



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 Frères-Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
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 : *Biologie Moléculaire des Microorganismes.*

Intitulé :

Identification de 24 souches bactériennes isolées à partir des effluents hospitaliers du CHU Constantine, et essai de l'activité antibactérienne des extraits de *Cynara cardunculus* sur deux de ces isolats.

Présenté et soutenu par : *BOUTADJINE Hibat Ellah*

Le : 15/07/2019

BOULTIF Asma

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr *ARABET Dallel* (MCA - UFM Constantine).

Encadreur : Dr *BOUBEKRI Karima* (MCA - UFM Constantine).

Examinatrice : Dr *ABDELAZIZ Widad* (MCB-UFM Constantine)

*Année universitaire
2018 - 2019*

Remerciements

Avant tout, on remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail.

Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

Un remerciement spécial pour notre encadreur Dr Boubekri Karima maitre de conférences A au département de Microbiologie à la Faculté de SNV (Université Frères Mentouri-Constantine 1), Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, qui nous a beaucoup aidé, et qui nous a orienté avec ses conseils. Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, soyez rassurée de notre profonde gratitude et notre respectueuse considération pour vos qualités scientifiques et humaines qui resteront à jamais un exemple pour nous. Et surtout, un grand merci à sa longue patience.

Un remerciement spécial au Dr. Baali (département de Biologie Animale, Université Frères Mentouri-Constantine 1) qui nous a fourni l'extrait de plante et qui nous a aidé à réaliser la partie de l'activité antibactérienne.

Nous remercions chaleureusement Dr Arabet Dallel, maitre de conférences A au département de Microbiologie, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire. Nous la remercions pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nos sincères remerciements vont également au Dr Abdelaziz Widad, maitre de Conférences B au département de Microbiologie à l'Université Frères Mentouri-Constantine 1, d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre entière reconnaissance.

Nos vifs remerciements vont à Mme ZAROUE Nadia, responsable du laboratoire de microbiologie N°9 de la Faculté, et à son équipe, qui nous ont

facilité la réalisation de ce travail. Nous exprimons nos profondes reconnaissances et qu'ils trouvent ici le témoignage de nos profondes reconnaissances.

Nous remercions également de tous nos cœurs tous les enseignants qui ont contribué à notre apprentissage depuis notre jeune âge à ce jour, et nous leur adressons nos sentiments, respectueusement reconnaissants pour tout le savoir qu'ils nous ont prodigués.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

Encore une fois de plus merci.

Dédicace

En guise de reconnaissance, je dédie ce mémoire :

À DIEU, le tout puissant qui m'a donné le courage, la volonté pour réaliser ce modeste travail.

*À ma très chère **Maman** et mon très cher **Papa** pour leurs sacrifices, soutiens moraux, tendresses, et encouragements tout au long de mes études et durant ce mémoire. Ils m'ont tout offert pour que je réussisse,*

*À mes chers frères **TAREK** et **HAITHEM** pour leur amour et compréhension.*

*À mon binôme **ASMA** qui m'a supporté tout au long de cette période*

À tous mes amis

À ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Hiba.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents,

Qu'Allah vous bénisse et vous garde pour moi

À mon frère ATHMANE

À ma sœur HADJER

À mon binôme de travail, ma chère HIBA

À tous mes amis...

À toute personne qui a contribué à la réalisation de ce mémoire de près ou de loin.

Asma.

Tables des matières

INTRODUCTION	1
RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I. LES EAUX USEES HOSPITALIERES :	4
1. Définition.....	4
2. Origine des effluents liquides hospitaliers	4
3. Estimation de la quantité des effluents liquides générés.....	5
4. Caractérisation des effluents hospitaliers	5
4.1. Caractérisation microbiologique.....	5
4.2. Caractérisation physico-chimique des effluents hospitaliers.....	8
4.3. Caractérisation des composés pharmaceutiques	8
4.4. Caractérisation écotoxicologique.....	11
4.5. Caractérisation de la radioactivité.....	12
5. Risques des effluents hospitaliers	13
5.1. Risque infectieux	13
5.2. Risque toxique	14
II. LE PRETRAITEMENT DES EAUX USEES HOSPITALIERES	15
Introduction :.....	15
1. Les techniques de prétraitement des eaux usées hospitalières :	17
1.1. Les boues activées (CAS) :	17
1.2. Les bioréacteurs à membrane (MBR) :.....	18
1.3. Les Procédés d'oxydation avancée :	20
1.3.1. Principales techniques d'oxydation avancée :.....	21
1.3.1.1. Procédé de peroxydation H_2O_2/O_3 :.....	21
1.3.1.2. Procédé UV/ H_2O_2 :	22
1.4. Charbon actif :	22
1.5. L'ozonation :	22
1.6. Les rayons ultraviolets :.....	23
2. Efficacité de prétraitement des eaux usées hospitalières :.....	24
2.1. Efficacité de traitement en cas de réduction des concentrations pharmaceutiques :	24
2.2. Efficacité de traitement en cas de réduction des effets écotoxicologiques :.....	25

2.3. Efficacité de traitement en cas de réduction des bactéries résistantes aux antibiotiques :	25
2.4. Évaluation des coûts :	25
III. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS DES PLANTES MEDICINALES	26
<i>Introduction</i>	26
<i>1. Description botanique et distribution géographique</i>	27
<i>2. Position systématique de Cynara cardunculus</i>	28
<i>3. Propriétés biologiques de Cynara cardunculus</i>	28
<i>4. Les plantes médicinales</i>	29
<i>5. Classification des composés antimicrobiens des plantes</i>	29
5.1 Les composés phénoliques	29
5.1.1. Flavonoïdes	30
5.1.2. Tanins	30
5.2. Les alcaloïdes	30
5.3. Les huiles essentielles	31
<i>6. Phytothérapie</i>	31
MATERIEL ET METHODES	35
1. CADRE D'ETUDE	35
2. SOUCHE BACTERIENNE ENVIRONNEMENTALE	35
2.1. Site de prélèvement	35
2.2. Méthode de prélèvement	35
3. REPIQUAGE DES SOUCHES	35
4. PURIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES	36
5. CONSERVATION DES SOUCHES	37
6. IDENTIFICATION DES SOUCHES	37
6.1. Caractères cultureux et morphologiques	37
6.1.1 Étude macroscopique	37
6.1.2 Étude microscopique	37
6.2. Caractère biochimique	39
6.2.1. Test catalysé	39
6.2.4. Milieux sélectifs	40
6.4. Identification par la galerie (API®Staph)	43
6.5. Test de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)	44

6.6. <i>Activité antibactérienne</i>	45
6.6.1. Préparation des extraits	45
RESULTATS ET DISCUSSION	48
I. IDENTIFICATION DES SOUCHES :	48
1. <i>Étude des caractères cultureux et morphologiques</i> :	48
1.1. L'aspect macroscopique :	48
1.2. L'aspect microscopique :	49
2. <i>Étude des caractères biochimiques</i> :	57
2.1. Tests de catalase, oxydase, Mannitol Mobilité :	57
2.2. Les milieux sélectifs :	59
2.2.1 Milieu Mac Conckey :	59
2.2.2 Milieu Hectoen :	59
2.2.3 Milieu Chapman :	60
2.2.4 Milieu Gélose au sang :	61
3. Identification par la galerie API 20 ^E :	62
4. <i>Identification par la galerie Api STAPH</i> :	64
5. <i>Identification par la galerie API 20 NE (non-Entérobactéries)</i> :	66
6. <i>Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques</i>	72
7. <i>Test de sensibilité aux extraits des plantes</i>	76
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	79
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	81
ANNEXES	91

Liste des Figures

FIGURE 1: DISTRIBUTION DES DIFFERENTES TECHNIQUES DE PURIFICATION DES EAUX USEES HOSPITALIERES DANS LE MONDE.....	16
FIGURE 2: SCHEMA D'UN REACTEUR DE BOUE ACTIVEE (MEMENTO DEGREMONT ®, 2019)	17
FIGURE 3: SCHEMA D'UN BIOREACTEUR A MEMBRANE EXTERNE (ZAMBRANO, 2009).....	19
FIGURE 4: SCHEMA D'UN BIOREACTEUR A MEMBRANES IMMERGEEES (ZAMBRANO, 2009)	19
FIGURE 5: SCHEMA ILLUSTRATIF DES INSTALLATIONS PILOTES (ADAMCZAK ET AL., 2012).....	26
FIGURE 6: PHOTOS DE LA PLANTE CYNARA CARDUNCULUS (BAALI, 2017).	28
FIGURE 7: PURIFICATION DES SOUCHES SUR MILIEU GELOSE (GELOSE NUTRITIVE ET BCP).	36
FIGURE 8: PURIFICATION DES SOUCHES PAR LA METHODE DES BILLES.	36
FIGURE 9: ASPECT DE VIBRIO SOUS MICROSCOPE DES BACTERIES NON PURES APRES COLORATION DE GRAM.....	49
FIGURE 10: REPARTITION DES SOUCHES ETUDIEES EN GRAM POSITIF ET GRAM NEGATIF.	50
FIGURE 11: TEST DE MANNITOL MOBILITE.....	58
FIGURE 12: CROISSANCE DES BACTERIES A GRAM NEGATIF SUR MILIEU HECTOEN	60
FIGURE 13: CROISSANCE DES BACTERIES HALOPHILES SUR MILIEU CHAPMAN	60
FIGURE 14: OBSERVATION DE L'HEMOLYSE PAR LES SOUCHES ETUDIEES SUR MILIEU GELOSE AU SANG.	61
FIGURE 15: PROFIL SUR API 20 E DE LA SOUCHE S15.....	63
FIGURE 16: PROFIL SUR API 20 E DE LA SOUCHE S11	63
FIGURE 17: PROFIL SUR API 20 E DE LA SOUCHE S12.....	63
FIGURE 18: PROFIL SUR API 20 E DE LA SOUCHE S22.....	64
FIGURE 19: PROFIL SUR API 20 E DE LA SOUCHE S14.....	64
FIGURE 20: PROFIL SUR API STAPH DE LA SOUCHE S19.	65
FIGURE 21: PROFIL SUR API STAPH DE LA SOUCHE S3.	65
FIGURE 22: PROFIL SUR API STAPH DE LA SOUCHE S18.	66
FIGURE 23: PROFIL SUR API 20 NE DE LA SOUCHE S7.....	67
FIGURE 24: PROFIL SUR API 20 NE DE LA SOUCHE S1.....	67
FIGURE 25: PROFIL SUR API 20 NE DE LA SOUCHE S21.....	67
FIGURE 26: CLES DICHOTOMIQUES DE DIFFERENCIATION DES BACILLES A GRAM POSITIF.....	68
FIGURE 27: CLES DICHOTOMIQUES DE DIFFERENCIATION DES COCCI A GRAM POSITIF.	69
FIGURE 28: POURCENTAGE DES BACTERIES PRESENTES DANS LES EFFLUENTS HOSPITALIERS	70
FIGURE 29: L'ANTIBIOGRAMME DE STAPHYLOCOCCUS SP.	74
FIGURE 30: L'ANTIBIOGRAMME D'ESCHERICHIA COLI.....	75
FIGURE 31: L'ANTIBIOGRAMME DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA.	75
FIGURE 32: L'ANTIBIOGRAMME DE BACILLUS SP.....	76

Liste des tableaux

TABLEAU 1: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES EFFLUENTS HOSPITALIERS.....	9
TABLEAU 2: CONCENTRATIONS DES ANTIBIOTIQUES DOSÉES DANS DES EFFLUENTS HOSPITALIERS	11
TABLEAU 3: CLASSIFICATION SYSTÉMATIQUE DE LA <i>C. CARDUNCULUS</i> (BAALI, 2017).....	28
TABLEAU 4: CLASSE MAJEURE DE COMPOSÉS ANTIMICROBIENS DES PLANTES ET MÉCANISMES D'ACTION (BEDDOU, 2016).....	32
TABLEAU 5: LA LISTE DES ANTIBIOTIQUES UTILISÉS.	44
TABLEAU 6: DESCRIPTION MACROSCOPIQUE DES SOUCHES ÉTUDIÉES.	48
TABLEAU 7: DESCRIPTION MICROSCOPIQUE DES SOUCHES ÉTUDIÉES.....	51
TABLEAU 8: LES CARACTÈRES BIOCHIMIQUES DES SOUCHES ÉTUDIÉES.	57
TABLEAU 9: LES RÉSULTATS DES TESTS BIOCHIMIQUES DES BACILLES À GRAM NÉGATIF.....	62
TABLEAU 10: LES RÉSULTATS DES TESTS BIOCHIMIQUES DES COCCI À GRAM POSITIF.	64
TABLEAU 11: LES RÉSULTATS DES TESTS BIOCHIMIQUES DES BACILLES À GRAM NÉGATIF NE.	66
TABLEAU 12: IDENTIFICATION PRESOMPTIVE DES SOUCHES ÉTUDIÉES.	70
TABLEAU 13: LES PROFILS DE RÉSISTANCE DES SOUCHES CARACTÉRISÉES.....	72
TABLEAU 14: COLORATION DE GRAM	91
TABLEAU 15: LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE	95
TABLEAU 16: LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE	96
TABLEAU 17: ANTIBIOGRAMME.....	97

Liste des abréviations

ADH : Arginine Dihydrolase

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité SANitaire des Produits de Santé

AMY : Amygdaline

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament

API : Appareillage et Procédé d'Identification.

ARA: Arabinose.

AS: activated sludge

ATB: Antibiotique.

CAS : conventional activated sludge

Cf : coliforme fécaux

CHU : Centre hospitalo-universitaire.

CIT : Citrate de Simmons

CMI : *Concentration minimale inhibitrice.*

Coag : coagulation

Ct : Coliforme totaux

CWs : constructed wetlands

DBO5 : Demande Biochimique en Oxygène après incubation durant 5 jours à 20 °C.

DCO : Demande Chimique en Oxygène.

FL : flocculation

FLO : flotation

FTAM : Flore totale aérobie mésophile.

GAC : granular activated carbon

GEL : Gélatinase

Gélose BCP : Gélose lactosée au pourpre de bromocrésol.

GN: Gélose nutritive.

GLU: Glucose

H-SSF: horizontal subsurface flow

HWW: hospital wastewater

IND : Indole

INO : Inositol

LDC : Lysine Décarboxylase.
MAN: Mannitol.
MBBR: moving bed biofilm reactor
MBR : Bioréacteur à membrane.
MEL : Mélibiose
MES : Matières en suspensions.
MVS : Matières volatiles en suspensions.
NF : nanofiltration
ODC : Ornithine décarboxylase.
OMS :Organisation mondiale de la santé
ONPG: Ortho-Nitro-phényl-Galactoside.
PAC : powdered activated carbon
PH : pH : potentiel de l'hydrogène
POA : Procédés d'oxydation avancée
RHA : Rhamnose.
RO: reverse osmosis
SAC: Saccharose.
Sf : sterptocoque fécaux
SFHH : Société Française d'Hygiène Hospitalière
SOR : Sorbitol.
TDA : Tryptophane désaminase.
TSS: Total des matières en suspension
UF : ultrafiltration
URE : Uréase
UV : ultraviolet
UWW: urban wastewater
V-SSF: vertical subsurface flow.
VP:Voges-Proskauer.

Introduction

Introduction

Les effluents générés par les activités hospitalières peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement. Cela, compte tenu de la nature et de l'importance des substances qu'ils contiennent comme les résidus médicamenteux, les réactifs chimiques, les antiseptiques, les détergents, les révélateurs et fixateurs de radiographies. En outre, les effluents hospitaliers contiennent des bactéries potentiellement pathogènes, des virus et des champignons. Ces déchets liquides sont évacués au même titre que les rejets urbains classiques vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable.

Dans les pays développés, la majorité des eaux usées domestiques, hospitalières et industrielles sont collectées puis traitées dans des stations d'épuration (STEP) où elles vont subir plusieurs types de traitements afin de lutter contre leurs effets nocifs. Cependant, bien que de nombreux micropolluants soient éliminés par adsorption ou biodégradation dans les STEP, certaines molécules (médicaments, graisses, etc.) difficilement biodégradables traversent les stations d'épuration et sont directement rejetées dans le milieu naturel (Toure *et al.*, 2016).

Dans ce contexte, la problématique des rejets d'effluents hospitaliers devient de plus en plus importante. En effet, ces établissements génèrent des volumes importants d'effluents liquides qui contiennent des substances spécifiques) et surtout, sont susceptibles de disséminer des germes pathogènes (El alami, 2017).

Les différents problèmes résultant des rejets liquides des établissements de soins suscitent un questionnement sur le devenir des polluants hospitaliers dans l'environnement, et sur la nécessité de développer des outils de gestion et de décontamination des eaux usées de ces établissements avant leur raccordement aux réseaux d'assainissement urbains.

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 (Boubekri, 2018).

Ces déficiences des mécanismes d'épuration se juxtaposent à la mise en évidence de germes pathogènes multirésistants aux antibiotiques dans les rejets liquides des établissements de

santé. Par conséquent, ces rejets représentent une voie importante pour la dissémination des gènes de résistance et des bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'environnement naturel. Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques a conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal, particulièrement chez plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

Ce travail est une continuation du projet de recherche lancé en 2015 par notre encadreur et qui porte sur l'étude microbiologique des effluents hospitaliers.

L'objectif du présent travail est :

- de synthétiser les informations sur les différents paramètres physiques, chimiques et microbiologiques caractérisant les rejets liquides provenant des établissements de soins, et de mettre également le point sur la diversité des modes de traitement de ces effluents, des traitements les plus basiques aux plus innovants.
- 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.
- étude de l'activité antibactérienne des extraits de la plante *Cynara cardunculus*.

*Recherche
bibliographique*

Recherche bibliographique

I. Les eaux usées hospitalières :

1. Définition

Les effluents hospitaliers sont des eaux polluées produites par différentes unités médicales, composées d'un mélange de rejets qui peuvent présenter un danger physique, chimique ou biologique pour l'homme et l'environnement.

2. Origine des effluents liquides hospitaliers

D'un point de vue qualitatif, les effluents liquides hospitaliers peuvent être classés en trois grandes catégories (Boillot, 2008) :

1. Les rejets d'origine domestique qui regroupent les eaux provenant des cuisines, les rejets résultant de l'hygiène des patients non contagieux et du personnel.

2. Les rejets assimilables à des effluents industriels qui sont générés par certains équipements spécifiques (blanchisseries, chaufferies, climatisations, ateliers, garages).

3. Les effluents spécifiques aux établissements de santé qui sont générés par les activités de soins, d'analyse et de recherche. Cette dernière catégorie est responsable de la singularité des effluents hospitaliers et nécessite à ce titre, d'être détaillée. Les rejets liquides spécifiques aux activités médicales comprennent principalement :

a. Les effluents des services de soins qui contiennent des désinfectants (le glutaraldéhyde, l'hypochlorite de sodium, etc.), des détergents (surfactants cationiques, non-ioniques et anioniques), des résidus médicamenteux (antibiotiques, anticancéreux, etc.), des rejets contenant des métaux (révélateurs et fixateurs de radiographies) ou encore des rejets contenant des germes pathogènes qui sont souvent polyrésistants aux antibiotiques : germes présents dans les rejets humains (salmonelles, etc.), bactéries responsables des infections nosocomiales (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, etc.), des virus, des parasites.

b. Les effluents des services médico-techniques qui proviennent des salles d'opération et dans lesquels on retrouve entre autres des liquides biologiques très chargés en matières

organiques : sang, urines, selles, liquide gastrique, aspiration trachéo-bronchite, liquides d'épanchement péritonéal ou pleural, de drainage ou d'irrigation, etc.

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

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

e. Les effluents des services de médecine nucléaire. Certains éléments radioactifs (iode 131, technétium 99m, etc.) sont susceptibles de dispersion, même si leur évacuation est soumise à réglementation.

3. Estimation de la quantité des effluents liquides générés

Selon les normes de l'OMS (Chartier *et al.*, 2014), le calcul de la quantité des liquides hospitaliers est relié à la spécificité de l'hôpital en question (hôpital général ou spécialisé), à sa capacité litière et son niveau d'intervention (hôpital local, provincial ou préfectoral, régional ou un centre universitaire). Ainsi, la production d'eaux usées dans les hôpitaux de niveaux secondaire et tertiaire est principalement mesurée tenant compte du taux d'hospitalisation (litre d'eaux usées générées par jour d'hospitalisation des patients) (Deblijet *al.*, 2019).

Les taux de génération des effluents liquides hospitaliers sont estimés donc pour les :

- Hôpitaux de taille moyenne : 300 à 500 l par patient et par jour ;
- Grands hôpitaux : 400 à 700 l par patient et par jour ;
- Hôpitaux universitaires : 500 à 900 l par patient et par jour.

4. Caractérisation des effluents hospitaliers :

4.1. Caractérisation microbiologique :

- **Coliformes thermotolérants**

Un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. Ce sont des bacilles Gram négatif aéroanaérobies facultatifs qui croissent rapidement sur milieu ordinaire ; l'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* et, dans une moindre mesure, certaines espèces de *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter*. Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire. C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (Chevalier, 2003).

La concentration des coliformes fécaux d'un effluent hospitalier pourrait nous renseigner sur le taux d'écotoxicité de cet effluent. Et selon Emmanuel, 2004 la concentration en coliformes fécaux peut être utilisée comme un indicateur du degré de pollution des eaux par des germes fécaux et l'a considérée comme un indicateur indirect de la présence massive d'antibiotiques et/ou de désinfectants (Ameziane *etal.*, 2013)

- **Streptocoques fécaux**

Ces bactéries appartiennent à la famille des streptococcaceae. Ce sont des coques Gram positifs de 0,5 à 1 µm de diamètre, présentant un groupement typique en diplocoques (deux coques) ou en chaînettes de longueur variable, immobile, dépourvue de spores et rarement capsulée, immobiles, aérobies facultatifs et possédant un métabolisme fermentatif. Les Streptocoques sont mésophiles (ils ont une température optimale de 37 °C) et neutrophiles (pH=7 et milieu acide très mal toléré en particulier). Ils sont sensibles aux conditions de culture ; température et pH. Leur présence dans le milieu hydrique prouve une pollution d'origine fécale de l'eau (El morhit, 2017 ; Fagnibo, 2012).

La persistance des entérocoques dans divers types d'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs, notamment à cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants, ce qui fait d'eux des indicateurs privilégiés pour évaluer l'efficacité du traitement de l'eau (OMS, 2000).

- **Bactériologie des effluents hospitaliers**

La comparaison des valeurs moyennes annuelles de la charge des bactéries témoins classiques de pollution fécale au niveau des effluents de l'hôpital (CT : 10,6.10⁷ UFC/100mL, cf. :

7,44.10⁶ UFC/100mL et SF : 2,28.10⁶ UFC/100mL) avec celles des effluents urbains (CT : 11,79.10⁷ UFC/100mL ; cf. : 10,5.10⁶ UFC/100mL et SF : 8.10⁶ UFC/100mL) montrent que ceux-ci sont moins chargés que ceux des effluents urbains. Ce qui est probablement lié à la présence des produits d'entretien, et d'autres produits toxiques tels que les produits désinfectants et antiseptiques, en forte concentration dans les rejets d'un hôpital. Qui serait à l'origine de l'atténuation de la concentration de la flore bactérienne.

De plus les hôpitaux sont généralement de grands consommateurs d'eau et cela conduit à une dilution des effluents le long du trajet allant de différents blocs générateurs des déchets bactériologiques jusqu'au collecteur principal. Par conséquent on assiste à une réduction de concentration de diverses espèces bactériennes (Ameziane *et al.*, 2013). Cette relation entre la quantité d'eau consommée par les hôpitaux et la concentration des espèces bactérienne dans l'effluent est utilisée pour expliquer les résultats obtenus par l'étude récente effectuée en Algérie (Ramdani *et al.*, 2018).

D'après l'étude la consommation d'eau à l'hôpital HASSANI Abdelkader - Sidi Bel Abbes est faible par rapport à celle de la Thaïlande, de l'Iran, des États-Unis, de la France et des pays en développement, cette faible consommation d'eau de l'hôpital donnant naissance à de faibles volumes de déchets liquides et donc moins dilués et donc des effluents fortement chargés de microorganismes pathogènes. Le nombre de micro-organismes exprimé en unités de formation de colonies (UFC) est de l'ordre de 10² à 10⁷ UFC/ml (<10⁸ dans UWW).

Les travaux réalisés sur la microbiologie des effluents hospitaliers mettent en évidence de façon systématique la présence de bactéries ayant acquis des caractères de résistances aux antibiotiques et aux agents antimicrobiens (Taibi *et al.*, 2018).

Les bactéries ont développé de différents mécanismes pour rendre inefficaces les antibiotiques employés contre eux. Les gènes qui codent ces systèmes de défense sont placés dans le chromosome bactérien ou dans les plasmides. Ils sont transmis de génération en génération : c'est le principe du transfert vertical de gènes. Des éléments génétiques, comme les plasmides, peuvent aussi être échangés parmi les bactéries d'affiliation taxonomique différente, c'est le principe du transfert horizontal de gènes. Le transfert horizontal des gènes par conjugaison est commun dans la nature, et dans des systèmes techniques, où la densité de bactéries est haute (Emmanuel, 2004).

4.2. Caractérisation physico-chimique des effluents hospitaliers

Globalement, les effluents hospitaliers présentent des caractéristiques très proches de celles des eaux usées domestiques. La biodégradabilité est légèrement plus faible et la toxicité sensiblement plus élevée, mais sans commune mesure avec les effluents industriels (Darsy, 2002)

Une synthèse des principales données disponibles concernant la caractérisation physico-chimique d'effluents hospitaliers est réalisée : (Tableau 1)

Ce tableau montre une très forte fluctuation des paramètres physico-chimiques en fonction des hôpitaux, l'exemple de la DCO est flagrant : les valeurs mesurées oscillent entre 185,5 mg/l (hôpital B) et 621,25 mg/l (hôpital A). Plusieurs éléments peuvent expliquer ce fait :

- les hôpitaux ont des pratiques et usages différents en fonction de leurs spécialités médicales et de leurs contextes (géographique, socioéconomique),
- les pratiques et usages évoluent au cours du temps.

Le rapport DCO/DBO₅ est inférieur à 2. Cela permet de conclure que les effluents des hôpitaux sont biodégradables avec certaines souches. Ce rapport détermine la possibilité et l'efficacité de la dégradation que l'on peut rechercher par oxydation biologique.

Les eaux usées des hôpitaux contiennent de l'azote organique et de l'azote ammoniacal. Le premier est un élément des cellules vivantes. Le deuxième NH₄⁺ provient de la décomposition de l'azote organique par les bactéries et des rejets directs de déchets humains. L'ammoniac et le dioxyde d'azote posent un problème de santé publique. Ils induisent une prolifération bactérienne dans l'eau. Par ailleurs, les nitrates NO₃⁻ est la principale source d'agitation. Ces ions se transforment dans un environnement acide plus faible dans les ions nitrite qui sont toxiques pour les organismes humains. D'après les résultats illustrés dans le tableau, on peut observer que les valeurs dépassent les normes établies par l'OMS (Ramdani *et al.*, 2018).

4.3. Caractérisation des composés pharmaceutiques

Les résidus médicamenteux font partie des « polluants émergents » (Chapman, 2006). Toutefois, il existe très peu de données concernant leur présence dans les effluents hospitaliers. On pourrait *a priori* penser que l'hôpital est le premier lieu de consommation de ces substances. Pourtant, selon l'AFSSAPS (Agence française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé), les hôpitaux n'apparaissent pas être les plus gros consommateurs de

médicaments français. En 2003, le pourcentage des ventes (en valeurs) de médicaments destinés à l'usage hospitalier était de 18,6% contre 81,4% pour les officines (Cavalié *et al.*, 2005 ; Bouliot, 2008)

Tableau 1: Synthèse bibliographique de la caractérisation physico-chimique des effluents hospitaliers.

Paramètres	Unités	Valeur limite*	Hôpital A	Hôpital B	Hôpital C
Température	(°C)	30	18.08	30.3	–
Conductivité	µs /cm	2700	251.5	763	970
PH		5.5-8.5	7.9	6.65	8
DBO ₅	mgO ₂ /L	30	405	45.5	98
DCO	mgO ₂ /L	90	621.25	185.5	200
TSS	mg/L	20	543.25	222.5	–
NH ₄ ⁺	mg/L	<0.5	24.01	23.45	–
NO ₂ ⁻	mg/L	<1	3.325	0.06	–
NO ₃ ⁻	mg/L	<1	42.225	7.75	–
Oxygène dissout	mg/L		–	1.96	–

Valeur limite * Normes internationales pour les rejets d'eaux usées recommandées par l'OMS (OMS, 1989)

pH : potentiel de l'hydrogène, DBO₅ : demande biochimique en oxygène pendant 5 jours, DCO : demande chimique en oxygène, TSS : total des matières en suspension, NH₄⁺ : ammonium, NO₂⁻ : dioxyde d'azote, NO₃⁻ : Nitrate

Hôpitaux et références bibliographiques :

A : hôpital HASSANI Abdelkader de Sidi Bel Abbes, Algérie (Ramdani *et al.*, 2018).

B : centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant Lagune (CHU-MEL), Bénin (Adanloknonon *et al.*, 2018).

C : hôpital d'une grande ville sud-est de la France (Emmanuel, 2004)

Les médicaments atteignent généralement les effluents hospitaliers par deux voies ; la première est à travers les urines, les fèces et les divers liquides biologiques (sueur, salive, vomissements ...) des patients ; la seconde concerne l'élimination des médicaments non utilisés ou périmés à travers les vidoirs et les éviers (Ameziane *et al.*, 2013)

Les molécules médicamenteuses détectées les plus importantes sont : les anti-inflammatoires, les analgésiques, les antibiotiques, les hypolipémiants, les hormones naturelles et synthétiques, les cytostatiques, les anticancéreux, les bêta bloquants, les diurétiques, les agents psychotropes, les antiépileptiques. Les effluents hospitaliers auraient donc des caractéristiques différentes des effluents urbains en ce qui concerne les résidus médicamenteux (concentrations, types de molécules).

Une étude réalisée en France par Laquaz *et al.*(2017) a montré que les concentrations de composés pharmaceutiques analysés étaient équivalentes dans les effluents hospitaliers et urbains, sauf pour certains composés spécifiques qui étaient significativement plus élevés dans les effluents hospitaliers : paracétamol ($930 \mu\text{g/L} \pm 334$ HWW, $160\text{g/L} \pm 48$ UWW), et trois antibiotiques, soit la ciprofloxacine, la sulfaméthoxazole et la vancomycine. Les effluents hospitaliers contenaient plus de détergents non ioniques ($4980 \mu\text{g/L} \pm 1\ 730$ dans HWW, $1\ 150 \mu\text{g/L} \pm 680$ dans l'UWW), tandis que les effluents urbains contenaient plus de détergents anioniques ($2160 \mu\text{g/L} \pm 1\ 350$ dans l'UWW, $660 \mu\text{g/L} \pm 300$ à la HWW).

- **Cas des antibiotiques (AB)**

Une des catégories de médicament sur lequel les scientifiques concentrent leur attention est celle des antibiotiques. Ces molécules ont pour rôle de tuer un large spectre de bactéries. L'effet négatif est qu'une utilisation poussée et non ciblée a pour effet de sélectionner les hôpitaux utilisent 25 % des antibiotiques et leur concentration dans les effluents est de 4 à 100 fois bactéries résistantes qui ont le champ libre pour se développer. Les plus élevée que dans les effluents municipaux (Maiga *et al.*, 2018).

Diwan *et al.*, (2013) ont conclu que « les antibiotiques sont libérés dans les eaux usées des hôpitaux de façon continue, quotidienne et toute l'année ». Ils ont décelé divers antibiotiques dans les effluents des hôpitaux, allant de $1,4 \mu\text{g/L}$ à $236,6 \mu\text{g/L}$ (Lien, 2018).

Très peu d'études ont tenté de détecter, quantifier les antibiotiques dans les effluents hospitaliers. C'est néanmoins le groupe des fluoroquinolones (norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacine, péfloxacin, enrofloxacin et loméfloxacin) qui a attiré l'attention des scientifiques. Ces études sont surtout focalisées sur les méthodes d'analyse, sur la pertinence des résultats. Elles sont souvent réalisées pour peu d'hôpitaux et sur une journée de prélèvement, ce qui donne des résultats impossibles à généraliser (Canchado, 2012).

Tableau 2: Concentrations des antibiotiques dosées dans des effluents hospitaliers

Antibiotiques	Concentration dosée (minimale-maximale) dans des effluents hospitaliers (µg/l)	
Ciprofloxacine	<0,038	101,0
Métronidazole	0,1	90,2
Sulfaéthoxazole	<0,004	12,8
Ofloxacin	0,2	34,5
Triméthoprime	0,05	15,0
Doxycycline	<0,005	6,7
Tétracycline	<0,015	1,5
Pénicilline	0,85	5,2

4.4. Caractérisation écotoxicologique

Les données concernant la caractérisation écotoxicologique des effluents hospitaliers sont très limitées. Le potentiel écotoxicologique de ces effluents a cependant été reconnu en 1991 par la Société française d'Hygiène Hospitalière (SFHH) sans pouvoir en expliquer l'origine.

Les résultats de différents travaux ont permis de confirmer la toxicité élevée des effluents hospitaliers et d'émettre des hypothèses quant à son origine la plus forte de ces hypothèses

porte sur la présence de rejets contenant des produits détergents et des désinfectants. En 2004, Emmanuel proposait une seconde hypothèse : la présence de substances médicamenteuses .De nombreuses études ont en effet montré la faible biodégradabilité et l'importante toxicité de nombreux médicaments qui pourraient contribuer à l'écotoxicité des effluents hospitaliers ; la dernière hypothèse découle de l'utilisation d'agents de contraste iodés qui sont rapportés comme persistants dans l'environnement et participant activement à la formation d'AOX dans les réseaux d'assainissement (Boillot, 2008).

L'étude de Laquaz *et al.*, (2017) a montré que les eaux usées hospitalières présentaient une écotoxicité plus élevée que les autres échantillons de lignées urbaines et mixtes. Ceci est cohérent avec d'autres études comme celles de Verlicchi *et al.*, (2012), Orias et Perrodin (2013) et Santos *et al.*, (2013), et selon laquaz, 2017 la forte écotoxicité était expliquée par la présence des détergents non ioniques AOX (comprenant principalement le chloroforme), l'ammonium, et par certains composés pharmaceutiques .

- **Génotoxicité des effluents hospitaliers**

Il y a eu un intérêt grandissant ces dernières années pour la recherche des effets génotoxiques liés à l'exposition à des génotoxines dans l'environnement. La génotoxicité représente la capacité d'une substance à induire des dommages à l'ADN et aux chromosomes des cellules. De par leurs caractéristiques chimiques intrinsèques et leurs effets thérapeutiques, de nombreuses substances pharmaceutiques sont génotoxiques. C'est le cas par exemple des molécules cytostatiques utilisées dans le cadre de chimiothérapie ou encore des antibiotiques. Du fait qu'un cancer est supposé être provoqué à n'importe quel niveau d'exposition à un composé génotoxique, le risque réside dans l'absence d'une dose seuil en dessous de laquelle aucun effet cancérogène ne puisse pas se produire. De plus, certaines études ont montré que la toxicité pouvait être influencée par des effets additifs et/ou de synergie. Ceci soulève des questions concernant la capacité de composés pharmaceutiques potentiellement génotoxiques à induire des altérations génétiques ou mutagènes aux doses environnementales détectées, et notamment lorsqu'elles sont en mélange (Mater, 2014)

4.5. Caractérisation de la radioactivité

Il existe une dernière fraction de pollution importante pour un établissement hospitalier : les rejets radioactifs. Les radioéléments artificiels sont utilisés en médecine nucléaire et en recherche biomédicale, en source non scellée (la présentation et les conditions normales

d'emploi ne permettent pas de prévenir toute dispersion de substance radioactive). Ils présentent donc, par nature, un risque de contamination (Canchado, 2012).

5. Risques des effluents hospitaliers

On peut distinguer deux types de risques provenant des effluents hospitaliers (Darsy, 2002)

- Un risque biologique : il concerne le personnel et les hommes dans l'hôpital (risque infectieux et de contamination) et l'environnement (risque de contamination du milieu récepteur par des bactéries ou virus et prions pathogènes).
- Un risque chimique (ou toxique) qui concerne également la Santé publique et l'environnement ainsi que la flore biologique de la station d'épuration.

5.1. Risque infectieux

Les déchets à risques infectieux représentent environ 10 % des déchets à risques, ils sont définis par l'OMS comme « les déchets susceptibles de contenir des agents pathogènes (bactérie, parasite, virus, champignon) en quantité ou en concentration suffisante pour causer des maladies chez des hôtes sensibles »

La flore hospitalière est composée à la fois de la flore des malades et des germes de l'environnement (sols, surfaces, matériels, eau, air...etc.). Ce risque est lié aux différents micro-organismes pouvant être véhiculés par le sang et les liquides biologiques. De ce fait, les germes pathogènes que l'on trouve dans les eaux usées hospitalières peuvent être (Darsy, 2002 ; Fagnibo, 2012) :

- Des bactéries présentes dans les selles ou les urines (Salmonelles, *Shigella*, Coliformes, Vibrions, Streptocoques, Entérobactéries...) ou des bactéries responsables d'infections nosocomiales (Staphylocoques, Streptocoques, *Pseudomonas*...). Toutes ces bactéries sont dangereuses, car elles acquièrent une résistance aux antibiotiques (elles sont souvent polyrésistantes aux antibiotiques).

Certaines bactéries ont été identifiées dans les eaux hospitalières en tant que les bactéries les plus concentrées (Darsy, 2002) : *Pseudomonas aeruginosa* (plus de 10 fois supérieure dans les effluents hospitaliers) et des staphylocoques pathogènes. Les variétés pathogènes de *Salmonella* sont dangereuses, car elles résistent très bien aux antibiotiques, mais elles sont généralement plus fréquentes dans les eaux usées urbaines.

- Des virus (hépatites, entérovirus, rotavirus...)

- Des parasites (amibes, taenia, ascaris, champignons...)
- Les agents infectieux strictement pathogènes responsables d'infections contagieuses. Ils proviennent des patients atteints de tuberculose, varicelle, infections à méningocoques, salmonelloses ou sida, etc.

Les effluents biologiques des malades (sang...) provenant des blocs opératoires, funérariums, laboratoires d'analyse, balnéothérapies... : ils sont chargés de matières organiques, de microorganismes, d'antiseptiques, de détergents et de désinfectants ainsi que de solutions chlorées. Ces effluents génèrent un risque infectieux pour les personnels et un risque de contamination pour l'environnement.

5.2. Risque toxique

Ces risques sont liés aux produits chimiques utilisés dans les réactions rejetés sans précaution et contribuent à la pollution du réseau de rejet d'eaux usées. Certains produits peuvent avoir un pouvoir toxique allergisant, mutagène, tératogène. Le risque toxique concerne à la fois l'environnement et la Santé publique : les eaux hospitalières peuvent être contaminées par des métaux lourds (mercure, argent, chrome, nickel, cobalt...) et par des molécules organiques (solvants, antibiotiques, désinfectants, détergents, médicaments...) (Darsy, 2002).

Le problème majeur concerne surtout les médicaments anticancéreux qui présentent des risques mutagènes et tératogènes importants.

Les alcools, hydrocarbures, les acides et le cyanure : les rejets en acides et en cyanures sont significatifs (20 L par jour) Lors du dosage de l'hémoglobine, ils présentent un risque à la fois toxique et biologique (sang).

En outre, l'acide citrique, l'acide acétique et les dérivés chlorés, utilisés pour la dialyse, présentent un risque minime étant donné leur faible concentration.

Alors que, L'utilisation d'alcools tels que le formol, l'alcool éthylique, ou bien de toluène et de xylène peuvent exposer le personnel et les patients à une toxicité cutanée et respiratoire (Fagnibo, 2012).

Les métaux lourds : La toxicité des métaux lourds devrait être prise en compte dans la comparaison de l'impact potentiel de ces éléments métalliques sur l'environnement et sur les animaux aquatiques. Le cadmium est un métal de transition reconnu comme étant cancérigène, mutagène et cytotoxique. Des données récentes suggèrent que les protéines qui participent à des systèmes de réparation de l'ADN, en particulier dans l'excision et la réparation des mésappariements, sont des cibles sensibles de la toxicité du cadmium (Lim *et*

al., 2010 ; Toure *et al.*, 2016). Le cuivre, le zinc et le nickel sont des oligo-éléments qui peuvent perturber, à dose élevée, le bon fonctionnement des systèmes enzymatiques de l'homme (Roussel et Favier-Hininger, 2009 ; Toure *et al.*, 2016). Ces produits solubles représentent donc un danger de pollution de l'eau puisqu'ils peuvent modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau et nuire au bon fonctionnement de la station d'épuration en détruisant sa flore épuratrice (Tankari Dan- Badjo *et al.*, 2014).

II. Le prétraitement des eaux usées hospitalières

Introduction

Les eaux usées hospitalières sont considérées comme similaires aux eaux usées domestiques cependant, ils ont des caractéristiques nécessitant un traitement supplémentaire. Ces eaux contiennent généralement jusqu'à 100 fois d'antibiotiques ainsi que des concentrations plus élevées de substances pharmaceutiques (Pauwels *et al.*, 2006).

Les eaux usées hospitalières peuvent donc représenter une menace pour la santé publique en raison de leur toxicité potentielle, de leur potentiel hautement infectieux et de leur rôle dans l'introduction d'agents pathogènes dans les eaux usées publiques, particulièrement en ce qui concerne les bactéries multirésistantes, contribuant à la propagation de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2017, Kümmerer, 2009 ; Santos *et al.*, 2013).

Habituellement, les effluents des hôpitaux sont déversés directement dans le réseau d'égouts public et sont traités conjointement avec les eaux usées domestiques dans les stations d'épuration municipales des eaux usées.

La pratique courante qui consiste à traiter conjointement les eaux usées hospitalières et les usées urbaines/domestiques dans une station d'épuration municipale des eaux usées est considérée comme une solution inadéquate pour éliminer les composés pharmaceutiques. Par conséquent, le prétraitement des eaux usées à la source de ce type d'effluents a été fortement recommandé (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2017).

Différents scénarios de traitement sont appliqués dans différents pays pour le prétraitement des eaux usées hospitalières. Par ailleurs, la technologie de traitement des eaux usées hospitalières comprend généralement le traitement primaire, le traitement physique et chimique, le traitement biologique et la désinfection (Yu *et al.*, 2013).

Le scénario du traitement des eaux usées hospitalières est plus rigoureux dans des pays comme la Chine, l'Indonésie et la République de Corée, où les eaux usées sont traitées sur place (traitement spécifique) avant leur évacuation vers les réseaux d'assainissement.

En Brésil, plusieurs technologies sont utilisées pour le traitement des eaux usées hospitalières comme photo-fenton, CAS (conventional activated sludge) + chloration. Ainsi que la technologie MBR (membrane bioreactor) en Chine, et floculation + CAS en Corée du Sud.

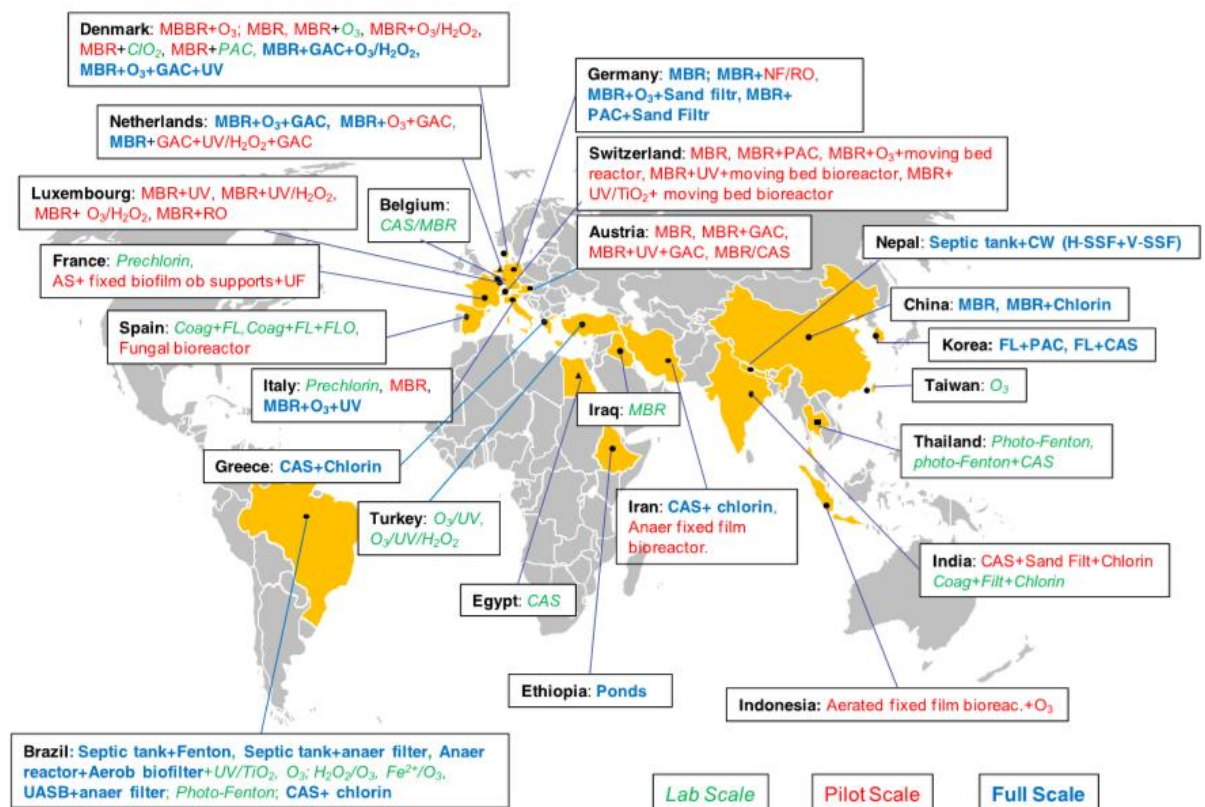


Figure 1: Distribution des différentes techniques de purification des eaux usées hospitalières dans le monde

AS : activated sludge , **CAS** : conventional activated sludge , **Chlorin** : chloration , **Coag** : coagulation , **CWs** :constructed wetlands , **FL** : flocculation , **FLO** : flotation , **GAC** : granular activated carbon , **H-SSF** : horizontal subsurface flow , **MBBR** : moving bed biofilm reactor , **MBR** : membrane biological reactor, **NF** : nanofiltration ,**PAC** : powdered activated carbon , **RO** : reverse osmosis , **UF** : ultrafiltration , **UV** : ultraviolet , **V-SSF** : vertical subsurface flow.

1. Les techniques de prétraitement des eaux usées hospitalières :

1.1. Les boues activées (CAS) :

Le procédé à boues activées consiste en un réacteur biologique aérobie, où les microorganismes flottent librement dans un liquide aéré, sous forme de petit amas appelé Bioflocs. Le mélange eau usée-bioflocs est appelé liqueur mixte. Les flocons de boue activée ont un diamètre apparent pouvant atteindre 3-5 mm. (Edeline F., 1997).

Dans ce procédé, les eaux usées produisent des boues dites « activées ». Composées de bactéries hétérotrophes et autotrophes maintenues en très grand nombre dans le bassin (ou le réacteur), ces boues (ou biomasse) permettent de dégrader rapidement les matières biodégradables en se nourrissant en grande partie des composés carbonés présents dans la pollution amenée, mais aussi de l'azote et du phosphore (Corkery, 2007).

Les boues activées consomment de l'oxygène et nécessitent une aération importante pour un fonctionnement optimal, les microorganismes en suspension se développent et consomment la pollution organique des effluents en la transformant en CO_2 et H_2O . L'eau épurée est séparée des boues activées par une ou plusieurs étapes de clarification (figure03).

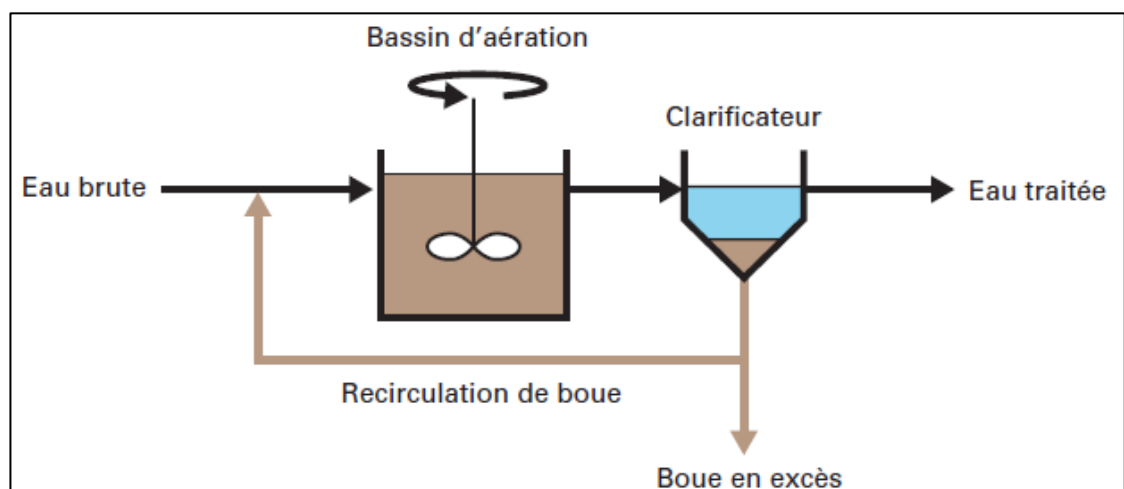


Figure 2: Schéma d'un réacteur de boue activée (Memento degremont ®, 2019)

Le traitement le plus utilisé pour diminuer la fraction biodégradable de la demande chimique en oxygène (DCO) est le système à boues activées classique. La gestion de ce procédé est la plus simple, et les coûts d'installation et d'opération sont les moins chers (Yahiaoui, 2013 ; Aissani *et al.*, 2015).

Cependant les boues activées ont quelques limites et dysfonctionnements possibles (Cemagref. 2002 ; Corkery, 2007 et Yahiaoui, 2013 ; Aissani *et al.*, 2015), notamment :

- Les problèmes de défloculation surtout liés à l'âge des boues.
- L'instabilité de conditions opératoires (température, charges à traiter, et variations de débit) qui perturbent l'efficacité de la décantation ainsi que les processus biologiques.
- Les problèmes de concentration de biomasse qui n'est pas toujours facile à maîtriser.
- Des polluants moins concentrés, mais dangereux même en faible quantité, sont peu ou pas éliminés par ce traitement comme les hormones, les pesticides, les fongicides et les herbicides qui entraînent la mort des microorganismes ;
- Production de grandes quantités de boues qu'il faudra traiter.

Le couplage de réacteurs à membranes avec la boue activée offre une vraie synergie et peut minimiser les inconvénients présents dans les systèmes classiques de boues activées. Sa caractéristique la plus importante est la sécurité par rapport à la présence de composés toxiques dans l'eau à épurer et la rétention de biomasse offerte par la barrière membranaire.

1.2. Les bioréacteurs à membrane (MBR) :

Les bioréacteurs à membrane combinent dans un procédé unique l'épuration biologique et la séparation liquide/solide sur membranes poreuses. La rétention totale des micro-organismes favorise une augmentation de la concentration des boues, et permet une séparation complète des temps de rétention hydraulique et temps de rétention des boues.

Les membranes utilisées classiquement en MBR ont des tailles de pores comprises entre 0,05 et 0,4 μm (Le-Clech et *al.*, 2006).

Ce procédé permet la rétention des particules en suspension, des bactéries et composés solubles en fonction de leurs tailles. La totalité de la biomasse est retenue indépendamment de ses propriétés (décantabilité, taille de floccs, âge de boues). Les bioréacteurs à membrane constituent une technologie prometteuse dans le secteur industriel et dans le traitement des eaux résiduaires urbaines (Delgado L. F, 2009).

Le MBR est plus robuste aux variations de charge et assure une qualité constante de l'effluent à la sortie de la filière de traitement. Actuellement, on trouve sur le marché deux types de configuration de MBR : le MBR à boucle externe (figure 04) et le MBR immergé (figure 05) (Ouarda, 2014).

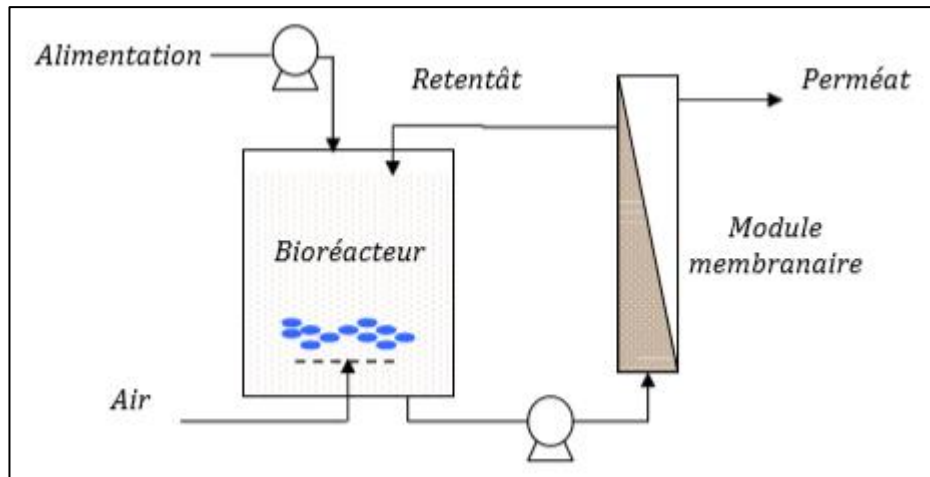


Figure 3: Schéma d'un Bioréacteur à membrane Externe (Zambrano, 2009)

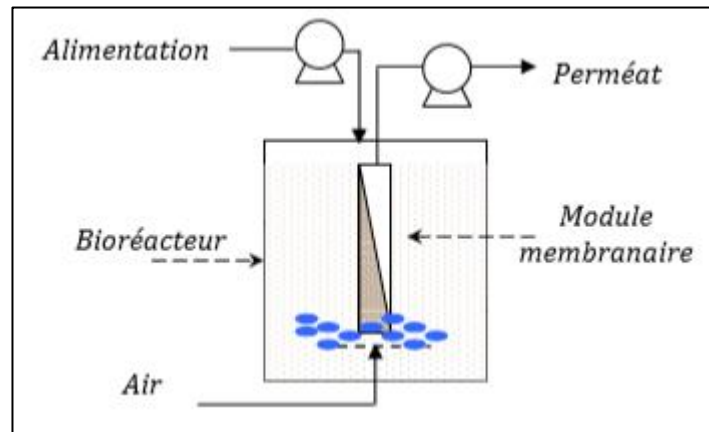


Figure 4: Schéma d'un Bioréacteur à membranes immergées (Zambrano, 2009)

Une technique qui évite l'étape de décantation de boues est le bioréacteur à membrane. Comparé au procédé classique à boues activées, le bioréacteur à membrane offre quelques avantages remarquables (Corkery, 2007 ; Vasquez, 2010) :

- Une séparation très importante entre l'eau traitée et les microorganismes ou particules contenus dans l'eau. Cette séparation est assurée même lorsque les caractéristiques de décantation des agrégats sont médiocres.
- Une qualité supérieure de l'effluent. En plus d'être clarifié, l'effluent est pratiquement désinfecté grâce au fait que la taille effective des pores de la membrane (souvent $< 0,1 \mu\text{m}$) est inférieure à la taille de bactéries pathogènes et de virus contenus dans les boues.
- Le fonctionnement du bioréacteur avec de grandes concentrations de matières en suspension (MES) permet la réduction des dimensions du bioréacteur.

- Fiabilité et optimisation de performances épuratoires : problèmes liés à la décantation des boues éliminées.

Cependant ce procédé présente quelques limites (Vasquez, 2010) :

- il requiert une forte consommation énergétique due à la pression pour réaliser la filtration,
- un investissement initial important et des coûts considérables d'opérations qui sont plus élevés que pour un système classique à boues activées (Judd, 2006).
- Étant donné que la biomasse adhère à la surface de la membrane de filtration et forme une deuxième couche filtrante, en réduisant la taille de pores de filtration et en augmentant la résistance à la filtration,
- le colmatage de membranes est un phénomène assez récurrent dans les bioréacteurs à membranes (Metcalf et Eddy, 2003). Ceci demande des coûts supplémentaires de maintenance/remplacement des membranes.
- L'adsorption possible de métabolites dans les pores (lavage chimique requis) (Jantaporn, 2016).
- la polarisation de concentration qui tend à diminuer les performances des membranes (Ouarda, 2014).

1.3. Les Procédés d'oxydation avancée :

Les procédés d'oxydation avancée (POAs) sont des procédés de traitement physicochimique utilisant des réactions spécifiques en vue de générer des radicaux libres. Ces méthodes d'oxydation permettent la destruction des polluants cibles et non la séparation ou le changement de phase comme les procédés de séparation ou de transfert de matière. Elles ont pour but la minéralisation totale de polluants en CO₂, H₂O et composés inorganiques. Si la charge polluante est trop élevée ou le débit trop important pour une minéralisation totale, elles visent au moins la dégradation des polluants toxiques et récalcitrants en composés moins toxiques et si possible moins concentrés.

Les POAs sont fondées sur le même principe de base : générer des espèces radicalaires très oxydantes, comme par exemple les radicaux hydroxyles •OH, pour dégrader les polluants organiques. De par leur très forte réactivité, les radicaux hydroxyles sont des oxydants peu sélectifs, qui sont capables de dégrader toutes sortes de polluants (Aissani *et al.*, 2015).

Les POAs, lorsqu'ils sont utilisés en prétraitement avant les procédés biologiques, peuvent augmenter la biodisponibilité des polluants réfractaires (Barnabé et al, 2009 ; Chang et al, 2007 ; Ouarda, 2014).

L'inconvénient de ces techniques est la consommation relativement importante de réactifs nécessaires à leur mise en œuvre, ce qui les rend inappropriées, car très coûteuses, pour traiter des effluents trop concentrés. Pour des concentrations en carbone organique supérieures à 5 g/L, il devient peu intéressant d'utiliser des POAs. On pourra alors privilégier l'oxydation par voie humide, voire pour une charge organique très importante, l'incinération de l'effluent (Aissani *et al.*, 2015).

L'efficacité des POAs est limitée par la capacité de piégeage des radicaux de la matrice d'eau traitée. En outre, la plus grande consommation de produits chimiques et les coûts relativement élevés du traitement, ainsi que les sous-produits de dégradation peuvent constituer des obstacles (Ouarda, 2014).

1.3.1. Principales techniques d'oxydation avancée :

1.3.1.1. Procédé de peroxonation H₂O₂/O₃ :

Le principe du procédé de peroxonation repose sur le couplage entre l'ozone et le peroxyde d'hydrogène afin de produire des radicaux libres. Ce procédé est plus efficace que l'ozonation seule, car le peroxyde d'hydrogène a pour but d'accélérer la décomposition de l'ozone dans l'eau et ainsi produire beaucoup plus de radicaux hydroxyles (S. Yahiat, 2010 ; Aissani *et al.*, 2015).

Les radicaux hydroxyles principaux intermédiaires oxydants de la peroxonation, sont formés par réaction entre l'ozone et le peroxyde d'hydrogène :



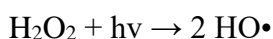
La peroxonation ainsi que l'ozonation, présente l'avantage par rapport aux procédés avec irradiation UV, de pouvoir fonctionner dans une eau à forte turbidité, car le système ne dépend pas de la transmission des rayonnements dans l'effluent (Sadatou, 2015).

Le peroxyde d'hydrogène couplé à l'ozone est performant pour éliminer les micropolluants ou composés toxiques (pesticides, hydrocarbures, etc.) présents dans les eaux résiduaires, L'avantage du système réside en sa simplicité d'utilisation et son efficacité bactéricide, ce qui explique son développement à grande échelle aux États-Unis et en Europe comme étape de désinfection (Zaviska, 2009).

1.3.1.2. Procédé UV/H₂O₂ :

Le procédé UV/H₂O₂ consiste à générer des radicaux hydroxyles par exposition de H₂O₂ au rayonnement UV à des longueurs d'onde comprises entre 200 et 300 nm. Le peroxyde d'hydrogène absorbe les rayons UV en donnant des radicaux HO● qui participent par la suite à la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Buxton *et al.*, 1988 ; Nassar, 2014).

La molécule de peroxyde d'hydrogène subit une coupure homolytique, sous irradiation ultraviolette pour conduire à deux radicaux hydroxyles :



Le couplage des radiations UV avec le peroxyde d'hydrogène ou l'ozone apporte un bénéfice dans le traitement de contaminants (composés persistants) qui nécessite des conditions d'oxydation élevées. L'utilisation de radiations UV permet d'augmenter sensiblement le taux de dégradation des composés organiques.

Cependant, cela ajoute au procédé des inconvénients liés à l'irradiation. En effet, il faut tenir compte des caractéristiques spectrales et de la puissance des lampes utilisées, de leur encrassement, des types de polluants présents (absorption et rendement quantique), de la turbidité des effluents limitant le parcours des rayonnements ainsi, évidemment, que des coûts d'installation et de fonctionnement supplémentaires (Zaviska, 2009).

1.4. Charbon actif :

Le charbon actif est un carbone microporeux possédant une très grande surface spécifique, pouvant aller de 500 à 1500 m²/g. il a ainsi une grande capacité d'adsorption et peut être le catalyseur de réaction chimique. Pour le traitement des eaux usées, le charbon actif en poudre (CAP) est généralement préféré, car sa capacité d'adsorption et la vitesse d'adsorption sont plus élevées que pour le charbon actif granulaire (Nowotny, *et al.*, 2007 ; Margot *et al.*, 2011).

L'adsorption est un phénomène de surface par lequel des molécules se fixent sur la surface du charbon actif grâce à différentes forces (charges électriques, liaisons hydrogène, interaction dipôle – dipôle, etc.). Les processus d'interaction hydrophobes sur la surface du charbon sont les mécanismes dominants pour l'élimination des micropolluants (Margot *et al.*, 2011).

1.5. L'ozonation :

L'ozone est un gaz formé industriellement à partir de dioxygène soumis à une décharge électrique. L'équation montrant cette formation s'écrit :



L'ozone est un oxydant très important pour la désinfection, l'efficacité et la rapidité de l'action de ce gaz en solution sur les bactéries et les virus, couplés avec une faible production de produits secondaires indésirables, lui donnent une place très importante parmi les oxydants utilisés. Il peut également oxyder de nombreux composés minéraux (Fe^{2+} , Mn^{2+} , NO_2^- , Br^- , ClO_2^- , etc.) et organiques (matières organiques naturelles, polluants d'origine anthropiques et micropolluants organiques) avec une vitesse parfois très élevée, surtout en milieu neutre et basique (Hoang, 2009 ; Abouzlam, 2014).

Au niveau environnemental, l'ozone est très toxique pour la vie aquatique, mais il est rare, après la désinfection, de trouver de l'ozone résiduel en quantité significative, car sa réaction avec les composés présents est très rapide et il est détruit rapidement en raison de son instabilité (Abouzlam, 2014).

Cette technique présente quelques avantages (Vandermeersch, 2006), notamment :

- L'ozone réagit également en oxydant le fer et le manganèse qui seront éliminés par décantation et/ou filtration.
- Pas de résidu de traitement : l'ozone se décompose en oxygène dans le milieu.

Cependant, il existe quelques limites et inconvénients (Vandermeersch, 2006), on site :

- Formation de sous-produits de réaction notamment en présence de bromures dans l'eau : les bromates.
- Conditions d'efficacité : L'efficacité de l'ozone décroît rapidement à des valeurs de pH et de température élevés.
- Les opérations de maintenance doivent être effectuées par des techniciens qualifiés

1.6. Les rayons ultraviolets :

La désinfection des eaux usées par le rayonnement ultraviolet (UV) est un processus physique, dont l'eau à désinfecter transite dans une chambre d'irradiation où sont placées des lampes à rayons ultraviolets. L'efficacité de la désinfection UV dépend des caractéristiques physiques et chimiques des eaux usées avant la désinfection. Avec une meilleure qualité des eaux usées, le processus de désinfection UV est plus efficace (EPA Victoria, 2002 ; Abouzlam, 2014 ; Vandermeersch, 2006).

Cette technologie de désinfection présente plusieurs avantages intéressants (Abouzlam, 2014 ; Vandermeersch, 2006). Au niveau du traitement :

- Elle est plus efficace que la chloration et la chloration-déchloration pour détruire les virus.
- Aucun produit secondaire n'est formé.
- Au niveau environnemental, cette méthode n'a pas d'influence négative, car le rayonnement ultraviolet ne nécessite pas l'ajout de produits chimiques.
- Simple à mettre en œuvre, car il n'y a ni stockage, ni manipulation de substances chimiques.
- Pas de résidu toxique dans l'effluent.

Par contre, cette technologie présente aussi des limites (Vandermeersch, 2006), on site :

- Qualité de l'eau : la désinfection par rayonnement UV est très sensible aux variations de turbidité de l'eau à traiter.
- Opérations d'entretien lourdes : le nettoyage et le remplacement des lampes.

2. Efficacité de prétraitement des eaux usées hospitalières :

Une bonne efficacité des procédés de traitement des eaux usées hospitalières est optimisée en maintenant un bon rapport coût – avantages, aussi bien que, prendre en compte les aspects corrélés tels que la consommation d'énergie, les déchets générés et produits de transformation associés, les facilités d'exploitation et simplement, le réalisme de la mise en œuvre (Adamczak *et al.*, 2012).

2.1. Efficacité de traitement en cas de réduction des concentrations pharmaceutiques :

Le BRM donne une bonne qualité d'eau usée en termes de DCO, nutriments et élimination des bactéries et constitue un premier pas important dans le traitement moderne décentralisé des eaux usées. La moitié des composés analysés est réduite à moins de 50 % au travers du BRM. Une élimination de 80 % pourrait être réalisée pour la plupart des composés avec ce traitement avec 0.5 g O₃/g DOC (sauf le cyclophosphamide, l'ifosfamide et les produits de contraste rayon X diatrizoate, iopamidol et iopromide) et 20 mg/L CAP (sauf le sulfaméthoxazole et les produits de contraste rayon X diatrizoate et iopamidol). Le filtrage par carbone activé donne des taux d'élimination supérieur à 95 % pour tous les composés ayant un filtre CAG frais. L'UV/H₂O₂, en appliquant une fluence de plus de 47.250 J/m², est efficace pour éliminer plus de 77 % des produits pharmaceutiques. Pour le traitement biologique, l'étape de prétraitement prévoit une consommation d'énergie de 0,3-0,6 kwh/m³ et l'étape BRM de 0,9 kwh/m³. La consommation d'énergie de CAP (0,45 y compris sans filtration) est plus élevée que pour CAG (0,2 kwh/m³). La consommation d'énergie pour le

traitement UV est entre 0,5 et 1,0 kWh/m³, ce qui est plus élevé que pour le traitement avec ozone (de <0,2 à 0,9 kWh/m³) (Adamczak et *al.*, 2012).

2.2. Efficacité de traitement en cas de réduction des effets écotoxicologiques :

Le traitement biologique dans le BRM diminue les effets toxiques dans les eaux usées d'hôpital non traitées. Mais le perméat de BRM est encore toxique pour certains organismes tels que les bactéries, les algues et les escargots. Le traitement avancé des eaux usées par le carbone activé a en général des effets décroissants sur la toxicité des eaux usées non traitées, mais l'effluent de ce processus de traitement peut encore contenir des composés toxiques d'algue. L'ozonisation réduit les effets antibiotiques et œstrogéniques des eaux usées d'hôpital. Cependant, dans certains bioessais, une augmentation de toxicité est mesurée après les processus d'oxydation par ozonisation ou traitement UV, supposément dues à la formation de produits dérivés. Un post-traitement de l'effluent d'ozonisation dans un biofiltre peut réduire les effets négatifs de l'oxydation de manière importante, sans l'éliminer complètement. Également le filtre à sable subséquent n'est pas aussi efficace que pour la réduction de la toxicité induite par les produits d'oxydation. Le filtrage CAG est efficace dans l'élimination des effets négatifs de l'effluent de traitement UV (Adamczak et *al.*, 2012).

2.3. Efficacité de traitement en cas de réduction des bactéries résistantes aux antibiotiques :

Par la mesure de la quantité d'intégrons, la présence de bactéries multirésistantes dans les eaux usées d'hôpital est démontrée.

L'efficacité des dispositifs de traitements avancés des eaux usées pour l'élimination des intégrons appartenant aux bactéries résistantes aux antibiotiques est entre 1 et 5 log, principalement en raison du taux d'élimination dans le BRM avec des tailles de pores de membranes de 0,03 - 0,04 mm. L'effet du traitement avancé avec ozone ou charbon actif sur la réduction des intégrons résistants et leur abondance relative dans l'eau usée était négligeable par rapport au taux de BRM avec membrane d'ultrafiltration (Adamczak et *al.*, 2012).

2.4. Évaluation des coûts :

Outre l'efficacité, les frais encourus pour la construction et l'exploitation des stations sont d'une importance particulière.

Les coûts totaux d'un traitement décentralisé des eaux usées hospitalières sont estimés à 4,70 €/m³ (pour le BRM) à 5,50 €/m³ (BRM + UV/H₂O₂ + CAG) y compris des coûts

variables de fonctionnement coûts de 1,45 €/m³ (BRM) à 1,85 €/m³ (BRM + UV/H₂O₂+ CAG) (Adamczak et al., 2012).

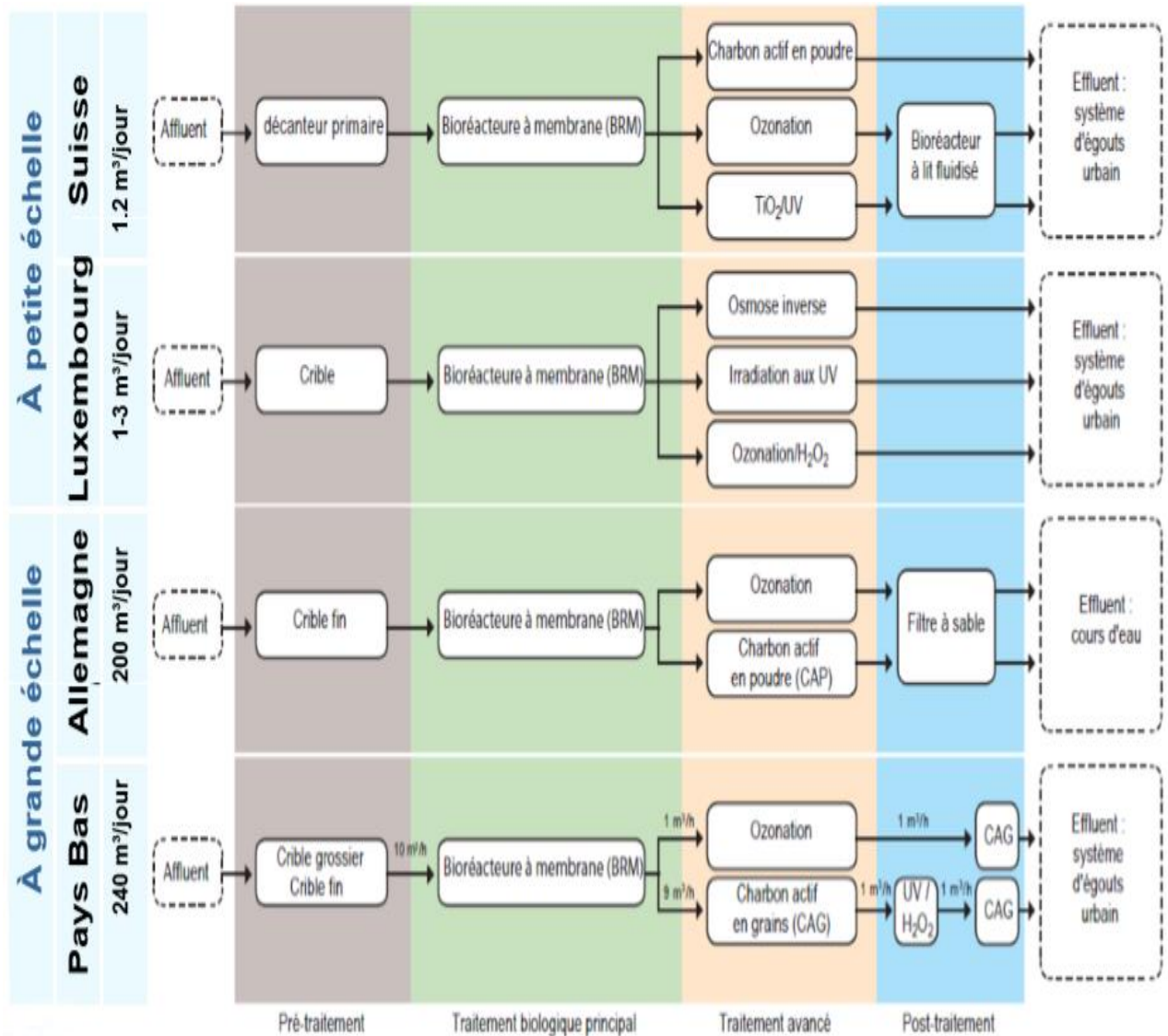


Figure 5: Schéma illustratif des installations pilotes (Adamczak et al., 2012).

III. Activité antibactérienne des extraits des plantes médicinales

Introduction

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, les antioxydants de synthèse se sont avérés responsables d'effets indésirables, et l'usage excessif d'agents antimicrobiens chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal conduit à l'apparition de souches résistantes.

Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments. Ce développement constitue une étape indispensable pour l'essor de tout un secteur lié aux besoins non seulement de la thérapie, mais aussi de l'industrie agroalimentaire, du cosmétique et de la parfumerie.

Par ailleurs, beaucoup de plantes sont très connues pour leurs grandes potentialités métaboliques de substances dites secondaires. Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles...). Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont métabolisées, ces substances sont extrêmement complexes du point de vue structure et composition chimique. Toutefois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives

1. Description botanique et distribution géographique

Cynara cardunculus communément appelée cardon, carde ou chardon ; est une plante herbacée bisannuelle de la famille des Astéracées, cultivée comme plante potagère consommée comme légume (Abbache *et al.*, 2017). Elle est considérée comme une espèce originaire du bassin méditerranéen et comprend deux espèces cultivées : l'artichaut (var. *scolymus* L.) et le cardon (var. *altilis* DC), ainsi que le cardon sauvage (var. *sylvestris* [Lamak.] Fiori). L'artichaut constitue une composante importante de l'économie agricole du sud de l'Europe, mais il est aussi cultivé en Afrique de nord, au Moyen-Orient, en Amérique du sud, aux États Unis et en Chine.

Le cardon est une plante vivace par ses rejets, qui se développe d'abord en rosette, puis émet une tige épaisse et rameuse qui peut atteindre deux mètres de haut. Les feuilles très grandes, longues, profondément divisées en lobes aigus, de couleur gris argenté, aranéeuse ou tomenteuses en dessous, sont longuement pétiolées. Le pétiole qui se prolonge en nervure principale est large et charnu, et constitue la partie comestible des côtes de cardons (Baali, 2017).



Figure 6: Photos de la plante *Cynara cardunculus* (Baali, 2017).

2. Position systématique de *Cynara cardunculus*

Le nom du genre cardon a été adopté par Linné, il vient du mot Grec « kynara », il est attribué à diverses plantes épineuses. Le tableau suivant représente la classification du cardon.

Tableau 3: Classification systématique de la *C. cardunculus* (Baali, 2017).

Règne	<i>Plantae</i>
Subrègne	<i>Tracheobionta — plantes vasculaires</i>
Subdivision	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta - (plantes à fleurs)</i>
Classe	<i>Magnoliopsida - Dicotylédones</i>
Sub-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Cynara L.</i>
Espèce	<i>Cynara cardunculus L. — cardon</i>

3. Propriétés biologiques de *Cynara cardunculus*

Le cardon est un légume à nombreuses vertus qu'elles soient diététiques ou médicales. Il est un très bon allié des régimes amaigrissants du fait qu'il soit très peu calorique (soit 13 calories par 100 g), il contient de l'inuline qui est un sucre assimilable pour les personnes diabétiques et de la cynarine, qui est un dépurateur du foie, qui améliore la fonction hépatique de la vésicule biliaire et abaisse le taux de cholestérol dans le sang. Sa richesse en fibres et en

mucilage, lui confère des propriétés bienfaitantes pour la régulation du transit intestinal, une teneur importante en minéraux et oligo-éléments (magnésium, calcium, fer, sélénium, zinc, et surtout en potassium) qui favoriseraient le maintien de l'équilibre de la pression artérielle (Abbache *et al.*, 2017).

4. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine ou animale. Elle est utilisée de différentes manières (décoction, macération, infusion, etc.) et une ou plusieurs de ses parties peuvent être utilisées (racine, rhizome, feuilles, fleurs, etc.).

La plus grande partie des plantes, utilisée au niveau mondial, est destinée à la phytothérapie, à la production de molécules pour la médecine allopathique, à l'élaboration des arômes. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Leur champ d'action est vaste et leur puissance varie, la plupart ont des effets spécifiques sur certaines parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas.

Les recherches actuelles sur les molécules antimicrobiennes d'origine naturelle se concentrent principalement sur les plantes, car ils peuvent être achetés plus facilement et seront sélectionnés sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle (Beddou, 2017).

5. Classification des composés antimicrobiens des plantes

5.1 Les composés phénoliques

Les polyphénols également dénommés composés phénoliques sont des métabolites secondaires très largement répandus dans le règne végétal. Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques, comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements hydroxyles, en plus d'autres constituants. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins.

Leurs effets bénéfiques sur la santé y compris leur rôle d'antioxydants aident pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés dans les domaines pharmaceutique et cosmétique, ainsi comme additifs dans l'industrie agroalimentaire (Benabdelhak, 2015 ; Izeraren *et al.*, 2016).

5.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les principaux métabolites secondaires végétaux qui constituent un grand groupe de composés phénoliques. Ce sont des dérivés phényl propanoïdes soluble dans l'eau, souvent incolores ou jaunes (à l'exception des anthocyanes).

La structure de base comporte deux cycles aromatiques à 6 carbones joints par un hétérocycle à oxygène. Ils se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires, ou ils peuvent être localisés dans divers organes comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (Izeraren *et al.*, 2016 ; Kheyar *et al.*, 2018).

Ils ont une propriété vitaminique P. Potentiellement veinoactifs, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépatoprotecteurs, hypocholestéroléminants, diurétiques, antibactériens, antiviraux. Ce sont aussi des piègeurs de radicaux libres (Clément, 2009).

5.1.2. Tanins

Des polyphénols polaires d'origine végétale, présents dans chaque partie de plante (écorce, bois, feuille...). Ce sont des substances non azotées, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'éther, Leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3000 Da. Deux groupes de tannins se différencient aussi bien par leur structure que par leur origine biosynthétique : tannins hydrolysable et tannins condensés (Clément, 2009 ; Benabdelhak, 2015 ; Kheyar *et al.*, 2018).

Ils ont une action antiseptique, vasoconstricteur de petits vaisseaux (hémorroïdes, blessures superficielles), anti-inflammatoire dans les cas de brûlures, Le tanin gallique possède des activités bactéricides et virucides. Le tanin catéchique est bactéricide, sert contre les hémorroïdes, les varices, et le trouble circulatoire en général (Clément, 2009).

5.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules organiques hétérocycliques azotées d'origine naturelle pouvant avoir une activité pharmacologique. On trouve des alcaloïdes, en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Habituellement les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés.

Leurs propriétés sont généralement variées et dépendent de leurs composantes chimiques par exemple, céphéline (antifongique, antibactérien) emétine (amoebicide, antiprotozoaire, amibiase) (Clément, 2009).

5.3. Les huiles essentielles

Le terme « huile essentielle » est défini par l'Agence nationale de sécurité du médicament (ANSM) comme :

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. »

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. Elles sont souvent utilisées comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques.

Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite. Les composés actifs agissent en empêchant la libération d'histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l'inflammation. Aussi les huiles essentielles font l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Mohammedi, 2013).

6. Phytothérapie

La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes et de leurs extraits à titre thérapeutique. La médecine traditionnelle correspond à l'utilisation de substances diverses, dont les plantes selon des règles issues de la tradition.

En phytothérapie traditionnelle les plantes peuvent être utilisées fraîches, ce qui n'est pas toujours possible, ou séchées, entrant ensuite éventuellement dans des préparations diverses préservant leurs principes actifs. On les administre sous forme de teintures alcooliques, macérats, tisanes, compresses, baumes, etc. Ainsi, c'est l'extrait dans sa totalité qui représente

le principe actif. L'effet observé est le résultat de l'action commune de ces différents composants (tableau 03) (Beddou, 2016).

Tableau 4: Classe majeure de composés antimicrobiens des plantes et mécanismes d'action (Beddou, 2016)

Classes	Sous classes	Exemples	Mécanismes d'action
Phénols	Phénols simples	- Cathéchol	<ul style="list-style-type: none"> - Privation en substrat - Perturbation de la membrane
	Flavonoïdes Flavones	<ul style="list-style-type: none"> - Chrysine - Abyssinone 	<ul style="list-style-type: none"> - Liaison aux adhésines, Complexe avec la paroi cellulaire - Inactive les enzymes - Inhibe la transcriptase reverse du V.I.H.
	- Tannins	- Ellagitanine	<ul style="list-style-type: none"> - Liaison aux protéines - Liaison aux adénines - Inhibition des enzymes - Privation en substrat - Complexe avec la paroi cellulaire - Perturbation de la membrane Complexe aux ions de métaux
Terpenoïdes, huiles essentielles		- Capsaïcine	- Perturbation de la membrane
Alcaloïdes		<ul style="list-style-type: none"> - Berberine - Pipérine 	- Intercalle avec la paroi et/ou l'ADN

Recherche bibliographique

La Phytothérapie pharmaceutique utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats, etc. (Serrat *et al.*, 2016).

Matériel et méthodes

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 9) de la Faculté Sciences de la Nature et de la Vie (Université Frères Mentouri Constantine 1), sur une période allant du 18 mars 2019 à la fin du mois de juin de la même année.

2. Souche bactérienne environnementale

Afin d'effectuer ce travail, les souches bactériennes utilisées ont été isolées à partir des eaux usées hospitalières (CHU de Constantine) dans le cadre d'une étude précédente (Boubekri, 2018)

2.1. Site de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués 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 ont été prélevés. Les effluents collectés par les réseaux d'assainissement sont traités au niveau de la station d'épuration d'Ibn Ziad.

2.2. Méthode de prélèvement

Des échantillons instantanés ont été prélevés Le 22 avril 2018, à une température de 20°C 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.

3. Réactivation des souches

Les souches non pures ont été repiquées, à partir des cultures conservées en tube sur gélose inclinée puisensemencée sur les milieux BCP et gélose nutritive.

4. Purification des souches bactériennes

Après incubation des deux milieux de culture ensemencés à 37°C pendant 24-48h, la purification des colonies bactériennes a été réalisée par réisolement sur les mêmes milieux :

- Direct : par méthodes des stries sur la surface des boîtes de Pétri contenant un milieu gélose (figure 7).

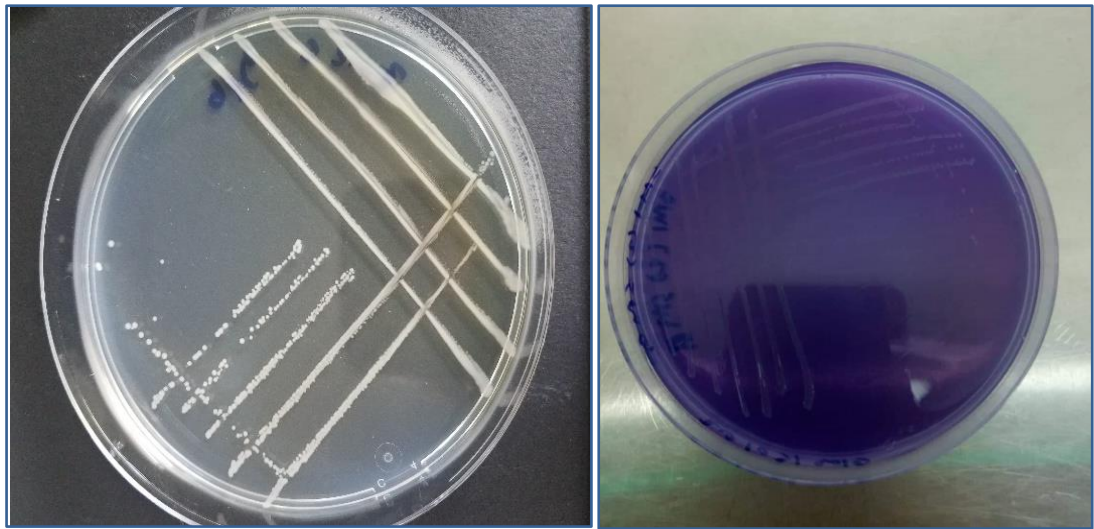


Figure 7: Purification des souches sur milieu gélose (gélose nutritive et BCP).

- La méthode de dilution décimale : des tubes eppendorf contenant 0,9ml d'eau distillée stérile sont utilisés pour l'inoculation des souches à partir d'une solution bactérienne mère (une colonie ensemencée dans 1ml d'eau distillée stérile) et une série de dilution est réalisée 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . ensuite 0,1ml de chaque dilution (10^{-1} à 10^{-4}) est déposé sur les boîtes de pétris contenant un milieu gélose et ensemencé par des billes stériles (référence des billes) pour l'obtention de colonies bien isolées (figure 8).

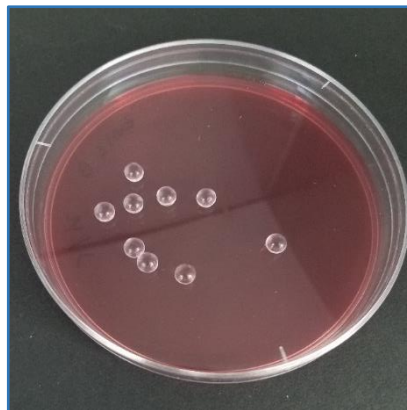


Figure 8: Purification des souches par la méthode des billes.

- Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h

La purification des souches est réalisée par plusieurs repiquages successifs. Le repiquage se poursuit jusqu'à l'obtention d'une culture homogène où toutes les colonies sont identiques entre elles.

5. Conservation des souches

Selon le temps de conservation désiré, les souches pures sont conservées de la manière suivante :

- Conservation à courte durée : les souches purifiées sontensemencées sur gélose nutritive inclinée, et sont incubées à 37°C pendant 18 h en culture jeune et après croissance bactérienne, ces cultures sont conservées à 4°C (ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication).
- Conservation à long terme : à partir d'une culture jeune de 16 h des colonies sontensemencées dans des tubes eppendorf contenant un bouillon nutritif additionné de 30% de glycérol, et agité au vortex pour bien homogénéiser la suspension bactérienne avant de conserver au congélateur à -20°C.

6. Identification des souches

6.1. Caractères cultureux et morphologiques

6.1.1 Étude macroscopique

L'examen macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies (la forme, taille, contour, pigmentation, viscosité...).L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation.

6.1.2 Étude microscopique

Basé sur la morphologie des cellules bactériennes et leur mode d'association observés par microscope optique.

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle permet de différencier les bactéries à Gram positifs (apparaissent violet) de celles à Gram négatif (apparaissant rose), des bâtonnets, des coques et de nous renseigner du mode de

regroupement. La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode classique (annexe1). L'observation a été réalisée sous microscope (Canon, Japon).

➤ **Test KOH**

Afin de confirmer si les bactéries sont à Gram positif ou négatif, le test de KOH a été réalisé selon la méthode de Ryu, E. (1938). 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 mélanger la suspension à l'aide d'une anse de platine et par la suite la lever 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 (Bessila, 2018).

➤ **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 perméabilisations 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 était de couvrir les frottis par la fuchsine à 0,25% et les laissés en contact pendant 10 secondes. Par la suite, les frottis ont été lavés à l'eau distillée, séchés puis observés sous microscope optique à immersion.

Lecture des résultats

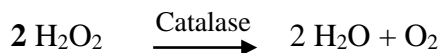
Les spores apparaissent vertes dans des corps bactériens roses, la position de la spore, sa forme, ainsi que la déformation qu'elle peut engendrer ou pas est un critère d'identification bactérienne (Bessila, 2018).

6.2. Caractère biochimique

6.2.1. Test catalysé

Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est très toxique. Certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent, comme la catalase.

Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Procédure

Sur une lame propre, une colonie est mise en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène. L'apparition ou non de bulles de gaz sur la lame lors du contact de la bactérie avec l'eau oxygénée témoigne respectivement de la présence ou pas de la catalase dans le métabolisme bactérien.

i. Test oxydase

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires bactériennes, c'est une enzyme qui catalyse une réaction d'oxydoréduction en impliquant une molécule d'oxygène comme accepteur d'électrons.

Les bactéries qui possèdent l'enzyme oxydase peuvent oxyder le N,N,N,N-tétraméthyl-1,4-phénylènediamine, qui est un composant du réactif de la recherche de la cytochrome oxydase en bactériologie, donnant des produits violacés (Chibi, 2015).

Procédure

Un disque d'oxydase est déposé sur une lame porte-objet propre. Ensuite, une colonie bactérienne est déposée avec précaution sur le disque.

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur rouge violacé au bout de 10 secondes ; la réaction est tardive entre 10 et 60 secondes, et elle est négative après 60 secondes.

ii. Test mannitol mobilité

C'est une gélose molle conditionnée en tubes qui permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries. Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant entre autres

du mannitol et du rouge de phénol comme indicateur de pH. L'ensemencement a été réalisé par piqûre centrale jusqu'au fond des tubes à l'aide d'une pipette Pasteur.

Le mannitol est utilisé lorsque l'indicateur coloré passe du rouge au jaune, ce qui correspond à l'indication du milieu. Le caractère mobile est défini dans ce milieu par un trouble envahissant toute la largeur de la gélose de part et d'autre de la piqûre centrale, alors qu'une bactérie immobile ne se développe que le long de la piqûre centrale (Solbi, 2013).

6.2.4. Milieux sélectifs

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

- **Milieu BCP lactose**

C'est une gélose lactosée au bromocrésol-pourpre, utilisée pour l'isolement des entérobactéries. Cependant, de nombreuses espèces de bactéries n'appartenant pas à cette famille peuvent croître sur ce milieu non inhibiteur. Ce dernier permet de différencier les espèces fermentant le lactose de celles qui ne le fermentent pas. 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 jaunes.

- **Gélose Chapman**

Est le milieu sélectif des bactéries halophiles, et plus particulièrement, fermente le mannitol. C'est un milieu semi-synthétique. Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus*. Les Micrococcaceae, quelques autres (*Bacillus*, *Enterococcus*) et même très rarement des bacilles Gram négatifs sont cultivés sur ce milieu. Il contient un inhibiteur : les fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g/L) permettent un isolement sélectif de *Staphylococcus* à cause de sa tolérance de fortes concentrations de NaCl. La fermentation du mannitol peut être étudiée par virage du rouge au jaune de phénol autour des colonies.

La lecture des résultats

- Pas de virage (le milieu reste rouge) : les colonies sont mannitol négatif, car elles ne fermentent pas le mannitol. Il y a une légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.

– Virage au jaune du milieu : les colonies sont mannitol positive, car elles fermentent le mannitol avec acidification du milieu.

- **Milieu Mac Conkey**

Milieu sélectif pour l'isolement des bacilles à Gram négatif *Salmonella* et *Shigella* ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques ; ce milieu contient deux inhibiteurs de la flore Gram⁺ (les sels biliaires et le cristal violet).

La lecture des résultats

– Colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur dû à la précipitation des sels biliaires : lactose⁺

– Colonies jaunes ou incolores : lactose

- **Gélose au sang**

C'est un milieu d'isolement enrichi sur lequel les Streptocoques se développent bien. Il permet la lecture du caractère hémolytique. C'est un milieu riche d'autant plus par la présence de sang.

La lecture des résultats

-Hémolyse β : zone claire d'hémolyse totale de diamètre 3-4 mm entourant les colonies.

- Hémolyse α : zone floue et granuleuse, verdâtre de 1 à 2 mm de diamètre.

- **Gélose Hektoen**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des autres produits alimentaires. Elle est également utilisée dans le domaine de la santé animale dans le cadre de la recherche des salmonelles chez les mammifères. Ce milieu est particulièrement adapté à la culture des *Shigella*. Il évite l'envahissement par les *Proteus*.

Principe

L'inhibition de la flore à Gram positif est due à la présence des sels biliaires qui peuvent également légèrement inhiber la croissance de quelques souches de microorganismes à Gram négatif.

Le milieu contient trois glucides : lactose, saccharose et salicine. La forte concentration en lactose favorise la visualisation des entérobactéries en évitant le problème des fermentations tardives. Les autres glucides ont été introduits afin d'assurer une différenciation plus performante et de réduire la toxicité engendrée par les indicateurs colorés, de manière à obtenir une excellente récupération des *Shigella*.

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

Le système d'indicateurs colorés, composé de bleu de bromothymol et de fuchsine acide permet de colorer en jaune orangé les entérobactéries lactose-positif et en bleu vert les lactoses- négatifs.

La lecture des résultats

Le principe de lecture est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine). Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur « saumon », les autres donnant des colonies bleues ou vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir.

Identification par la galerie API 20^E

- **Principe**

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et d'autres Bacilles à Gram négatif, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. Ce système comporte 20 tests cupules qui contiennent un milieu réactionnel déshydraté. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

- **Techniques**

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale.

Préparation de l'inoculum

- Une colonie est prélevée sur un milieu gélose et ensuite mise dans un tube de 5 ml d'eau distillée stérile, afin d'obtenir une suspension bactérienne de 0,5 Mc Farland.

Incubation de la galerie

- Homogénéiser la suspension bactérienne.
- Pour les tests CIP, VP, GEL remplir les tubes et les cupules.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes.
- Recouvrir les tests ODC, ADH, LDC, H₂S, URE avec 2 gouttes d'huile de paraffine.
- Mettre le couvercle de la galerie.
- Incuber à 35-37 °C pendant 18 à 24 h.

Lecture et interprétation

L'interprétation de la galerie s'effectue après incubation, en se référant au tableau de lecture.

6.4. Identification par la galerie (API®*Staph*)

API®*Staph BioMérieux* est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus*, comprenant 20 tests biochimiques classiques pour différencier les espèces de *Staphylococcus*. Les tests étudiés par cette galerie sont :

Attaque de différents sucres ou polyalcools ; recherche de nitrate réductase, de phosphatase, d'arginine dihydrolase et d'uréase (Chaala, 2013).

• Technique

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Un inoculum bactérien d'opacité égale à 0,5 de McFarland est préparé avec de l'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure de 18 heures sur gélose au sang. À l'aide d'une pipette, remplir l'eau physiologiqueensemencée dans les tubes de la galerie à l'exception des cupules sans pour autant dépasser le niveau des tubes. Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE, en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine et ensuite renfermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La lecture peut s'effectuer directement par rapport aux résultats du tableau d'identification (annexe 03), ou bien après transformation de ces résultats en code chiffré dont la signification est donnée (Murray, 2003) :

- Par le catalogue analytique
- Par un logiciel d'identification

6.5. 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 d'eau physiologique stérile et ajusté jusqu'à l'obtention d'une opacité de 0,5 Mc Farland, et incubée à 37°C pendant 6h. Ensuite, cette suspension bactérienne a été utilisée pour ensemercer 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. Ensemercer 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.

Tableau 5: La liste des antibiotiques utilisés.

Famille d'antibiotique	L'antibiotique	L'abréviation	La charge du disque
Bêta- Lactamines	Amoxicilline	AML	30 µg
	Cefoxitine	FOX	30 µg
	Cefazoline	KZ	30 µg
	Cefotaxime	CTX	30 µg
	Piperacilline	PRL	100 µg
	Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	30 µg
Aminosides	gentamicine	GEN	10 µg
Phénicoles	chloramphénicol	C	30 µg
Sulfamides	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	SXT	25 µg
Quinolones	acides pipémidique	PA	20 µg
	Péfloxacine	PEF	5 µg
Polypeptides	Nitroxoline	NO	30 µg
Pénicillines	Pénicilline G	P	10 µg
	Oxacilline	OX	1 µg
glycopeptides	Vancomycine	VA	30 µg
Tetracyclines	Doxycycline	DXT	30 µg

6.6. Activité antibactérienne

6.6.1. Préparation des extraits

- **Récolte et procédure d'extraction**

La plante *Cynara cardunculus* utilisée dans cette étude (fourni par Dr. Baali) a été récoltée en mai 2007 dans la région de Constantine. La matière végétale a été séchée et broyée avant d'être extraite par macération agitée à l'éthanol à : 70%, 80% et 50% à la température ambiante (25-40°C). Les extraits hydroéthanolique obtenus sont ensuite dégraissés à l'éther de pétrole par extraction liquide-liquide. Ainsi, les extraits éthanoliques dégraissés sont partagés par extraction liquide-liquide entre le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Les phases organiques ont été séchées avec Na₂SO₄ anhydre puis filtrées, ce qui donne après déménagement de dissolvants sous pression réduite, CHCl₃ (1,55g), EtOAc (11,97g) n-BuOH (28,04g) extraits respectivement (Baali, 2017).

- **Préparation des solutions**

Trois concentrations différentes de l'extrait de plante sont préparées dans de l'eau distillée stérile (250 mg/ml ,125 mg/ml, 62 .5 mg/ml) additionnée de 5% DMSO, selon la méthode de Debalke *et al.*, (2018).

- **Souches microbiennes utilisées**

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits *de cynara cardunculus* sont les suivants : *Staphylococcus xylosus*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Préparation des précultures**

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Petri contenant de la gélose nutritive. Après 18 heures d'incubation à 37 °C, des suspensions microbiennes d'une densité optique de 0,5 McFarland ont été préparées pour chaque microorganisme dans 10 ml d'eau physiologique stérile.

6.6.2. Test de sensibilité aux extraits des plantes

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion dans la gélose. La gélose Muller- Hinton a étéensemencée par technique d'écouvillonnage. Ensuite, des puits de 6mm ont été réalisés dans la gélose. 100 µl de l'extrait aqueux ont été déposés, puis les boîtes ont

été séchées 15 minutes sous la hotte à flux laminaire à la température ambiante, incubés à 37°C/24 h. L'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant, à l'aide d'un pied à coulisse, le diamètre de la zone d'inhibition induite par les extraits.

- **Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme**

Ce test a été réalisé comme un témoin positif des germes utilisés qui est comparé avec l'effet de nos extraits bruts. Le disque d'antibiotique est déposé à la surface d'un milieu gélose, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

I. Identification des souches :

Ce travail a pour but d'évaluer la qualité bactériologique des eaux usées hospitalières prélevées au niveau de la station de relevage Sidi M'cid à Constantine. Après repiquage des souches non pures sur les milieux gélose nutritive et BCP l'aspect macroscopique et microscopique sont étudiés pour confirmer la pureté des isolats.

1. Étude des caractères cultureux et morphologiques :

1.1. L'aspect macroscopique :

Les différents isolats avaient différents aspects macroscopiques, ils montrent divers aspects de colonies. Nous avons remarqué des colonies irrégulières de couleur jaune claire, des colonies rondes parfois bombées de couleur blanchâtre soient de taille variable et Avec une surface lisse, parmi lesquelles on trouve des colonies à contour régulier ou non. Il y a aussi des colonies avec une forme irrégulière et une couleur verdâtre (Tableau6).

Tableau 6: Description macroscopique des souches étudiées.

souche	Taille	forme	contour	relief	surface	couleur
S1	Petite	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Blanche
S2	Petite	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Transparente
S3	Moyenne	Ronde	Régulier	Bombé	Lisse	Blanche
S4	Moyenne	Ronde	Irrégulier	Elevé	Lisse	Jaune
S5	Moyenne	Ronde	Régulier	Elevé	Lisse	Jaune
S6	Grande	Irrégulier	Irrégulier	Plat	Rugueuse	Verdâtre
S7	Grande	Irrégulier	Irrégulier	Plat	Rugueuse	Verdâtre
S8	Grande	Irrégulier	Irrégulier	Plat	Rugueuse	Verdâtre
S9	Petite	Ronde	Régulier	Bombé	Lisse	Jaune
S10	Petite	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Jaune clair
S11	Petite	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Blanche
S12	Petite	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Transparente
S13	Moyenne	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Jaune
S14	Petite	Ronde	Régulier	Bombé	Lisse	Blanche
S15	Petite	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Jaune
S16	Petite	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Jaune

souche	Taille	forme	contour	relief	surface	couleur
S17	Petite	Ronde	Régulier	Bombé	Lisse	Jaune
S18	Moyenne	Ronde	Régulier	Bombé	Lisse	Jaune
S19	Petite	Ronde	Régulier	Plat	Lisse	Jaune
S20	Petite	Ronde	Régulier	Plat	Lisse	Blanche
S21	Petite	Ronde	Régulier	Bombé	Lisse	Jaune clair
S22	Petite	Ronde	Régulier	Elevé	Lisse	Jaune
S23	Moyenne	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Blanche
S24	Moyenne	Ronde	Régulier	Convexe	Lisse	Jaune clair

1.2.L'aspect microscopique :

L'étude microscopique repose sur les critères de la coloration de Gram : le Gram positif ou négatif, la forme (bacille, coccobacille, Cocci ...) (Tableau 6).

Après la coloration de Gram vingt-quatre souches ont été pure à 100%. D'autre n'ont pas été pures, sous microscope ils ont montré différents aspects (Bacilles à Gram positif, Bacilles à Gram négatif, Coccobacilles, des Bacilles en forme incurvée qui se ressemblent au *Vibrio* mais ils n'ont pas été isolé en raison de manque de milieu d'isolement de ces bactéries (Figure 9).

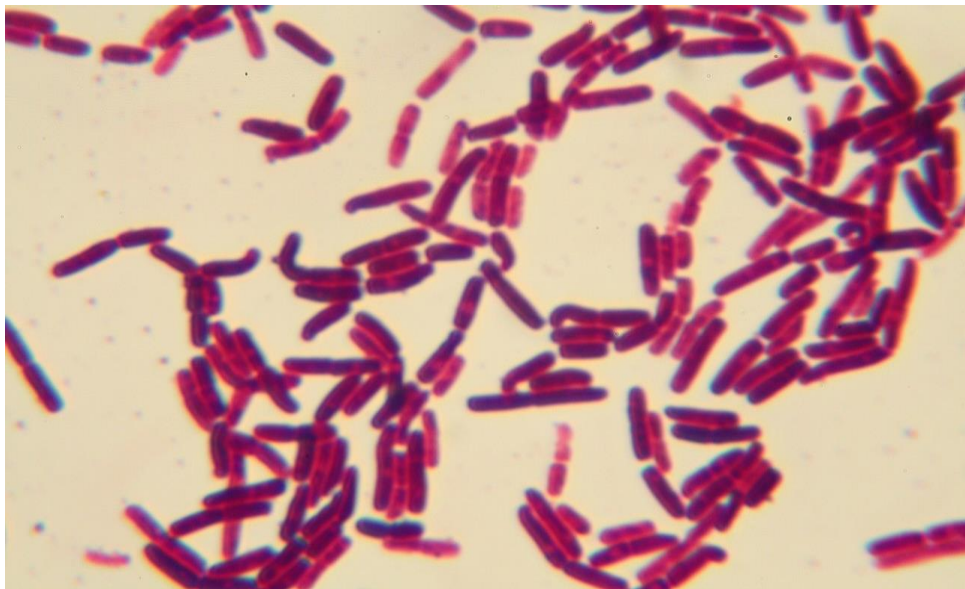


Figure 9: Aspect de *Vibrio* sous microscope des bactéries non pures après coloration de Gram

Après coloration de Gram des souches pures, l'observation microscopique à l'objectif à immersion montre des Bacilles, Coccobacilles, et des Cocci à Gram positif ainsi que des Bacilles, Coccobacilles, et des Cocci à Gram négatif.

Dont deux souches sont des Bacilles à Gram positif, neuf souches sont des Cocci à Gram positif.

En ce qui concerne le groupe des souches à Gram négatif, nous avons trois souches qui sont des Bacilles, dix souches sont des Coccobacilles.

Les résultats de la coloration de Gram ont été confirmés avec le test de KOH à 3 %.

La figure ci-dessus présente la répartition des souches étudiées en deux groupes : les souches à Gram positif et les souches à Gram négatif.

Dont les souches à Gram négatif représentent 54 % des souches étudiées alors que les souches à Gram positif représentent que 46 %.

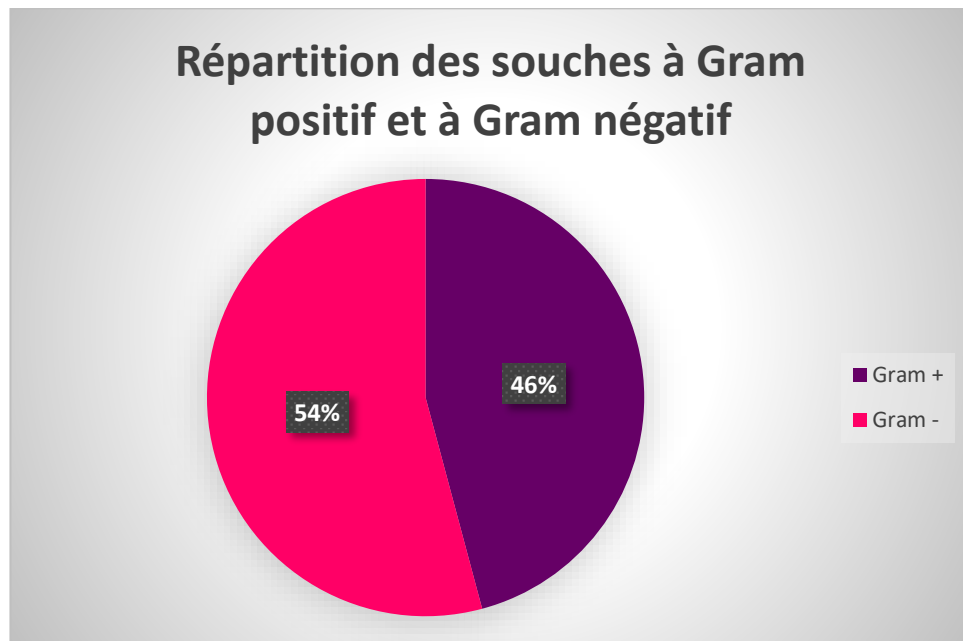
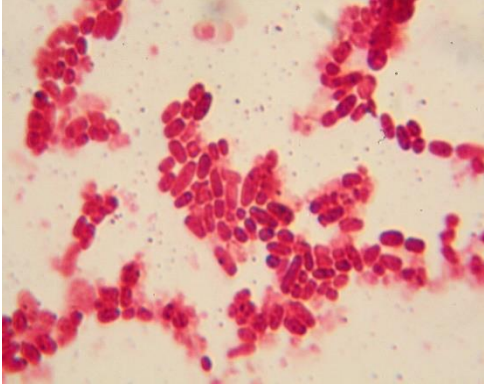
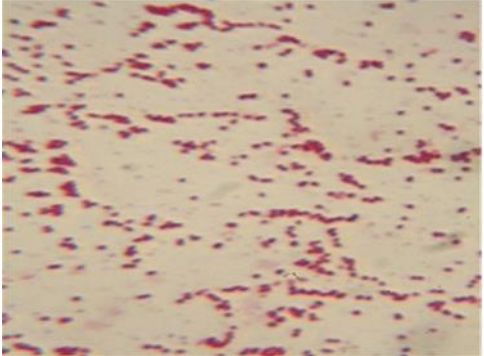
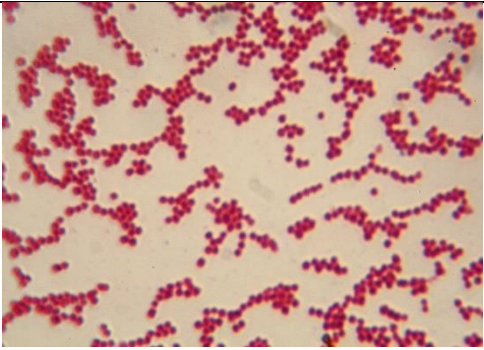

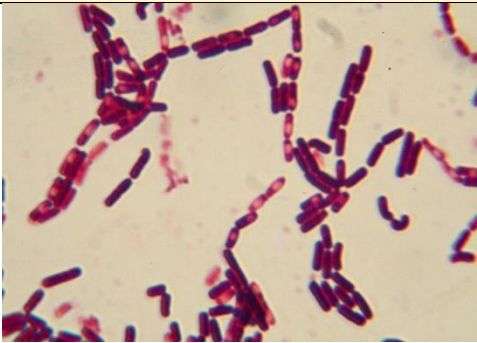
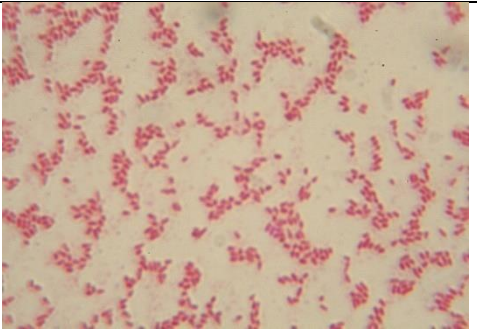
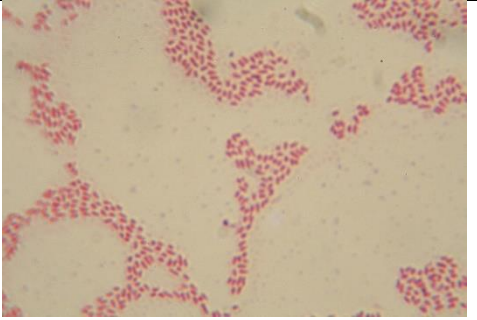
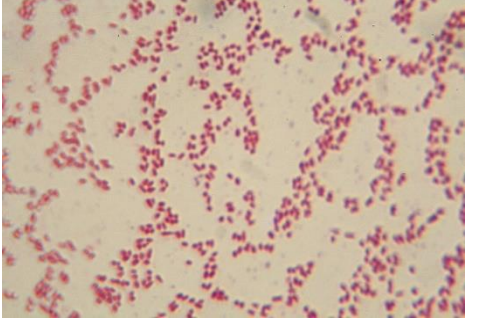


Figure 10: Répartition des souches étudiées en Gram positif et Gram négatif.

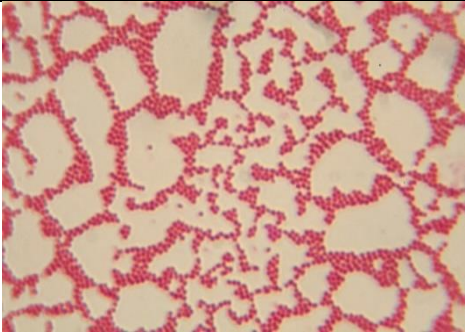

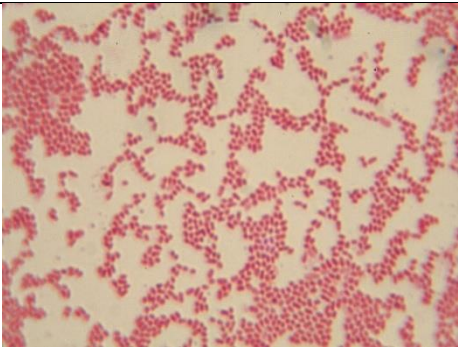
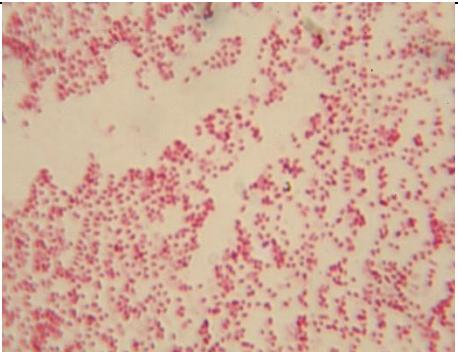
Tableau 7: Description microscopique des souches étudiées

Souche	Gram	Morphologie cellulaire	Observation microscopique
S1	-	Coccobacille	
S2	+	Cocci	
S3	+	Cocci	
S4	+	Bacille	

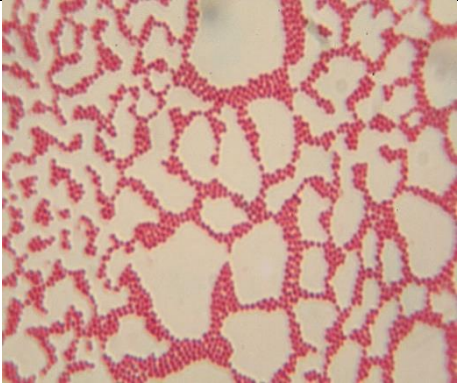

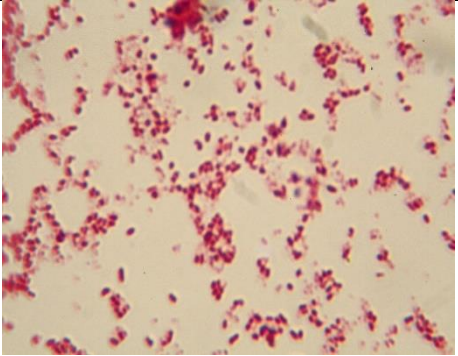
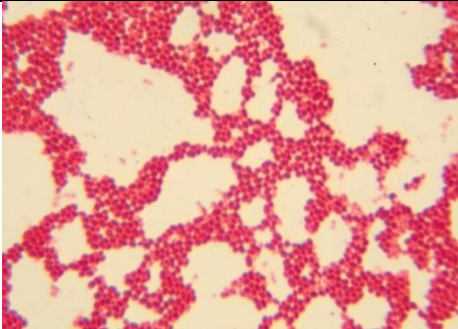
Suite du tableau 7.

souche	Gram	Morphologie cellulaire	Observation microscopique
S5	+	Bacille	
S6	-	Coccobacille	
S7	-	Coccobacille	
S8	-	Coccobacille	

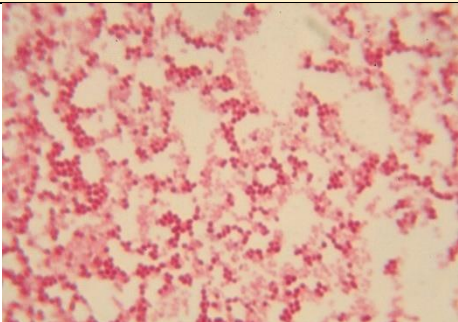
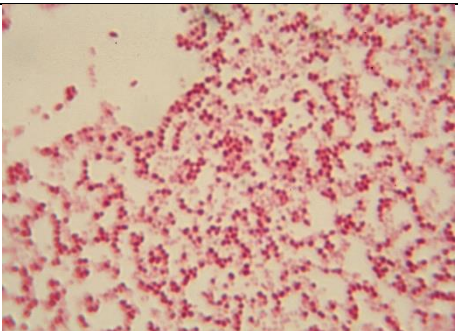
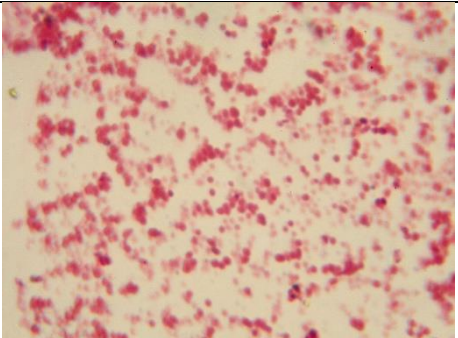

La suite du tableau 7.

souche	Gram	Morphologie cellulaire	Observation microscopique
S9	+	Cocci	
S10	+	Cocci	
S11	-	Coccobacille	
S12	-	coccobacille	

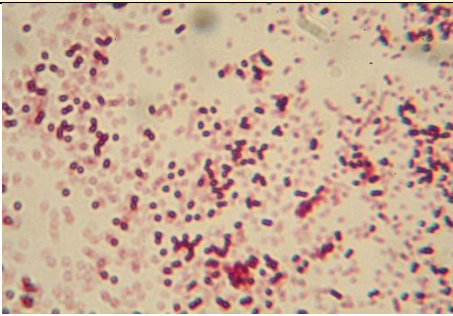
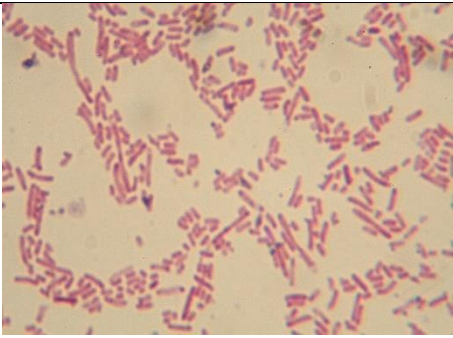
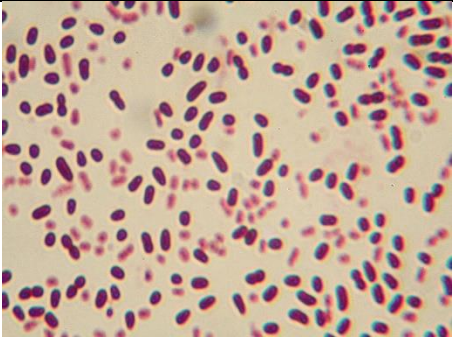
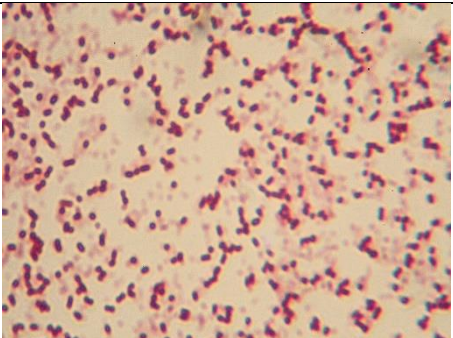
La suite du tableau 7.

souche	Gram	Morphologie cellulaire	Observation microscopique
S13	+	Cocci	
S14	-	Bacille	
S15	-	Coccobacille	
S16	-	Coccobacille	

La suite du tableau 7.

souche	Gram	Morphologie cellulaire	Observation microscopique
S17	+	Cocci	
S18	+	Cocci	
S19	+	Cocci	
S20	-	Bacille	

La suite du tableau 7.

souche	Gram	Morphologie cellulaire	Observation microscopique
S21	-	Coccobacille	
S22	-	Bacille	
S23	-	Coccobacille	
S24	+	Cocci	

2. Étude des caractères biochimiques :

2.1. Tests de catalase, oxydase, Mannitol Mobilité :

Toutes les bactéries isolées, testées pour la production d'une catalase, ont décomposé l'eau oxygénée en eau et en oxygène qui se dégage. Ce qui se traduit par le dégagement des bulles de gaz, sauf les souches S19 et S23 qui ont été catalase négative (Tableau8).

Parmi les souches isolées dix-sept ont été oxydase positive (S1, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S13, S14, S17, S18, S19, S20, S21, S24) et sept souches ont été oxydase négative (S2, S11, S12, S15, S16, S22, S23) (Tableau8).

Le test Mannitol Mobilité montre après ensemencement que les quatre souches S6, S7, S8, S20 ne fermentent pas le Mannitol, alors que le reste des souches un visage de couleur du milieu été observé qui indique la fermentation du sucre.

En outre, la formation de voile au niveau de la pique centrale montre que toutes les souches sont mobiles sauf S1 qui est immobile par absence de voile (figure 11).

Un autre caractère qui peut être observé dans ce milieu est la production de gaz dont sept souches (S3, S4, S5, S10, S14, S17, S19) sont capables de produire le gaz et le reste des souches sont incapables (figure 11).

Le tableau ci-dessous montre les résultats des tests catalase, oxydase, mannitol-mobilité (la fermentation du mannitol, la mobilité, et la présence de gaz).

Tableau 8: Les caractères biochimiques des souches étudiées.

Souche	Catalase	Oxydase	Mannitol Mobilité		
			Mannitol	Mobilité	Gaz
S1	+	+	+	-	-
S2	+	-	++	+	-
S3	+	+	+++	+	+
S4	+	+	++	+	+
S5	+	+	++	+	+
S6	+	+	-	+	-
S7	+	+	-	+	-
S8	+	+	-	+	-

Souche	Catalase	Oxydase	Mannitol Mobilité		
			Mannitol	Mobilité	Gaz
S9	+	+	+++	+	-
S10	+	+	+++	+	+
S11	+	-	++	+	-
S12	+	-	++	+	-
S13	+	+	+++	+	-
S14	+	+	+++	+	+
S15	+	-	+++	+	-
S16	+	-	+++	+	-
S17	+	+	+++	+	+
S18	+	+	+++	+	-
S19	-	+	++	+	+
S20	+	+	-	+	-
S21	+	+	+++	+	-
S22	+	-	+++	+	-
S23	-	-	+++	+	-
S24	+	+	+++	+	-

Pour le test de la fermentation du mannitol : (+++) ; Souche qui fermente le mannitol (présence de virage de couleur). (++) ; virage moyen. (+) ; virage faible. (-) ; pas de virage.

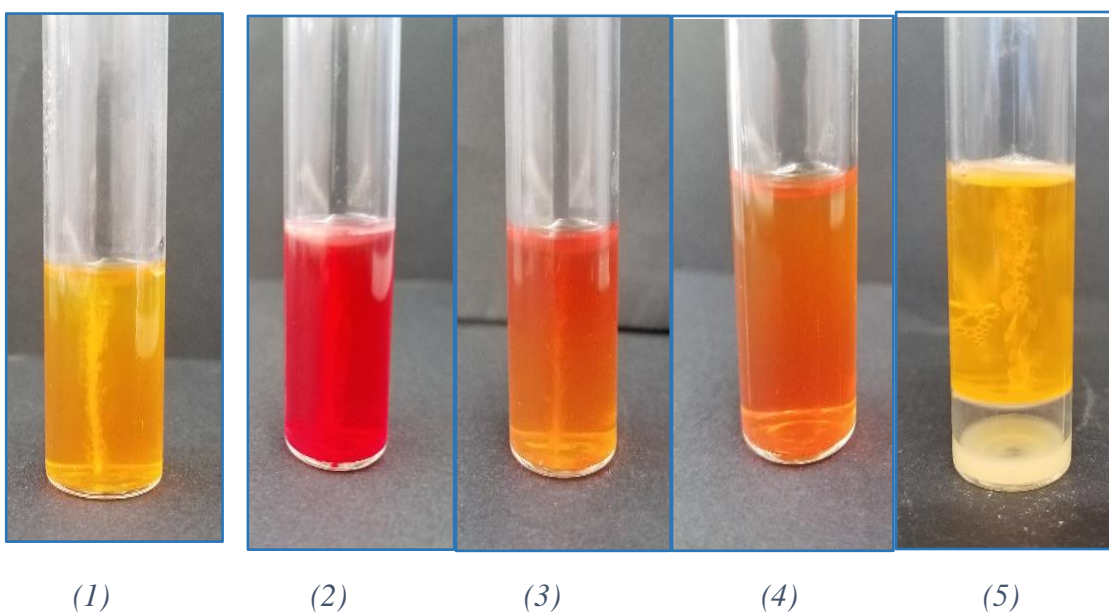


Figure 11: Test de Mannitol Mobilité.

(1) ; mannitol (+), Mobilité (+) : la souche S9.

(2) ; mannitol (-), Mobilité (+) : la souche S6.

(3) ; virage moyen : la souche S2.

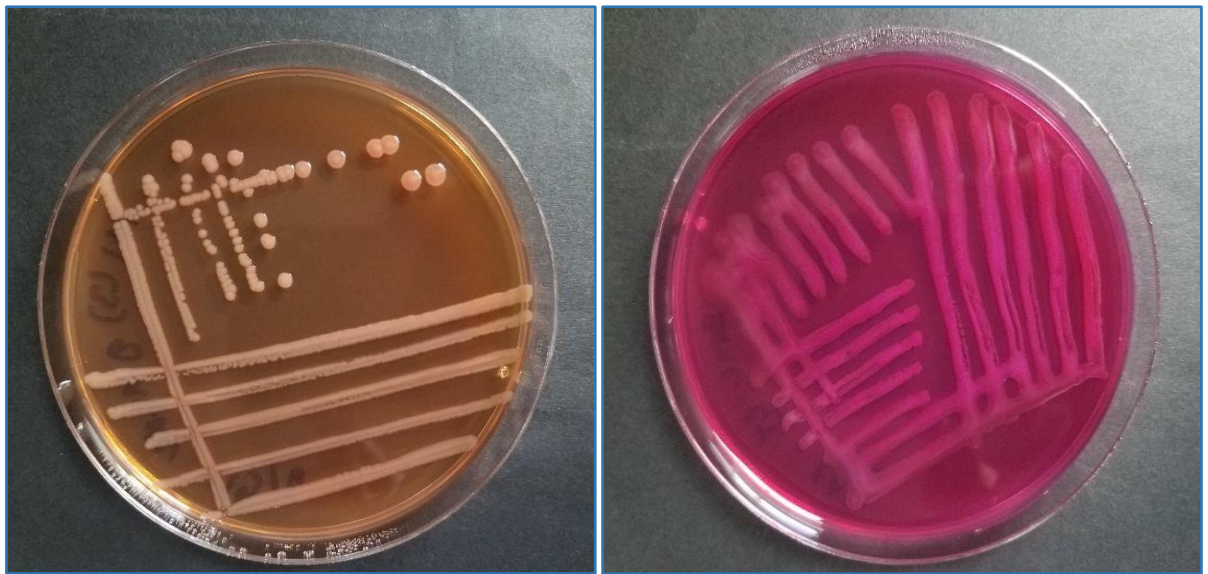
(4) ; virage faible : la souche S1.

(5) ; gaz (+) : la souche S3.

2.2. Les milieux sélectifs :

2.2.1 Milieu Mac Conckey :

L'utilisation du milieu Mac Conckey permet de dévoiler la capacité de fermenter le lactose chez les bactéries à Gram négatif sélectionnées par ce milieu, nous avons trouvé que deux souches (S22, S23) sont capables de fermenter le lactose alors que dix-sept (S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S21, S24) sont lactose négatif (figure 12).



(1)

(2)

Figure 12 : La croissance des bactéries à Gram négatif sur milieu Mac Conckey

(1) : colonies jaunes (lactose négatif) ; (2) : colonies roses (lactose positif)

2.2.2 Milieu Hectoén :

Parmi les souches à Gram négatif sélectionnées par le milieu Hectoén, quatre souches (S14, S21, S22, S23) ont eu une croissance avec des colonies saumon et une seule souche (S20) a eu une croissance avec des colonies bleu vert (figure 13).



(1)



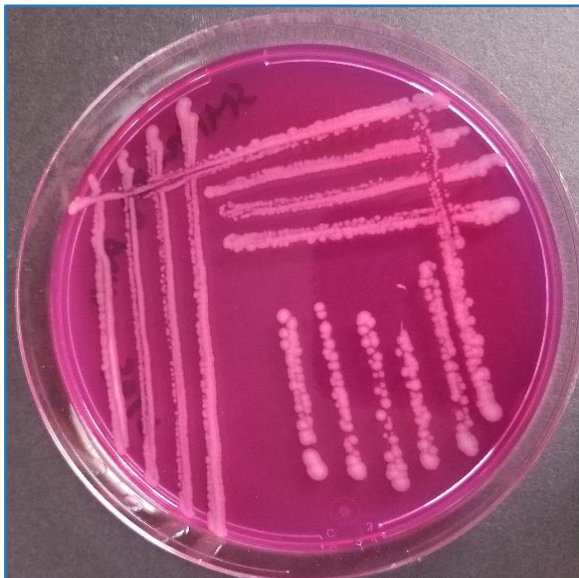
(2)

Figure 12: Croissance des bactéries à Gram négatif sur milieu Hectoen

(1) : colonies bleu vert ; (2) : colonies saumon

2.2.3 Milieu Chapman :

Dans ce milieu sélectif des bactéries halophiles, trois souches pu croitre dont deux souches (S3, S18) présentent un virage du milieu au jaune ce qui indique qu'elles fermentent le Mannitol avec acidification du milieu, et une seule souche (S19) ne présente pas le virage du milieu elle est Mannitol négatif (figure 14).



(1)



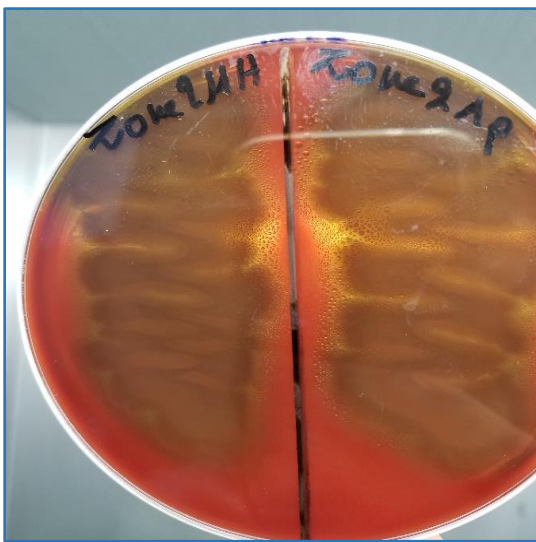
(2)

Figure 13: Croissance des bactéries halophiles sur milieu Chapman

(1) : colonies blanches (Mannitol négatif) ; (2) : colonies jaunes (Mannitol positif)

2.2.4 Milieu Gélose au sang :

L'utilisation du milieu Gélose au sang permet la lecture du caractère hémolytique des souches étudiées. Dont nous avons observé que cinq souches (S4, S5, S7, S8, S16) ont présenté un halo verdâtre à bords flous c'est une hémolyse de type α , dix souches (S6, S9, S10, S13, S14, S15, S17, S20, S21, S24) ont eu des colonies entouré d'une zone claire et incolore ce qui indique une hémolyse complète (hémolyse β), alors que neuf souches (S1, S2, S3, S11, S12, S18, S19, S22, S23) n'ont pas présenté un halo autour des colonies ce qui montre une absence d'hémolyse (hémolyse γ). (Figure 15).



(1)



(2)



(3)

Figure 14: observation de l'hémolyse par les souches étudiées sur milieu Gélose au Sang.

(1) : Hémolyse α (S7, S8) ; (2) : Hémolyse β (S9) ; (3) : Hémolyse γ (S18, S19).

3. Identification par la galerie API 20^E :

Les résultats des tests biochimiques sur les galeries API 20E sont regroupés dans le tableau 9.

Tableau 9: Les résultats des tests biochimiques des bacilles à Gram négatif.

test \ souche	S11	S12	S14	S15	S16	S22	S23
Ortho-Nitro-Phenyl-Galactoside (ONPG)	+	-	-	-	-	+	+
Arginine Dihydrolase (ADH)	+	-	-	-	-	-	-
Lysine Décarboxylase (LDC)	-	-	+	+	+	+	+
Ornithine Décarboxylase (ODC)	+	+	+	+	+	+	-
Citrate de Simmons (CIT)	-	+	+	+	+	-	+
Thiosulfate de sodium (H ₂ 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)	+	-	-	-	-	+	+
Oxydase	-	-	+	-	-	-	-
Nitrite (NO ₂)	+	-	+	+	+	+	+
Azote (N ₂)	-	+	-	-	-	-	-
mobilité	+	+	+	+	+	+	+

Les souches S15, S16, S23 appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, ces bactéries sont catalase positive et oxydase négative, VP positive, ADH négative et TDA, Uréase, H₂S négative, lactose négative, capables de fermenter le mannitol et le glucose. Après l'analyse des résultats de la galerie API 20 E par le logiciel «API web ® Biomérieux» les souches S9, S15, S16, S23 (figure 16) sont identifiées *Serratia marcescens*.



Figure 15: Profil sur API 20 E de la souche S15.

La souche S11 appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est catalase positive et oxydase négative, ONPG, ODC et VP positives, indole et H₂S négative, capable de fermenter le glucose. La souche S11 (figure17) est suspectée d'être *Enterobacter sp.*



Figure 16: Profil sur API 20 E de la souche S11

La souche S12 appartient à la Famille des *Enterobacteriaceae*, Bacille à Gram négatif, elle est catalase positive et oxydase négative, qui fermente le glucose, capable de réduire les nitrates en nitrites, elle est Uréase, TDA, et indole positif, et ONPG, H₂S, VP, Gélatinase négative. La souche S12 (figure 18) est identifiée *Morganella morganii*.



Figure 17: Profil sur API 20 E de la souche S12

La souche S22 est bacille à Gram négatif qui fermente le glucose et le lactose, catalase positive et oxydase négative, elle est indole positif, citrate, H₂S et uréase négative. D'après l'analyse des résultats, la souche S22 (figure 19) est identifiée *Escherichia coli*.

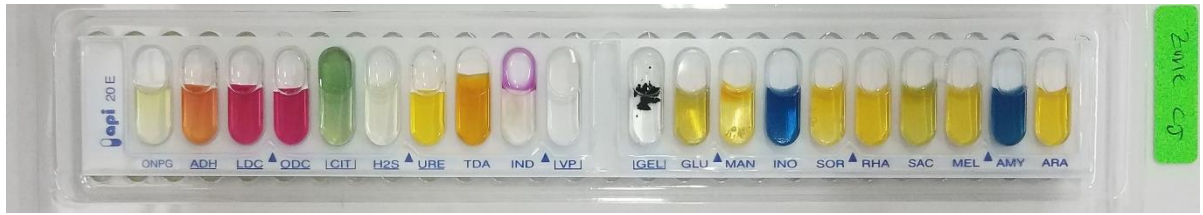


Figure 18: Profil sur API 20 E de la souche S22.

La souche S14 s'agit d'un bacille à Gram négatif, catalase positive et oxydase positive, mobilité positive, citrate positif, et ONPG, indole, lactose négatif, avec une fermentation du glucose. D'après l'analyse des résultats, la souche S14 (figure 20) est identifiée *Aeromonas hydrophila*.

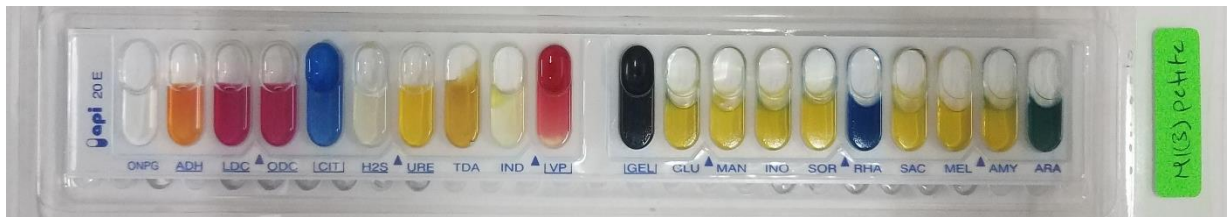


Figure 19: Profil sur API 20 E de la souche S14.

4. Identification par la galerie Api STAPH :

Les résultats des tests biochimiques sur les galeries API STAPH sont regroupés dans le tableau 10.

Tableau 10: Les résultats des tests biochimiques des Cocci à Gram positif.

souche	S2	S3	S18	S19
0	-	-	-	-
GLU	+	+	+	+
FRU	+	+	+	+
MNE	-	+	-	-
MAL	+	+	-	+
LAC	-	+	-	-
TRE	+	+	-	+
MAN	+	+	+	-
XLT	-	-	-	-
MEL	-	+	-	-

souche	S2	S3	S18	S19
NIT	-	+	-	-
PAL	+	+	+	+
VP	+	+	+	+
RAF	-	+	-	-
XYL	-	+	-	-
SAC	-	+	-	-
MDG	-	-	-	-
NAG	-	+	-	+
ADH	-	+	+	-
URE	-	+	+	-

Les souches S2, S19 sont des coques à Gram positif, groupées en amas, lactose négatif, catalase positive, capable de fermenter le Mannitol. Après l'analyse des résultats de la galerie STAPH par le logiciel «API web ® Biomérieux» les souches S2, S19 (figure 21) sont identifiées *Staphylococcus cohnii ssp cohnii*.

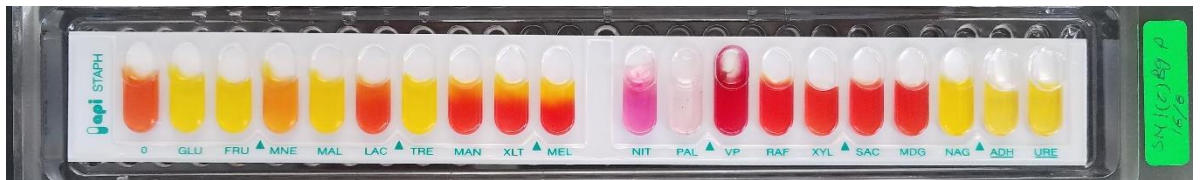


Figure 20: Profil sur Api STAPH de la souche S19.

La souche S3 représente des cocci à Gram positif groupés en amas, lactose négatif, catalase positive, capable de fermenter le Mannitol. D'après l'analyse des résultats, la souche S3 (figure 22) est identifiée *Staphylococcus xylosum*.



Figure 21: Profil sur Api STAPH de la souche S3.

La souche S18 représente des cocci à Gram positif groupés en amas, lactose négatif, catalase positive, capable de fermenter le Mannitol. D'après les résultats la souche S18 (figure 23) est identifiée *Staphylococcus capitis*.



Figure 22: Profil sur Api STAPH de la souche S18.

5. Identification par la galerie API 20 NE (non-Entérobactéries) :

Tableau 11: Les résultats des tests biochimiques des bacilles à Gram négatif NE.

souche	S1	S6	S7	S8	S20	S21
NO ₃	+	+	-	+	-	+
TRP	+	-	-	-	-	-
GLU	+	-	-	-	-	-
ADH	+	+	+	-	+	+
URE	+	+	+	+	+	+
ESC	+	+	+	+	+	+
GEL	+	+	+	+	+	+
PNPG	+	-	-	-	-	+
GLU	+	+	+	+	+	+
ARA	+	-	-	-	+	+
MNE	+	-	-	-	-	+
MAN	+	+	+	+	+	+
NAG	+	+	+	+	+	+
MAL	+	-	-	-	+	+
GNT	+	+	+	+	+	+
CAP	+	+	+	+	+	+
ADI	-	+	+	+	+	+
MLT	+	+	+	+	+	+
CIT	+	+	+	+	+	+
PAC	-	-	-	-	+	+
OX	+	+	+	+	+	+

Les souches S6, S7 et S8, sont des bacilles à Gram négatif, avec catalase positive, Oxydase, mannitol et mobilité positive, lactose et indole négatif, 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. Après l'analyse des résultats de la galerie API 20 NE par le logiciel «API web ® Biomérieux» les souches S6, S7 et S8 (figure 24) sont identifiées *Pseudomonas aeruginosa*.

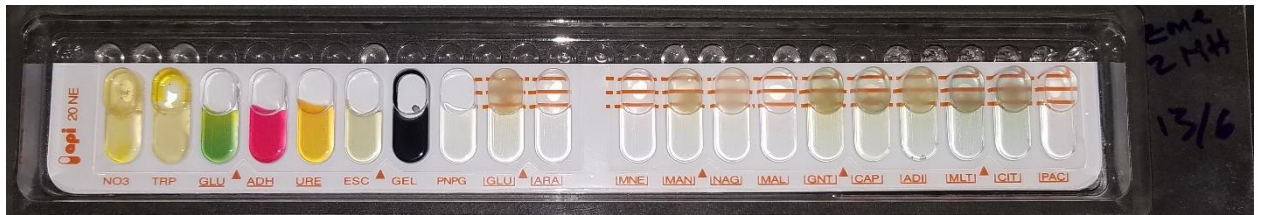


Figure 23: Profil sur API 20 NE de la souche S7.

La souche S1 est une bactérie à Gram négatif, catalase, oxydase, nitrate réductase, et glucose positif, mobile et avec ADH, gélatinasse, esculine et arabisone positive. Après l'analyse des résultats de la galerie API 20 NE par le logiciel «API web ® Biomérieux» la souche S1 (figure 25) est identifiée *Aeromonas caviae*.



Figure 24: Profil sur API 20 NE de la souche S1.

La souche S20, S21 sont des bactéries à Gram négatif produisant de la catalase et ne fermentant pas le lactose, oxydase et glucose positive, uréase négative. Après l'analyse des résultats de la galerie API 20 NE par le logiciel «API web ® Biomérieux» la souche S20, S21 (figure 26) sont identifiées *Burkholderia cepacia*.



Figure 25: Profil sur API 20 NE de la souche S21.

Les souches S4, S5 sont des bacilles à Gram positif, catalase positive, et ne fermentent pas le lactose. D'après les résultats obtenus et selon la coloration des spores, les souches sont sporulées, elles sont suspectées d'être *Bacillus* sp.

Les souches S9, S10, S13, S17, S24 sont des Cocci à Gram positif, catalase positive et oxydase positive, elles sont glucose positif et lactose négatif, et ADH négative. D'après l'analyse des résultats, les souches S9, S10, S13, S17, S24 sont suspectées d'être *Micrococcus* sp.

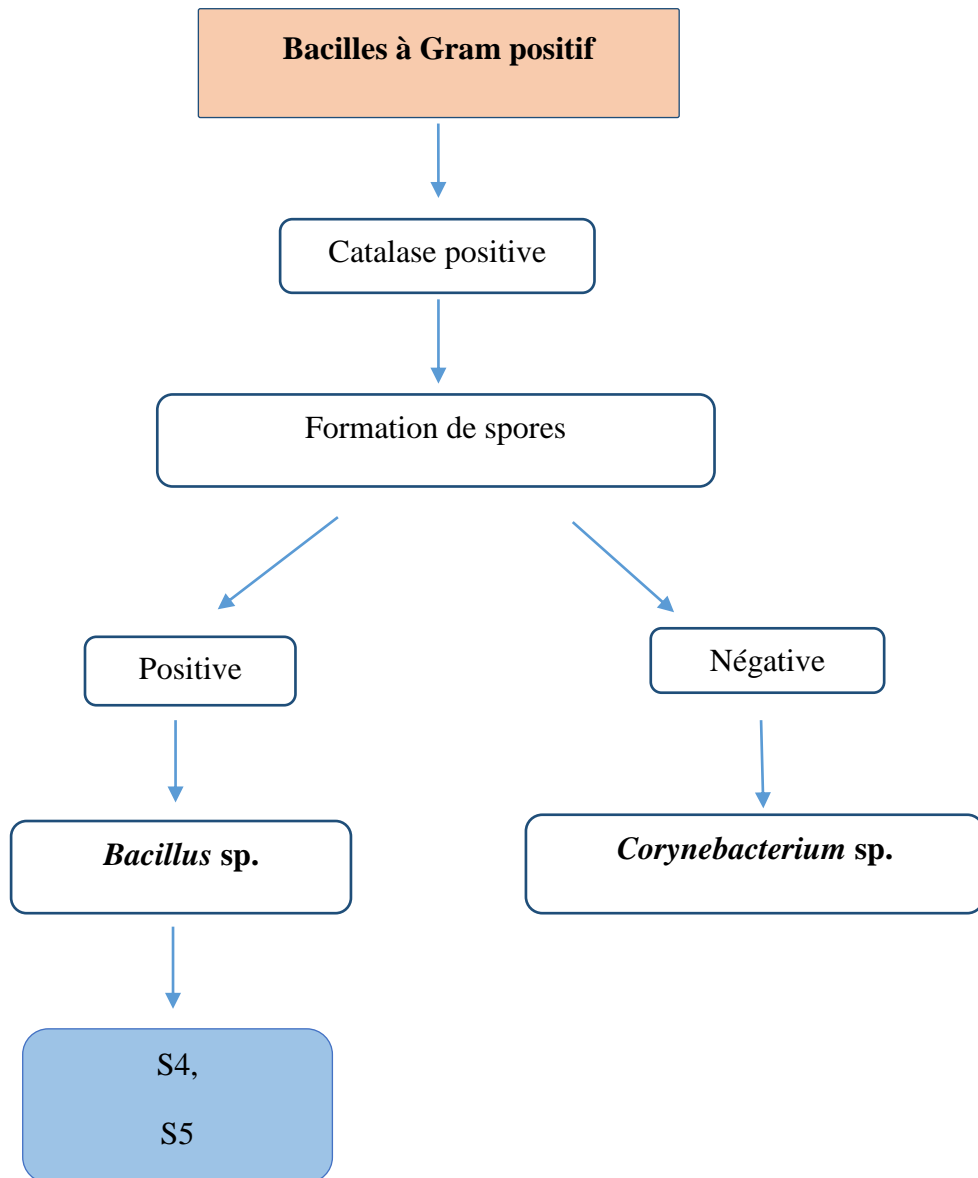


Figure 26: Clés dichotomiques de différenciation des Bacilles à Gram positif.

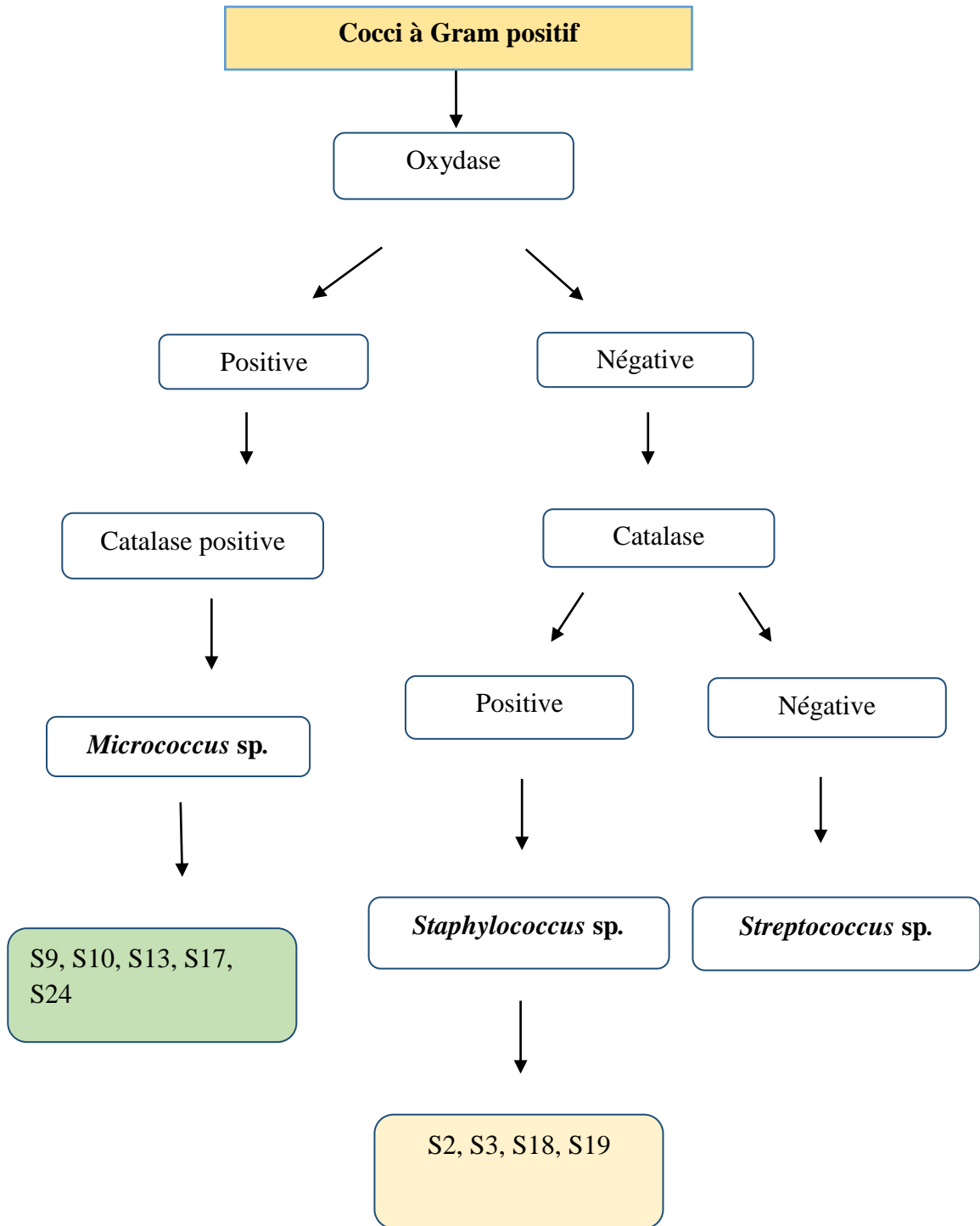


Figure 27: Clés dichotomiques de différenciation des Cocci à Gram positif.

Tableau 12: Identification présumptive des souches étudiées.

Gram	souches	Genres/espèces suspectés
Bacille à Gram négatif	S1, S14 S6, S7, S8 S11 S12 S15, S16, S23 S20, S21 S22	<i>Aeromonas</i> sp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacter</i> sp. <i>Morganella morganii</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Escherichia coli</i>
Bacille à Gram positif	S4, S5	<i>Bacillus</i> sp.
Cocci à Gram positif	S2, S19 S3 S18 S9, S10, S13, S17, S24	<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus capitis</i> <i>Micrococcus</i> sp.

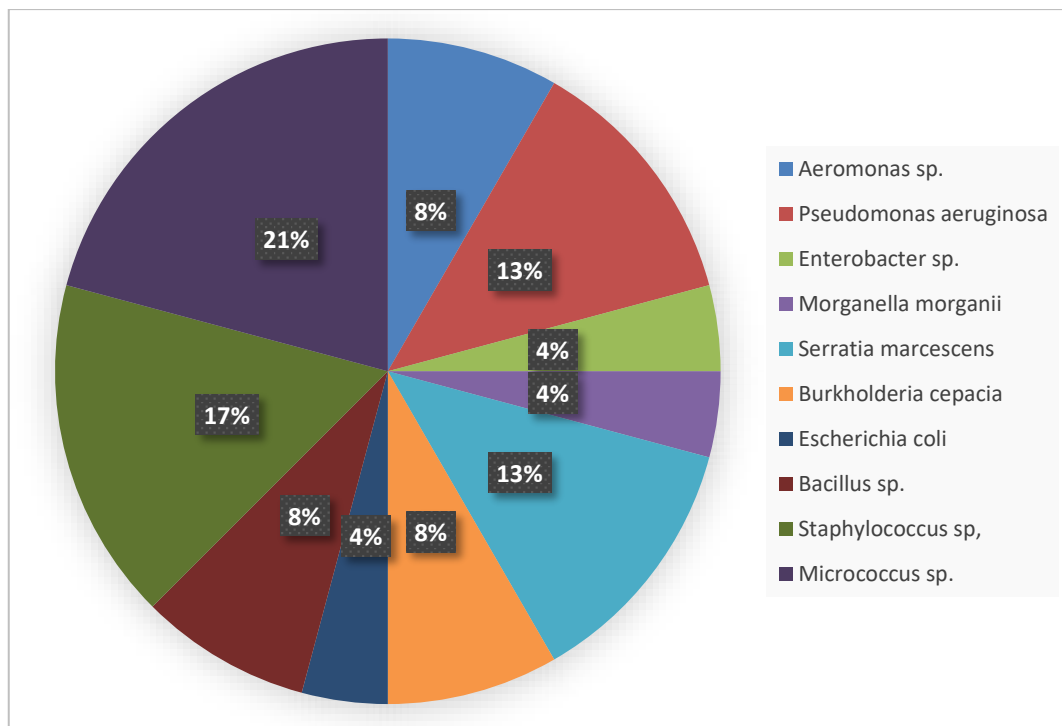


Figure 28: Pourcentage des bactéries présentes dans les effluents hospitaliers

Les bacilles à Gram négatif étaient prédominants avec 54 %, au total treize bactéries ont été isolées de vingt-quatre. Dans plusieurs études réalisées en Afrique (Maroc) et en Europe (Espagne, France), les auteurs ont également mis en évidence une flore bactérienne dans les effluents hospitaliers dominés par les bactéries à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (*E. coli*) et des *Pseudomonaceae* (*Pseudomonas aeruginosa*) (Jeannette *et al.*, 2007 ; Ekhaïse, 2008; Atef *et al.*, 2008) et dans une moindre mesure les Staphylocoques . Cette flore mise en évidence était composée de la flore des malades, et de l'environnement hospitalier (sols, surfaces, matériels, eau, air) (Guessennd *et al.*, 2013).

Dans notre étude les *Entérobacteriaceae* sont également les plus nombreux, ces résultats concordent avec les travaux de Ramdani *et al.*, 2018 et Adanloknonon *et al.*, 2018 qui ont trouvé que les coliformes représentent le groupe le plus dominant, et ils ont considéré que la présence d'*E.coli* dans les eaux analysées indique clairement leur contamination par les bactéries fécales.

E. coli et *enterobacter* sp sont toutes les deux pathogènes et commensaux et sont des causes fréquentes des infections nosocomiales.

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.

Aeromonas hydrophila a également été signalé parmi les causes des maladies humaines les plus fréquentes parmi les espèces de *Aeromonas spp.*, elle est reconnue comme un agent pathogène opportuniste, qu'il est souvent isolé dans des infections de plaies subies en milieu aquatique.

Ces résultats sont très proches de celui de Yousfi *et al.*, 2018 qui ont montré que les *Enterobacteriaceae* constituaient la famille prédominante, les espèces identifiées dans cette famille comprenaient *E. coli* , différentes espèces d'*Enterobacter* et du genre *Aeromonas*, ces espèces étaient les plus nombreux.

Morganella morganii est rencontrée le plus souvent à l'hôpital, responsable d'infections opportunistes chez les immunodéprimés, d'infections urinaires, d'infections extradiigestives diverses et rares infections maternelles fatales, cette bactérie a été isolé par Hahnar *et al.*, 2018 à partir de l'hôpital civil Aizawl en Inde.

Ramdani *et al.*, 2018 ont expliqué la présence de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* comme des bactéries responsables d'infections nosocomiales et c'est le danger qui caractérise les effluents des hôpitaux.

6. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

En utilisant 16 antibiotiques de différentes familles, l'antibiogramme a été réalisé pour 19 souches bactériennes. La mesure du diamètre des zones d'inhibition de chaque souche pour chacun des antibiotiques testés permet de caractériser les souches en tant que sensible, résistante ou intermédiaire.

D'après les résultats obtenus (annexe 6) et en comparant les valeurs mesurées avec les diamètres critiques selon la fiche des zones d'inhibition (CLSI et CASFM, 2019), 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 13).

Tableau 13: Les profils de résistance des souches caractérisées

ATB souche	C T X	K Z	A M C	P R L	N O	F O X	P E F	S X T	A M L	G E N	P A	C	P	O X	V A	D X T
S18	R	S	S	I	I	S	I	R	R	S	S	R	S	R	S	R
S3	S	S	I	I	I	R	R	S	R	I	S	I	R	R	R	R
S19	R	I	I	I	I	R	I	S	R	R	I	S	R	R	S	R
S22	S	r	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	/	/	/	/
S23	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	/	/	/	/
S9	S	R	S	S	S	I	R	S	R	S	S	I	/	/	/	/
S7	R	R	S	S	R	R	I	R	R	S	S	R	/	/	/	/
S8	R	R	S	S	R	R	S	I	R	S	S	R	/	/	/	/
S6	R	R	S	S	R	R	I	I	R	S	S	R	/	/	/	/
S11	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	/	/	/	/
S2	S	R	S	S	I	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R

ATB souche	C T X	K Z	A M C	P R L	N O	F O X	P E F	S X T	A M L	G E N	P A	C	P	O X	V A	D X T
S14	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	/	/	/	/
S15	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	/	/	/	/
S4	R	I	S	I	S	S	I	R	R	S	I	I	/	/	/	/
S16	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	/	/	/	/
S12	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	/	/	/	/
S5	R	R	S	I	I	S	I	I	R	S	I	I	/	/	/	/
S21	3, 4	0	2, 3	2, 6	2, 8	2	2, 3	S	R	2, 4	2, 8	3	/	/	/	/
S20	2, 1	0	2, 5	2, 4	1, 2	0, 8	1, 8	I	R	2, 3	2, 2	1, 1	/	/	/	/

R : la souche est résistante, **S** : la souche est sensible, **I** : la souche est intermédiaire

Le résultat « R » signifie que le risque d'échec thérapeutique est grand quel que soit le traitement, le résultat « S » signifie qu'il n'y a pas de mécanisme de résistance acquise exprimée in vitro, la probabilité de succès thérapeutique est forte, le résultat « I » correspond à une zone d'incertitude qui ne peut pas prédire du succès ou de l'échec thérapeutique.

D'après les résultats de l'antibiogramme, les souches (S2, S3, S18, S19) qui ont été identifiées comme *Staphylococcus* sp. (figure30) sont sensibles à la gentamicine, triméthoprime/sulfaméthoxazole et l'acide pipémidique et résistantes aux céfotaxime, céfoxitine, amoxicilline, pénicilline G, oxacilline, doxycycline et ont une sensibilité intermédiaire aux pipéracilline, nitroxoline, et péfloxacine.

Selon les références, *Staphylococcus* sp. présente une résistance importante vis-à-vis les antibiotiques de la famille Bêta-Lactamines et aux pénicillines ainsi que les tétracyclines et elles sont soit sensibles soit intermédiaires vis-à-vis les autres familles. Ces résultats concordent avec les résultats obtenus par Daoud *et al.*, en 2018 et El haimer en 2019.

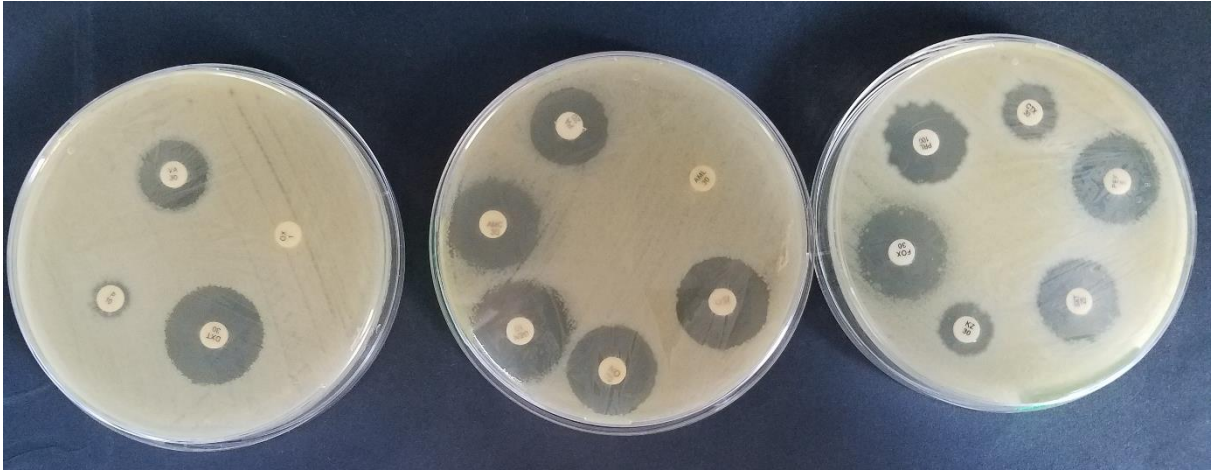
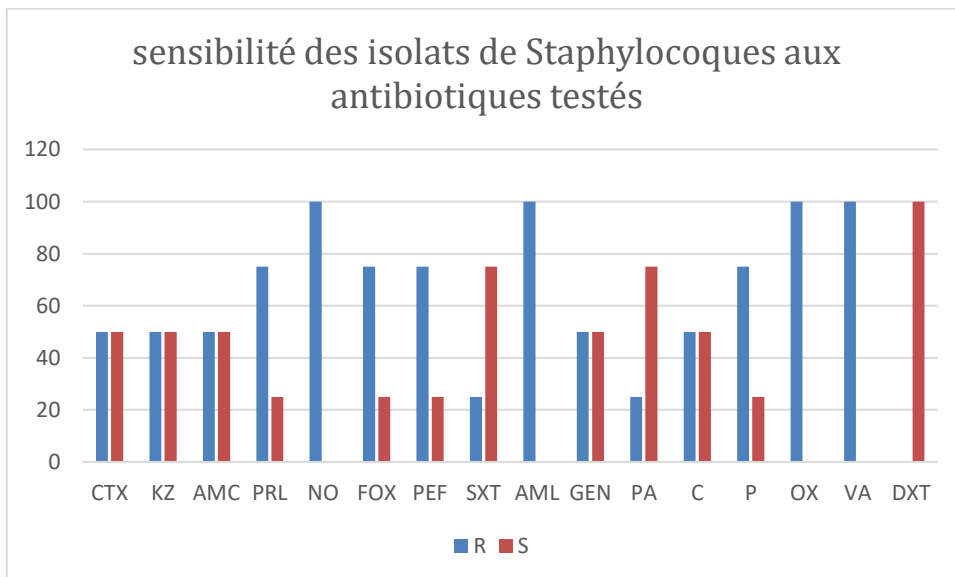


Figure 29: L'antibiogramme de *Staphylococcus* sp.

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 résistants à 100% à nitroxoline, amoxicilline, oxacilline, vancomycine)

Les souches (S15, S16, S23, S11, S12, S22) qui ont été identifiées comme Enterobacteriaceae (figure 31) sont sensibles aux céfotaxime, amoxicilline + acide clavulanique, nitroxoline, céfoxitine, acide pipémidique, péfloxacine, et chloramphénicol et résistants aux céfazolines, amoxicilline, gentamicine, piperacilline, et triméthoprime/sulfaméthoxazole.

Selon les références, les *Enterobacteriaceae* sont résistantes vis-à-vis les Bêta-Lactamines, les aminosides et sensibles aux quinolones. Notre résultat sont proche des résultats de Mlaga *et al.*, (2019) et Chabane en 2018.

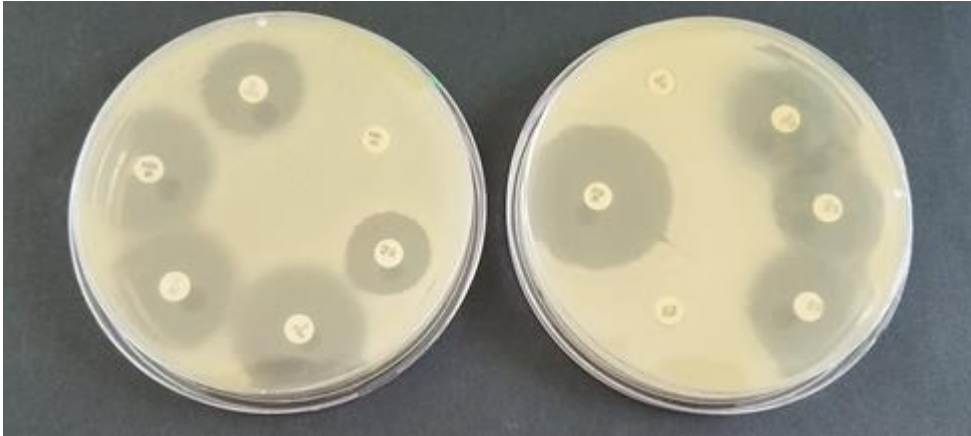


Figure 30: L'antibiogramme d'*Escherichia coli*.

Les souches (S6, S7, S8) qui ont été identifiées comme *Pseudomonas aeruginosa* (figure 32) sont sensibles aux amoxicilline + acide clavulanique, pipéracilline, gentamicine, acide pipémidique et résistantes aux céfotaxime, céfazoline, nitroxoline, céfoxitine, triméthoprime/sulfaméthoxazole, amoxicilline, et chloramphénicol, et ont une sensibilité intermédiaire à la péfloxacin.

Selon les références, *Pseudomonas aeruginosa* est résistante vis-à-vis les antibiotiques de la famille Bêta-Lactamines, les fluoroquinolones, et carbapénème. Et nos résultats concordent avec les travaux rapportés par Moghnieh *et al.*, (2019) et El haimer en 2019.

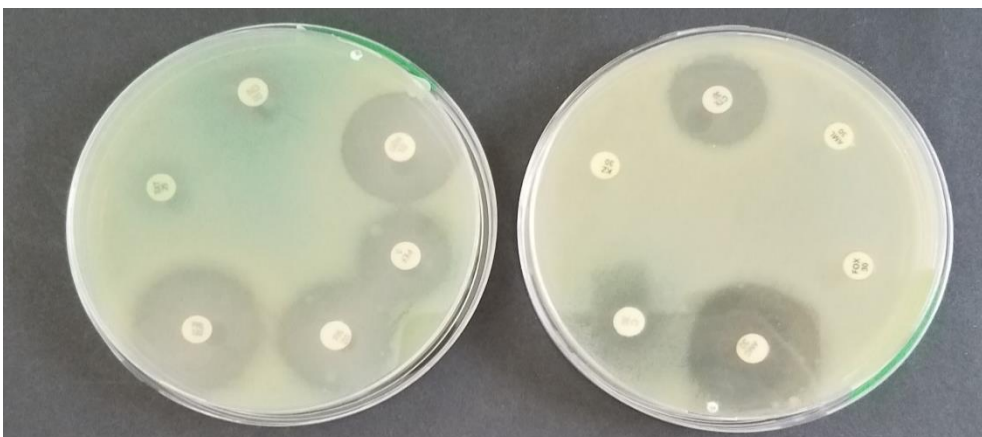


Figure 31: L'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les souches (S4, S5) qui ont été identifiées comme *Bacillus sp.* (figure 33) sont sensibles aux amoxicilline + acide clavulanique, céfoxitine, gentamicine et résistantes aux céfotaxime,

amoxicilline, céfazoline, triméthoprim/sulfaméthoxazole et ont une sensibilité intermédiaire aux piperacilline, péfloxacine, acide pipémidique, et chloramphénicol.

Selon les références, *Bacillus* sp. a une sensibilité aux gentamicines et possède une sensibilité intermédiaire au Chloramphénicol, et est résistante vis-à-vis triméthoprim/sulfaméthoxazole. Nos résultats sont proches avec les résultats rapportés par Timraz en 2016.



Figure 32: L'antibiogramme de *Bacillus* sp.

7. Test de sensibilité aux extraits des plantes

Les résultats du test de l'activité antibactérienne sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 14 : Activité antibactérienne (zone d'inhibition par cm) des extraits de *Cynara cardunculus*.

Extrait	concentration	Souches testées	
		<i>Staphylococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>
5acet	250 mg/ml	1,4	-
	125 mg/ml	1,3	-
	62 mg/ml	1,4	0,8
5but	250 mg/ml	0,9	1,2
	125 mg/ml	-	1
	62 mg/ml	-	1,1
Témoin positif (cefotaxime)	30 µg	3,4	3,4
Témoin négatif (eau distillé stérile + 5% DMSO)	-	-	-

5acet : extrait ethyl acetate de la *Cynara cardunculus* ; **5but** : extrait butanolique de la *Cynara cardunculus*.

D'après les résultats du tableau 13 les extraits 5But et 5Acet ont montré une activité antibactérienne qui varie avec la concentration de la solution d'extrait et l'espèce bactérienne, l'activité antibactérienne la plus efficace est celui de 5Acet obtenu a une concentration de 250mg/ml avec une zone d'inhibition de 1.4cm contre *Pseudomonas aeruginosa*, par contre le 5Buts montre une activité antibactérienne plus efficace contre *staphylococcus* avec une zone d'inhibition de 1.2cm à une concentration 250mg/ml.

Nos résultats sont proches avec les résultats de Emanuel *et al.*, (2011) et qui ont montré que l'extrait de *Cynara scolymus* a une activité antibactérienne contre les staphylocoques avec une zone d'inhibition (1.20 ± 0.03 cm) et contre les *Pseudomonas* avec une zone d'inhibition (1.10 ± 0.04 cm).

Le mécanisme antibactérien peut être dû à la diffusion des composés actifs du site d'application au site d'action où il peut exercer sa toxicité. Ceci indique que ces extraits peuvent être utilisés comme agent antibactérien avec des marges de sécurité raisonnables pour inhiber la croissance bactérienne. Le mécanisme antibactérien connu associé à chaque classe de produits chimiques auxquels appartiennent les composés isolés peut expliquer la puissance antibactérienne de l'extrait. L'activité antibactérienne de l'extrait pourrait être due à la présence de composés phénoliques et à la capacité des composés phénoliques de se lier aux parois cellulaires bactériennes et d'inhiber la croissance microbienne.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

D'après nos résultats on constate que les vingt souches isolées à partir des eaux usées hospitalières du CHU Dr Benbadis de Constantine sont des Bacilles à Gram positif et négatif et des Cocci à Gram positif.

Les tests biochimiques (API 20E, API® STAPH, API 20NE) et les milieux sélectifs ont permis l'identification des souches étudiées comme suit : *Serratia marcescens* 13%, *Enterobacter* sp. 4%, *Morganella morganii* 4%, *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* et *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus capitis* 17%, *Pseudomonas aeruginosa* 8%, *Aeromonas* sp. 8%, *Burkholderia cepacia* 8%, *Bacillus* sp. 8%, *Micrococcus* sp. 21%.

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, PRL, PEF, GEN, SXT, FOX, PA, C, AMC, AML, NO, P, DXT, VA, OX), les bactéries sont révélées d'être multirésistantes aux différents antibiotiques notamment l'Amoxicilline, le Triméthoprim/ sulfaméthoxazole, le Cefoxitine, le Chloramphénicol, le Doxycycline et le Cefazoline.

En perspective les techniques de base et de hautes performances comme le séquençage génomique, l'extraction de l'ADN des souches isolées, profils électrophorétiques de l'ADN total des isolats identifiés, PCR ADN16s, les gènes de ménage ; la mesure de paramètres chimiques (DBO₅, DCO, MES, Azote), dénombrement de la FTAM..., doivent être réalisées, et aussi d'effectuer des analyses microbiologiques après le traitement des effluents hospitaliers.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Cynara cardunculus* contre deux bactéries *Pseudomonas* et *Staphylococcus* a montré que ces extraits ont une activité inhibitrice remarquable et les diamètres des zones d'inhibition varient entre 0.8cm et 1.4cm.

Comme perspectives, il serait judicieux de :

Tester ces extraits en utilisant des souches de références en même temps que d'autres isolats multirésistants.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbache, M., Alilat, L., & Boulekbache, L. E. (2017). Effet de la cuisson sur la composition phénolique et l'activité antioxydante de *Cynara cardunculus* (le cardon): Optimisation par les plans d'expérience.

Abouzlam, M. (2014). Optimisation d'un procédé de traitement des eaux par ozonation catalytique (Doctoral dissertation, Poitiers).

Adamczak k., Lyko s., Nafó I. , Evenblij H., Cornelissen A., Igos E., Klepiszewski K., Venditti S. , Kovalova L., McArdell C. , Helwig K., Pahl O. , Barraud O., Casellas M., Dagot C., Maftah C., Ploy MC., Stalder T. (2012). Les résidus pharmaceutiques dans le système aquatique – un défi pour l'avenir. Panorama et activités du projet de coopération européenne PILLS. Gelsenkirchen, Allemagne.

URL: http://www.pills-project.eu/PILLS_summary_francais.pdf

Adanloknon, E. A. S., Kanhounon, W. G., Chabi, B. C., Adjahouinou, D. C., Koumolou, L., Bonou, B., ... & Etorh, P. A. (2018). Physicochemical and microbiological characterization of effluents from the “Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant Lagune (CHU-MEL)” discharged in the Cotonou lagoon in Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), 1955-1964

Aissani T., Ait Chikh S. (2015). Etude cinétique de la dégradation de la Sulfaméthazine par le procédé photocatalytique (UV/TiO₂, UV/ZnO) et faisabilité du couplage de ce procédé au traitement biologique. Mémoire Master :Génie Chimique.Université de Bejaïa, Bejaia.

Alexandre Canchado, (2012). Les effluents liquides hospitaliers. Mémoire Master spécialisé : Gestion de l'eau. AgroParisTech-ENGREF, 46 p.

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 et technologie. 10(janvier).pp31-38.

Atef M. Diab, Idriss M. Al-turk, Mohames K. Ibrahim, Khalil D. Al-Zhrany., 2008. Tracing of Gramnegative antibiotic-resistant bacteria in hospitals final affluent at Al-Mounwwarah. Journal of Taibah University for Science (JTUSCI) 1:23-34.

Baali, N, Ameddah, S and Wrutniak-Cabello, C (2017). Effet hépatoprotecteur d'extraits polyphénoliques de *Cynara cardunculus*, *Genista quadriflora* munby et *Teucrium polium geryii* maire sur le dysfonctionnement mitochondrial induit par le paracétamol. (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri Constantine).

BEDDOU S., (2017). Étude de l'activité antibactérienne d'extraits de plantes médicinales sur des espèces bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques. Mémoire Master : Microbiologie Appliquée. Université ABOUBEKR BELKAÏD, Tlemcen. 42 p.

Benabdelhak, M., & Atmani, D. E. (2015). Inhibition de l'activité NADH oxydase de la xanthine oxydoréductase par les extraits et les fractions chromatographiques d'extraits de *Fraxinus angustifolia* et *Pistacia lent*.

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.

Boussaa, K, Izeraren, L and Tacherfiout, M (Encadreur) (2016). Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Master : pharmacologie moléculaire. 48 p.

Chabane Chaouch, S., & MEZHOUD, H. (2018). Isolement de bactéries résistantes aux antibiotiques à partir des effluents d'abattoirs de volaille. Mémoire Master : Microbiologie Fondamentale. Université des Frères Abderrahmane Mira de Bejaia. 23 p.

Cavalié P, De Calan C, Gourlay M-L et Comby V, 2005 Analyse des ventes de médicaments aux officines et hopitaux en France 1993-2003. Afssaps (Agence française de

sécurité sanitaire des produits de santé) - Direction des Etudes Médico-Economiques et de l'Information Scientifique. 5ème édition. Saint-Denis: 116p.

Chapman PM, 2006 Emerging substances - Emerging problems? *Environ. Toxicol. Chem.*, Vol. 25, n° 6, pp. 1445-1447

Corkery, M (2007). Réacteurs Biologiques à membranes : 44 p.

URL: https://www.oieau.org/eaudoc/system/files/documents/42/210389/210389_doc.pdf.

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.

Daoud, Z., Farah, J., Sokhn, E. S., El Kfoury, K., Dahdouh, E., Masri, K., ... & Matar, G. M. (2018). Multidrug-resistant Enterobacteriaceae in Lebanese hospital wastewater: implication in the one health concept. *Microbial Drug Resistance*, 24(2), 166-174.

DOI : <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0090>

Debalke, D., Birhan, M., Kinubeh, A., & Yayeh, M. (2018). Assessments of Antibacterial Effects of Aqueous-Ethanollic Extracts of *Sida rhombifolia*'s Aerial Part. *The Scientific World Journal*, 2018.

Delgado, L. F. (2009). Bioréacteur à membrane externe pour le traitement d'effluents contenant des médicaments anticancéreux : élimination et influence du cyclophosphamide et de ses principaux métabolites sur le procédé (Doctoral dissertation).

Diwan, V., C. Stalsby Lundborg, and A.J. Tamhankar, Seasonal and temporal variation in release of antibiotics in hospital wastewater: estimation using continuous and grab sampling. *PLoS One*, 2013. 8(7) : p. e68715.

Edeline, F (1997). L'épuration biologique des eaux : théorie & technologie des réacteurs, CEBEDOC, Liège.

Ekhaise F.O., Omavwoya B.P., 2008. Influence of wastewater discharged from university of Benin reaching Hospital (UBTH), Benin City on its receiving environment. *American-Eurasian J. Agric and Environ. Sci.*, 4 (4): 484-488.

EL ALAMI, H. (2017). Les effluents liquides en milieu hospitalier: Cas de la station de décontamination du Centre de Virologie, des Maladies Infectieuses et Tropicales de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat.

EL HAIMER, F. Z. (2019). Stratégies de traitement antibiotiques des infections à bactéries multirésistantes (Doctoral dissertation).

El Morhit, M., (2017). Evaluation de la qualité du système de gestion des déchets hospitaliers pour réduire ses risques sur la santé communautaire «cas de l'hôpital Ibn Sina de Rabat» 184 p.

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.

FAGNIBO, H.F., (2012). Gestion des effluents domestiques en milieu hospitalier : cas du Centre National Hospitalier HKM de Cotonou 82 p.

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

Hauhna, L., Pachuau, L. and Lalhrualuanga, H. (2018) Isolation and Characterization of Multi-Drug Resistant Bacteria from Hospital Wastewater Sites around the City of Aizawl, Mizoram. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 9, 311-321. <https://doi.org/10.4236/abb.2018.97020>

Jantaporn, W. (2016). Technologies membranaires innovantes pour la réutilisation des eaux (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

Jeannette Munez-Aguayo, Kelvin S. Lang, Timothy M Lapara Gerald González and Randall S.Singer., 2007. Evaluating the Effect of Chlortetracycline on the proliferation of Antibiotic-resistant bacteria in a stimulated river water ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*. 73 (7): 5421- 5425.

Kheyar, L., Hamani, N., & Atmani, D. E. (2018). Activité inhibitrice de deux plantes médicinales locales sur la HMG-COA réductase.

KOUDOU, P. J. (2009). Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines (Doctoral dissertation, Université de Ouagadougou).

Laquaz, M., Dagot, C., Bazin, C., Bastide, T., Gaschet, M., Ploy, M. C., & Perrodin, Y. (2018). Ecotoxicity and antibiotic resistance of a mixture of hospital and urban sewage in a wastewater treatment plant. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(10), 9243-9253.

Laraba M., Serrat A., Ouassaa G., (2016). Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de Master : Toxicologie et Santé. Université des Frères Mentouri Constantine.

Lien, L. T. Q. (2018). Antibiotic resistance: Implications of hospital practices for public health: A study from Hanoi, Vietnam. *Inst för folkhälsovetenskap/Dept of Public Health Sciences*.

Lim SR, Schoenung JM. 2010. Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with flat panel displays. *Journal of Hazardous Materials*, 177: 251-259.

doi:10.1016/j.jhazmat.2009.12.025

Maiga, A., Nguessend, N. A., Dicko, O. A., Fofana, M., Maiga, I. I., Agbo, K. S. M., & Dosso, M. (2018). LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES DANS LES EFFLUENTS HOSPITALIERS DE BAMAKO (MALI). *Mali Médical*, 33(3).

Mater, N. (2014). Evaluation de l'impact (éco) toxicologique de résidus médicamenteux présents dans les effluents hospitaliers, urbains et dans l'environnement à l'aide d'une batterie de bioessais et de biomarqueurs (Doctoral dissertation, École Doctorale Sciences Écologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries (Toulouse) ; 154236330).

Mlaga, K. D., Salou, M., Dossim, S., Tigossou, S. D., Anago, A. E., Dagnra, A. Y., & Ambaliou, S. (2019). Antibiotic Resistance Profile and Molecular Characterization of *Escherichia coli* Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Isolated from Sylvanus Olympio Teaching Hospital in Lomé, Togo. *Journal of Advances in Microbiology*, 1-7.

Moghnieh, R., Araj, G. F., Awad, L., Daoud, Z., Mokhbat, J. E., Jisr, T., ... & Youssef, M. (2019). A compilation of antimicrobial susceptibility data from a network of 13 Lebanese hospitals reflecting the national situation during 2015–2016. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 41.

DOI : <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0487-5>

MOHAMMEDI, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie (Doctoral dissertation).

Nassar, R. (2014). Transformation de résidus de médicaments par chloration ou photoréaction en solution aqueuse (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux).

N. Ramdani, K. Benouis, A. Lousdad, A. Hamou and M. Y. Boufadi. Physicochemical and bacteriological characterization of hospital effluents and their impact on the environment. *Chemistry International* 4(2) (2018) 102-108.

Orias F, Perrodin Y (2013) Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: a review. *Sci Total Environ* 454:250–276. doi:[10.1016/j.scitotenv.2013.02.064](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.064)

Ouarda, Y., (2014). Le bioréacteur à membrane pour le traitement des eaux usées contaminées par le bisphénol A. (masters). Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, Québec.

Pauwels, B., Fru Ngwa, F., Deconinck, S., & Verstraete, W. (2006). Effluent quality of a conventional activated sludge and a membrane bioreactor system treating hospital wastewater. *Environmental technology*, 27(4), 395-402.

DOI: 10.1080/09593332708618651

Rodriguez-Mozaz, S, Lucas, D and Barceló, D (2017). Full-Scale Plants for Dedicated Treatment of Hospital Effluents. In: Verlicchi, P (ed.). *Hospital Wastewaters: Characteristics, Management, Treatment and Environmental Risks*, Springer International Publishing, Cham: pp 189–208, **DOI:** [10.1007/978-3-319-51131-1_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-51131-1_13).

Roussel AM, Favier-Hininger I. 2009. Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. *Endocrinologie-Nutrition*, 16p.

Santos, L. H., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Delerue-Matos, C., Pena, A., Barceló, D., & Montenegro, M. C. B. (2013). Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 461, 302-316. **DOI:** <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.077>

Séverin, M.M., (2013). Evaluation de la gestion des déchets liquides hospitaliers : cas des eaux usées du centre hospitalier universitaire de Yaounde 82 p.

Sylvie Baig, (2019). Types et configurations des réacteurs de boues activées [en ligne].

URL : <https://www.suezwaterhandbook.fr/procedes-et-technologies/procedes-biologiques/procedes-a-cultures-libres/types-et-configurations-des-reacteurs-de-boues-actives>.(Consulté le : 05.05.2019).

Tankari Dan-Badjo A, Tidjani DA, Idder T, Guero Y, Dan Lamso N, Matsallabi A, Ambouta JMK, Feidt C, Sterckeman T, Echevarria G. 2014. Diagnostic de la contamination des eaux par les éléments traces métalliques dans la zone aurifère de Komabangou – Tillabéri, Niger. *Int. J.Biol. Chem. Sci.*, **8**(6): 2849-2857. <http://ajol.info/index.php/ijbcs>

Timraz, K. H. H. (2016). *Removal Efficiency of Microbial Contaminants from Hospital Wastewaters* (Doctoral dissertation).

Toure, A., Garat, A., Diop, C., Cabral, M., Epote, M. J., Leroy, E., ... & Allorge, D. (2016). Présence de métaux lourds et de résidus médicamenteux dans les effluents des établissements de santé de Dakar (Sénégal). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *10*(3), 1422-1432.

Vandermeersch, S. (2006). Etude comparative de l'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des micro-organismes pathogènes. *Mémoire en Gestion de l'Environnement de l'Université Libre de Bruxelles*.

Vasquez, A. C. A. (2010). *Substances polymériques extracellulaires dans les procédés de traitement des eaux usées* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).

Verlicchi P, Al Aukidy M, Galletti A, Petrovic M, Barceló D (2012) Hospital effluent: investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. *Sci Total Environ* 430:109–118. doi:[10.1016/j.scitotenv.2012.04.055](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.055)

Verlicchi, P., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (2015). What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent?—An overview and a discussion on perspectives. *Science of the Total Environment*, 514, 467-491.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.020>

Yu, J. L., Li, Q., & Yan, S. C. (2013). Design and running for a hospital wastewater treatment project. In *Advanced Materials Research* (Vol. 777, pp. 356-359). Trans Tech Publications.

DOI: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.777.356>

Zaviska, F., Drogui, P., Mercier, G. & Blais, J. (2009). Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels : Application à la dégradation des polluants réfractaires. *Revue des sciences de l'eau*, 22, (4), 535–564.

DOI : <https://doi.org/10.7202/038330ar>

Annexes

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. Effectuée à partir d'un frottis ou un étalement.

Tableau 14: Coloration de Gram

Etapes	Mode opératoire	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'alcoolacétone sur la préparation, puis rincer à l'eau	1 min	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	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
Extraits de viande.....	3g/l
Lactose.....	10g/L
Pourpres de bromocresol.....	25mg
Agar.....	13g
pH =.7	

- **Milieu mannitol mobilité**

Hydrolysate trypsique de caséine.....	10g
mannitol.....	7,5g
Rouges 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	

- **Milieu Chapman**

Peptone.....	10,0g
Extraits de viande de bœuf.....	1,0g
Chlorure de sodium.....	75,0g

Mannitol.....	10,0g
Rouges de phénol.....	0,025g
Agar Agar.....	15,0g
Eau distillée.....	1L

pH = 7,4

- **Milieu mac Conkey**

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

pH = 7,1

- **Gélose au sang :**

Peptone.....	15 g
Digestat de foie.....	2,5 g
Extrait de levure.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	12 g
Eau distillée.....	1000 ml

Sang de cheval ou de mouton 05%

pH = 7,2

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 ₂ O.....	100ml

- **Réactif kovacs**

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

Alcool isoamylique..... 75 ml

Acide chlorhydrique pur.....25 ml

- **Réactif de Voges-Proskauer**

VP 1 (5 ml) composition :

KOH 40 g

H₂O 100 ml

VP 2 (5 ml) compositions :

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^E

Tableau 15: 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 ₁	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ 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 ₁	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
GEL ₁	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ /N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

Annexe 5 : API® Staph bio Mérieux® SA

Tableau 16: 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

Tableau 17: Antibiogramme

ATB souche	CTX	KZ	AMC	PRL	NO	FOX	PEF	SXT	AML	GEN	PA	C	P	OX	VA	DXT
S18	0,8	3,1	3	2,3	2,1	2,4	2	0	0	2,4	2	0	3,3	1,9	2,1	2,3
S3	3,4	2,2	2,5	1,9	2,6	2,1	1,8	2,3	0	2,2	2,4	1,3	0	0	0	1,8
S19	1,3	1,2	2	1,8	2	2	2,1	1,9	0	2,1	1,8	2,2	0,8	0	1,5	2,2
S22	3,4	1,9	3,5	0	2,6	3	3	0	0	2,4	2,7	2,8	/	/	/	/
S23	4,4	2,7	3	2,5	3,1	2,8	2,6	3,6	0	2,6	2,7	2,5	/	/	/	/
S13	3,6	0	2,3	2,8	3	1,8	2,5	2,9	0	2,5	2,7	2,8	/	/	/	/
S9	3,5	0	2,5	2,8	2,7	1,8	1,1	2,7	0	2,5	2,7	3	/	/	/	/
S7	1,8	0	2,3	2,4	1,2	0	1,7	0,8	0	2,3	2	1,3	/	/	/	/
S8	2,1	0	2,9	2,8	1,2	0	2,1	1	0	2,5	2,5	1,5	/	/	/	/
S6	1,9	0	2,5	2,9	1,1	0	1,9	1,3	0	2,4	2,3	1,5	/	/	/	/
S24	3,2	0	2,3	2,5	2,6	1,9	2,5	2,9	0	2,5	2,6	2,7	/	/	/	/
S11	4	0	2,8	3	3,1	2	3,2	3,1	0	1,2	2,8	3	/	/	/	/
S2	3,4	0	3	2,8	2,9	1,8	3	2,4	0	2,3	2,6	2,7	0,8	0	1,5	2,2
S14	3,6	0	3,1	3	3	2,8	3,1	2,9	0	2,8	3	3,2	/	/	/	/
S15	4	0	2,6	3,2	2,9	1,8	2,7	3,1	0	2,8	2,5	3	/	/	/	/
S4	1,8	1,5	2,3	2	2,1	2,3	1,9	0	0	2,6	1,6	2,1	/	/	/	/
S16	4	0	2,6	3,2	2,8	2	2,7	3	0	2,6	2,6	3	/	/	/	/
S12	4	0	3,1	2,8	3	2	2,2	2,2	0	2,5	2,8	3	/	/	/	/
S17	3,2	0,8	2,9	2,9	2,9	2,2	2,8	2,8	0	2,4	2,7	2,9	/	/	/	/
S5	1,2	0,9	2,1	1,7	1,9	2,1	1,8	1,6	0	2,2	1,4	1,7	/	/	/	/
S21	3,4	0	2,3	2,6	2,8	2	2,3	3	0	2,4	2,8	3	/	/	/	/
S20	2,1	0	2,5	2,4	1,2	0,8	1,8	1,2	0	2,3	2,2	1,1	/	/	/	/
S10	3,5	0	3,1	2,1	2,7	3,1	3,1	3,8	0	2,5	3	3	/	/	/	/

Résumé

Résumé

Les effluents générés par les activités hospitalières présentent un danger potentiel pour l'homme et son environnement. Cela, compte tenu de la nature des substances et des germes qu'ils contiennent. En Algérie, ces déchets liquides sont évacués vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable.

Ce travail porte sur la purification et l'identification des souches bactériennes isolées à partir des eaux usées hospitalières du CHU de Constantine, par les techniques bactériologiques conventionnelles, et évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques.

Les résultats des tests phénotypiques ont permis l'identification de vingt-quatre isolats : 54% sont des bacilles à Gram négatif, dont *E.coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter sp. Morganellamorganii.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas caviae*, *Burkholderia cepacia*. Cependant, les bacilles et les Cocci à Gram positif représentent 47% des isolats, dont quatre souches appartenant au genre *Staphylococcus* : *Staphylococcus cohnii sp. cohnii*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus capitis*, cinq souches appartenant au genre *Micrococcus*, et deux autres souches sont des bacillus. La plupart de ces bactéries sont multirésistantes aux différentes familles d'antibiotiques testés : amoxicilline, triméthoprime/sulfaméthoxazole, cefoxitine, chloramphénicol, doxycycline et céfazoline.

Il ressort de cette étude préliminaire que les effluents hospitaliers non traités renferment la plupart des bactéries pathogènes multirésistantes. Par conséquent, la problématique de ces eaux devient de plus en plus importante. Or, il est primordial de développer des outils de gestion et de décontamination des eaux usées de ces établissements avant leur raccordement aux réseaux d'assainissement urbains.

L'étude de l'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion a montré que les extraits de *Cynara cardunculus* à la concentration de 250mg/ml présentent l'activité antibactérienne la plus importante, vis-à-vis des deux isolats testés ; *Staphylococcus xylosus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstract

Effluents generated by hospital activities pose a potential hazard to humans and their environment. This takes into account the nature of the substances and the germs they contain. In Algeria, these liquid wastes are disposed of in the communal sewage system without prior treatment.

This work involves the purification and identification of bacterial strains isolated from hospital wastewaters of Constantine's UHC by conventional bacteriological techniques and the evaluation of their susceptibility to antibiotics.

Twenty-four isolates were identified using phenotypic tests: 54% were Gram-negative bacteria, including *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter sp.*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas caviae*, *Burkholderia cepacia*. However, Gram-positive bacilli and Cocci accounted for 47% of the isolates, including four *Staphylococcus* strains: *Staphylococcus cohnii sp. cohnii*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus capitis*, five *Micrococcus* strains, and two other strains were *Bacillus*. Most of these bacteria are multi-resistant to the different families of antibiotics tested: amoxicillin, trimethoprim/sulfamethoxazol, cefoxitin, chloramphenicol, doxycyclin, and cefazolin.

This preliminary study indicates that untreated hospital effluents contain most of the multidrug-resistant pathogenic bacteria. As a result, the issue of these waters is becoming increasingly important. It is essential to develop tools for managing and decontaminating wastewater from these facilities before it is connected to urban wastewater systems.

The study of antibacterial activity tested by the diffusion method showed that extracts of *Cynara cardunculus* at a concentration of 250mg/ml had the greatest antibacterial activity against the two isolates tested; *Staphylococcus xylosus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

ملخص

تمثل النفايات السائلة الناتجة عن أنشطة المستشفى خطراً محتملاً على الإنسان وبيئته. هذا، بالنظر إلى طبيعة المواد والجراثيم التي تحتوي عليها. في الجزائر، يتم نقل هذه النفايات السائلة إلى شبكة الصرف الصحي دون معالجة مسبقة يركز هذا العمل على تنقية وتحديد السلالات البكتيرية المعزولة من مياه الصرف الصحي في المستشفى الجامعي بقسنطينة، باستخدام التقنيات البكتريولوجية التقليدية، وتقييم مدى حساسيتها للمضادات الحيوية

سمحت نتائج الاختبارات المظهرية بتحديد أربع وعشرين عزلة: 54 % من العصيات سلبية الجرام، بما في ذلك

E. coli، *Serratia marcescens*، *Enterobacter sp.*، *Morganella morganii*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Aeromonas caviae*، *Burkholderia cepacia*.

ومع ذلك، فإن العصيات والبكتيريا الكروية موجبة الجرام تمثل 47 % من العزلات، بما في ذلك أربع سلالات تنتمي إلى جنس المكورات العنقودية.

Staphylococcus cohnii ssp cohnii و *Staphylococcus xylosus* و *Staphylococcus capitis*

وخمس سلالات تنتمي إلى جنس المكورات العنقودية

Micrococcus

واثنان من السلالات الأخرى يمثلان العصيات. معظم هذه البكتيريا مقاومة للأدوية المختلفة للعائلات المختلفة من المضادات الحيوية التي تم اختبارها: الأموكسيسيلين، تريميثوبريم / سلفاميثوكسازول، سيفوكسيتين، كلورامفينيكول، الدوكسيسيكليين والسيفازولين.

توضح هذه الدراسة الأولية أن النفايات السائلة في المستشفى غير المعالجة تحتوي على معظم البكتيريا المقاومة للأدوية. لذلك، فإن مشكلة هذه المياه تصبح أكثر وأكثر أهمية. ومع ذلك، من الضروري تطوير أدوات إدارة مياه الصرف الصحي بالمستشفيات. وإزالة التلوث لهذه المنشآت قبل توصيلها بأنظمة الصرف الصحي الحضرية.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا التي تم اختبارها بواسطة طريقة الانتشار أن مستخلصات

Cynara cardunculus

بتركيز 250 ملغ / مل لديها أعلى نشاط مضاد للجراثيم، فيما يتعلق بالعزلتين المختبرتين؛ المكورات العنقودية

Staphylococcus xylosus و *Pseudomonas aeruginosa*.

IDENTIFICATION DE 24 SOUCHES BACTÉRIENNES ISOLÉES À PARTIR DES EFFLUENTS HOSPITALIERS DU CHU CONSTANTINE, ET ESSAI DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES EXTRAITS DE *CYNARA CARDUNCULUS* SUR DEUX DE CES ISOLATS.

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

Les effluents générés par les activités hospitalières présentent un danger potentiel pour l'homme et son environnement. Cela, compte tenu de la nature des substances et des germes qu'ils contiennent. En Algérie, ces déchets liquides sont évacués vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable.

Ce travail porte sur la purification et l'identification des souches bactériennes isolées à partir des eaux usées hospitalières du CHU de Constantine, par les techniques bactériologiques conventionnelles, et évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques.

Les résultats des tests phénotypiques ont permis l'identification de vingt-quatre isolats : 54% sont des bacilles à Gram négatif, dont *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter* sp. *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas caviae*, *Burkholderia cepacia*. Cependant, les bacilles et les Cocci à Gram positif représentent 47% des isolats, dont quatre souches appartenant au genre *Staphylococcus* : *Staphylococcus cohnii* sp. *cohnii*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus capitis*, cinq souches appartenant au genre *Micrococcus*, et deux autres souches sont des bacillus. La plupart de ces bactéries sont multirésistantes aux différentes familles d'antibiotiques testés : amoxicilline, triméthoprim/ sulfaméthoxazole, cefoxitine, chloramphénicol, doxycycline et céfazoline.

Il ressort de cette étude préliminaire que les effluents hospitaliers non traités renferment la plupart des bactéries pathogènes multirésistantes. Par conséquent, la problématique de ces eaux devient de plus en plus importante. Or, il est primordial de développer des outils de gestion et de décontamination des eaux usées de ces établissements avant leur raccordement aux réseaux d'assainissement urbains.

L'étude de l'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion a montré que les extraits de *Cynara cardunculus* à la concentration de 250mg /ml présentent l'activité antibactérienne la plus importante, vis-à-vis des deux isolats testés ; *Staphylococcus xylosus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés : effluents hospitaliers, CHU Constantine, activité antibactérienne, multirésistance, prétraitement.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Microbiologie N°9

Date de soutenance : 15/07/2019