique des eaux usées hospitalières du CHU de Constantine prélevées à partir de la station de relevage Sidi M'cid**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

## Résumé

Les effluents non traités générés par les activités hospitalières ont la réputation d'être dangereuses, car ils sont susceptibles de disséminer des germes pathogènes et des bactéries multirésistantes dans l'environnement, mais aussi des molécules tels que les antibiotiques pouvant induire des effets importants sur la faune et la flore aquatique et la santé humaine. L'objectif de cette étude est la caractérisation bactériologique des échantillons d'eaux usées hospitalières du CHU de Constantine prélevées en avril 2018 à partir de la station de relevage Sidi M'cid, à travers une identification phénotypique des isolats par les techniques bactériologiques conventionnelles et évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats des tests phénotypiques ont permis l'identification présomptive de 25 isolats étudiés : 52% sont des Cocci à Gram positif dont six isolats appartenant au genre *Staphylococcus* ; *Staphylococcus xylosus* *Staphylococcus lentus* et *Streptococcus* sp, et six autres souches *Micrococcus* sp. 16% sont des bacilles à Gram positif appartenant au genre *Bacillus* sp. et *Corynebacterium* sp. Par contre les bacilles à Gram négatif représentent 32 % des isolats, dont *Pseudomonas* sp, *Serratia ficaria*, *Serratia plymuthyca*, *Pantoea* sp, *Aeromonas hydrophila* et *Providencia stuartii*. La plus part de ces bactéries sont multirésistantes aux différentes familles d'antibiotiques testés: Les Bêta-Lactamines, Amoxicilline, Triméthoprime/sulfaméthoxazole, Cefotaxime et Cefazoline.

Il ressort de cette étude préliminaire que les effluents hospitaliers non traités renferment la plupart des bactéries pathogènes multirésistantes impliquées dans les infections communautaires et nosocomiales. Cette résistance peut aussi être acquise à la suite de l'exposition répétée de ces pathogènes à des concentrations d'antibiotiques dans les cours d'eau contaminé du CHU Constantine.

**Mots clés :** Effluents hospitaliers, antibiotiques, multirésistances, infections nosocomiales, déchets de soins, eaux usées, CHU Constantine, station de relevage Sidi M'cid

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de microbiologie N°14

Jury d'évaluation :      **Président du jury :** Bouzraib Latifa (MAA - UFM Constantine),  
   **Rapporteur :** Boubekri Karima (MCA - UFM Constantine),  
   **Examineur :** Abdelaziz Widad (MAA - UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 27/06/2016