

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Badji Mokhtar –Annaba University
Université Badji-Mokhtar- Annaba



جامعة باجي مختار- عنابة

Faculté des sciences

2004/ 2005

Département de Biochimie

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en
Microbiologie appliquée

Analyse microbiologique des eaux des plages de la ville de Annaba

Evaluation de la résistance aux antibiotiques des
microorganismes pathogènes

Option

Microbiologie de l'environnement

Par

Mme MECHAI Née DEBABZA MANEL

DIRECTEUR DE MEMOIRE :

D^r ABDI AKILA : Chargée de cours, Université de Annaba

Devant le Jury

PRESIDENT : M^{me} Chettibi H. Maître de conférence (Université de Annaba)
EXAMINATEURS : M^r Merad T. Maître de conférence (Université de Annaba)
M^{me} Aabbaci N. Maître de conférence (Université de Annaba)

Session : 2005

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu qui nous a donné l'esprit, la volonté, le courage et le savoir.

*Je tiens à exprimer mes respectueux remerciements et toute ma gratitude à **Dr ABDI Akila**, mon promoteur pour la confiance et la bienveillance qu'elle m'a témoignée et dont la disponibilité et l'indulgence m'ont permis de mener à bien cette étude.*

*Je remercie vivement **Dr CHETTIBI H.** d'avoir accepté de présider le jury et également **Dr Abbaci N.** et **Dr MERAD T.** pour l'honneur qu'ils m'ont rendu, en examinant mon travail.*

*Mes remerciement cordiaux à **M^r ATAILIA A/Elmadjid** responsable du laboratoire d'hygiène au centre de santé de Annaba qui m'a beaucoup approvisionné en milieux et réactifs nécessaires et m'a donné la chance de travailler au cours de la période estivale. J'oublie pas de remercier également **M^r REDJAM** responsable du laboratoire d'analyses au même centre de santé pour son aide inestimable.*

*Mes vifs remerciements vont à **M^r ZOUAI A.** responsable du laboratoire d'analyses à l'hôpital **HOUARI BOUMEDIANE** de Sedrata qui n'a cessé de m'aider par tous les moyens.*

*Aussi, je remercie le personnel des laboratoires de microbiologie et de biochimie : **Sakina, Saïda, Honaïda** et **Nassira** qui m'ont beaucoup facilité la réalisation de ce travail.*

Mes remerciements à mes collègues pour leur collaboration, leurs encouragements et la sympathie qu'ils m'ont toujours témoigné.

Enfin, je remercie toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec joie et honneur, je dédie ce mémoire :

A ma mère, symbole d'amour et de don

A mon père, que Dieu le protège

A mes frères : Salim, Tarek et Mehdi

A mon très cher marie Basset qui n'a cessé de m'encourager et de me guider

A mes sœurs : Khadra et Souad

A mon beau-frère Hakim pour son soutien

*A ma deuxième famille : Ami ElArbi, Khedija, Souad, Fahima ,
Radia et les petits Nor El Isslam et Aniss pour tout l'amour que
j'ai senti avec eux*

A toutes mes amies

A mes collègues de PG : Amel, Nadjet, Farah, Leila et Lilia

A tous ceux que j'aime

SOMMAIRE

Introduction

Première partie : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les eaux de mer	01
1. La mer réservoir d'eau douce	01
2. Faune et flore marines	01
2.1. Phytoplancton	01
2.2. Zooplancton	01
3. Flore microbienne de l'eau de mer	01
II. Pollution marine	02
1. Définition de la pollution de l'eau	02
2. Sources de la pollution marine	02
2.1. Rejets d'effluents urbains	03
2.1.1. Eaux usées domestiques	03
2.1.2. Eaux usées industrielles	03
2.2. Eaux usées pluviales	03
2.3. Eaux usées d'origine agricole	03
2.4. Effluents des établissements hospitaliers	03
3. Les types de pollution	04
3.1. Pollution physique	04
3.2. Pollution chimique	05
3.3. Pollution microbienne	05
4. Effets de la pollution de l'eau	06
III. Équilibre biologique et pouvoir auto-épurateur de la mer	06
1. La dispersion bactérienne en mer	06
2. Le pouvoir auto-épurateur de l'eau de mer	08
IV. Survie des microorganismes dans l'eau	11
1. Facteurs influençant la mortalité des microorganismes	11
2. Survie des bactéries	12
3. Survie des virus et des protozoaires	12
V. Infections d'origine hydrique	14
1. Principaux risques sanitaires liés à la baignade dans l'eau de mer	17
2. Pathologie associée aux produits de la mer	17
VI. Les bactéries pathogènes	18
1. <i>Escherichia coli</i>	18

2. <i>Salmonella</i>	20
3. <i>Shigella</i>	22
4. <i>Yersinia enterocolitica</i>	23
5. <i>Vibrio</i>	24
6. <i>Aeromonas hydrophila</i>	26
7. <i>Campylobacter jejuni</i>	27
8. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
9. <i>Staphylococcus aureus</i>	30
VII. Affections fongiques (mycoses) et agents responsables	31
1. Les mycoses cutanées	31
2. Les candidoses	32
VIII. Caractères biochimiques des bactéries responsables d'infections d'origine hydrique	32
1. Les bactéries à Gram négatif	32
2. Les bactéries à Gram positif	32
IX. Contrôle de qualité des eaux de baignade	36
1. Fondement de l'utilisation des microorganismes indicateurs	36
2. Caractéristiques d'un bon indicateur de contamination	36
3. Microorganismes indicateurs spécifiques de pollution fécale	37
3.1. Les coliformes totaux	37
3.2. Les coliformes fécaux (coliformes thermotolérants)	39
3.3. <i>Escherichia coli</i>	39
3.4. Les streptocoques fécaux	40
4. Microorganismes indicateurs, non réellement spécifiques de pollution fécale	41
4.1. Les bactéries aérobies revivifiables (germes totaux)	41
4.2. Les <i>Clostridium</i> sulfite-réducteurs	41
5. Autres indicateurs proposés	42
6. Microorganismes pathogènes	42
7. Critères d'évaluation de la qualité de l'eau	42
8. Normes de qualité requise pour les eaux de baignade : réglementation française	43
9. Classement sanitaire des eaux de baignade	43
X. La résistance aux antibiotiques	46
1. Quelques facteurs favorisants	46
2. Les types de résistance	46
3. Les phénotypes de résistance	46
4. Le support génétique de la résistance	47
5. Mécanismes de résistance	47
6. Diffusion épidémique de la résistance au sein du monde bactérien	48
7. Pathologie et bactéries résistantes aux antibiotiques	49
8. Les antibiotiques en milieu marin	50

Deuxième partie : ETUDE EXPERIMENTALE

Matériel et méthodes

I. Matériel	51
II. Méthodes	51
1. Prélèvement des échantillons	51
1.1. Sites de prélèvement	51
1.2. Volume et fréquence des prélèvements	53
1.3. Mode de prélèvement	53
1.4. Transport et conservation des échantillons	53
2. Mesure de pH des échantillons	54
3. Analyse microbiologique de l'eau de mer	54
3.1. Analyse quantitative	54
3.1.1. Dénombrement de la microflore aérobie mésophile totale (germes totaux)	54
3.1.2. Dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale	55
3.1.2.1. Dénombrement des coliformes totaux, et des coliformes fécaux	55
3.1.2.2. Dénombrement des streptocoques fécaux	57
3.1.2.3. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	58
3.2. Recherche des germes pathogènes	59
3.2.1. Recherche d' <i>Escherichia coli</i> pathogène	59
3.2.2. Recherche de <i>Salmonella</i> et de <i>Shigella</i>	69
3.2.3. Recherche du Vibron cholérique et des <i>Vibrio</i>	72
3.2.4. Recherche des staphylocoques pathogènes	73
3.2.5. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	76
3.2.6. Recherche de <i>Candida albicans</i> et des champignons	77
4. Sensibilité aux antibiotiques	78
4.1. Antibiogramme par méthode de diffusion en milieu gélosé	78
4.2. Antibiotiques utilisés	80
Résultats et discussion	
I. Analyse du paramètre de pH	82
II. Analyse microbiologique	84
1. Germes totaux	84
2. Bactéries indicatrices de contamination fécale	84
3. Le rapport CF/SF	85
4. Les <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	85
5. Classement des plages	89
6. Bactéries pathogènes	89
7. Levures et champignons	89
III. Isolement et identification des souches bactériennes	93
1. Examen macroscopique	93
2. Examen microscopique	93

3. Identification biochimique des souches isolées	93
3.1. Les souches appartenant à l'espèce <i>Escherichia coli</i>	93
3.2. Les souches appartenant au genre <i>Shigella</i>	93
3.3. Les souches appartenant au genre <i>Salmonella</i>	93
3.4. Les souches appartenant à l'espèce <i>Yersinia enterocolitica</i>	94
3.5. Les souches appartenant au genre <i>Vibrio</i>	94
3.6. Les souches appartenant à l'espèce <i>Aeromonas hydrophila</i>	94
3.7. Les souches appartenant au genre <i>Pseudomonas</i>	94
3.8. Les souches appartenant au genre <i>Staphylococcus</i>	94
IV. Identification des champignons et des levures	97
1. Identification des levures	97
2. Identification des champignons	97
V. Antibiogramme des différentes souches isolées	104
1. <i>E.coli</i>	104
2. <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>	111
3. <i>Vibrio</i>	111
4. <i>Staphylococcus</i>	117
5. <i>Yersinia enterocolitica</i>	127
6. <i>Pseudomonas</i>	127
7. <i>Aeromonas hydrophila</i>	127
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tab	Titres	Pages
01	Concentration de quelques micro-organismes dans les eaux usées urbaines	05
02	Survie de quelques bactéries rejetées dans l'eau de mer	09
03	Principales caractéristiques épidémiologiques de quelques agents pathogènes présents dans les excréta	13
04	Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau	15
05	Principaux risques sanitaires liés à la baignade	17
06	Bactéries pathogènes transmises par les produits de la mer	18
07	Propriétés des <i>E.coli</i> responsables de diarrhées	20
08	Facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
09	Tableau de différenciation des entérobactéries	33
10	Tableau de différenciation des bacilles Gram (-) non-entérobactéries	34
11	Tableau d'identification des staphylocoques	35
12	Classification des coliformes en hygiène et en santé publique	38
13	Normes physiques, chimiques, microbiologiques pour les eaux de baignade	44
14	Critères de classement sanitaire des eaux de baignade	45
15	Calendrier des différents prélèvements réalisés	53
16	Lecture sur la gélose S-S	71
17	Lecture sur la gélose Hektoen	71
18	Liste des antibiotiques utilisés pour les bactéries à Gram (-)	80
19	Liste des antibiotiques utilisés pour les staphylocoques	81
20	Valeurs de pH obtenues au niveau des différents sites étudiés	82
21	Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de <i>Joinoville</i>	86
22	Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de <i>Saint-Cloud 01</i>	86
23	Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de <i>Saint-Cloud 02</i>	86
24	Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de <i>Chappuis</i>	86
25	Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de <i>Belvedere</i>	86
26	Valeurs mensuelles, trimestrielles, et annuelles des rapports CF/SF, et sources probables de contamination	88
27	Classement des plages étudiées selon les paramètres analysés	90
28	Résultats de la recherche des bactéries pathogènes au niveau des différents sites	91
29	Résultats de la recherche des levures et des champignons au niveau des différents sites	92
30	Résultats des tests biochimiques des bactéries bacilles Gram négatif isolées	96
31	Résultats d'identification des bactéries bacilles Gram négatif isolées	97
32	Résultats des tests d'identification des staphylocoques isolés	98
33	Résultats d'identification des staphylocoques isolés	99
34	Résultats des tests d'identification des <i>Candida</i>	100
35	Aspect macroscopique de quelques espèces fongiques	100
36	Résultats de l'antibiogramme des souches d' <i>E.coli</i> isolées	105
37	Modèles de multirésistance des souches d' <i>E.coli</i>	106
38	Résultats de l'antibiogramme des souches de <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i> isolées	112
39	Résultats de l'antibiogramme des souches de <i>Vibrio</i> isolées	112
40	Résultats de l'antibiogramme des souches de <i>Staphylococcus</i> isolées	120
41	Résultats de l'antibiogramme des souches isolées appartenant aux genres: <i>Yersinia</i> , <i>Pseudomonas</i> et <i>Aeromonas</i>	127

Liste des figures

Fig	Titres	Pages
01	Disparition des bactéries telluriques des eaux d'égout après leur rejet en mer	08
02	Diffusion plasmidique au sein de divers groupes bactériens	49
03	Localisation géographique des sites de prélèvements sur la cote de la ville d'Annaba	52
04	Evolution mensuelle du pH au niveau des différents sites	83
05	Présentation graphique des résultats quantitatifs de l'analyse bactériologique au niveau des différents sites étudiés	87
06	Représentation graphique des profils des souches d' <i>E.coli</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés	107
07	Représentation graphique des profils des souches de <i>Staphylococcus</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés	121

Liste des planches

Pla	Titres	Pages
01	L'antibiogramme obtenu par un extrait de Diatomée sur une culture bactérienne (<i>Staphylococcus aureus</i>)	11
02	<i>Aspergillus niger</i>	101
03	<i>Aspergillus flavus</i>	101
04	<i>Aspergillus fumigatus</i>	101
05	<i>Trichophyton erinacei</i>	102
06	<i>Trichophyton violaceum</i>	102
07	<i>Microsporum canis</i>	103
08	<i>Chrysosporium</i>	103
09	Antibiogramme de la souche <i>E. coli</i> E 1.6	108
10	Antibiogramme de la souche <i>E. coli</i> E 1.4	108
11	Antibiogramme de la souche <i>E. coli</i> E 4.2	109
12	Antibiogramme de la souche <i>E. coli</i> E 2.1	109
13	Antibiogramme de la souche <i>E. coli</i> E 5.3	110
14	Antibiogramme de la souche <i>Salmonella</i> spp <i>Sal</i> 1.2	113
15	Antibiogramme de la souche <i>Salmonella arizonae</i> <i>Sal</i> 3	113
16	Antibiogramme de la souche <i>Vibrio cholerae</i> V.c 3.1	114
17	Antibiogramme de la souche <i>Vibrio cholerae</i> V.c 4	115
18	Antibiogramme de la souche <i>Vibrio parahaemolyticus</i> V.p 4	115
19	Antibiogramme de la souche <i>Vibrio parahaemolyticus</i> V.p 5.1	116
20	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> St 10	122
21	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> St 11	122
22	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> St 02	123
23	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus epidermidis</i> St 06	123
24	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus saprophyticus</i> St 04	124
25	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus haemolyticus</i> St 05	124
26	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus hominis</i> St 14	125
27	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus xylosus</i> St 19	125
28	Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus capitis</i> St 03	126
29	Antibiogramme de la souche <i>Yersinia enterocolitica</i> Y.e 5.2	128
30	Antibiogramme de la souche <i>Aeromonas hydrophila</i> A.h 05	128

Liste des abréviations

B.R.A :	Bactéries résistantes aux antibiotiques
D.B.B.C :	Déchets de bétail ou de basse-cour
D.H :	Déchets humains
D.H.A :	Déchets humains et animaux
ECEH :	<i>E.coli</i> entérohémorragiques
ECEI :	<i>E.coli</i> entéroinvasives
ECEP :	<i>E.coli</i> entéro-pathogènes
ECET :	<i>E.coli</i> entérotoxiques
G.E.I :	Gastro-entérites infantiles
HAV :	Hépatite A virus
HEV :	Hépatite E virus
KTG :	Kanamycine-tobramycine-gentamycine
Md :	Mégadaltons
n.m :	Nanomètre
N.P.P :	Nombre le plus probable
N.P.P.U.C :	Nombre probable d'unité cytopathogène
O.M.S :	Organisation mondiale de santé
O.R.L :	Oto-rhino-laryngologiste
SHU :	Syndrome hémolytique urémique
SLT :	Toxine Shiga-like
S.P.C :	Sources probables de contamination
TAB :	<i>Salmonella typhi, paratyhi A et B</i>
TIAC :	Toxi-infection alimentaire collective
U.F.C :	Unité formant colonie
U.F.P :	Unité formant plages
VTEC :	<i>E.coli</i> producteurs de virotoxines

INTRODUCTION

L'eau constitue un élément essentiel dans la vie et l'activité humaine. C'est une composante majeure du monde minéral et organique. Actuellement, l'eau participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles ce qui la rend un élément récepteur exposé à tous les genres de pollution. Dès lors, l'eau sera considérée comme un transporteur potentiel de maladies [01].

Depuis quelques dizaines d'années, l'humanité se trouve devant une explosion démographique, une expansion industrielle et une croissance alarmante de la pollution des eaux. Par conséquent, les causes de pollution se sont étendues et sont devenues plus en plus massives et plus variées [02].

Les eaux marines peuvent être particulièrement soumises à des pollutions chimiques et microbiennes apportées par les eaux douces superficielles. Les apports de microorganismes pathogènes dans le milieu marin sont dus à des rejets de stations d'épuration et des apports diffus par les eaux de ruissellement, dans les régions d'élevage intensifs. Au développement accéléré des loisirs et en particulier des baignades en mer, correspond un accroissement des risques infectieux [03].

Si la fréquentation des plages est devenue un besoin social de plus en plus impérieux de détente, de récupération et de bien être et si elle présente d'indéniables avantages pour la santé physique et mentale, il faut prévenir les risques multiples que celle ci peut engendrer.

Dans cette intention notre travail s'est porté sur l'analyse microbiologique des eaux des plages de la ville de Annaba dans le but d'estimer le degré de pollution microbienne. Les causes possibles de pollution seront discutées sur la base des critères environnementaux cernant chaque site.

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie (département de biochimie- Université d'Annaba) et du laboratoire d'hygiène (centre de santé d'Annaba).

Le contrôle bactériologique réalisé dans ce contexte, porte sur la quantification des germes indicateurs de contamination fécale : les coliformes et les streptocoques fécaux. D'autres indicateurs non spécifiques ont été utilisés comme complémentaires : les germes totaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs.

L'analyse bactériologique effectuée implique aussi la recherche de certains germes pathogènes : *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Pseudomonas aeruginosa* et les staphylocoques. La recherche des ces bactéries a été choisie dans les limites des milieux et des produits disponibles. En outre, nous avons recherché des levures : *Candida albicans*, et des champignons dont certains sont responsables de dermatoses.

Par ailleurs, nous avons testé plusieurs antibiotiques sur les bactéries isolées en se basant sur leur spectre d'action et leur utilisation thérapeutique. L'objectif de cette étape est d'évaluer le degré de dissémination de la résistance aux antibiotiques dans le milieu marin et son impact sur l'efficacité du traitement par les antibiotiques des maladies à transmission hydrique.

I. Généralités sur les eaux de mer

1. La mer réservoir d'eau douce :

L'incapacité des ressources naturelles à contenter les besoins croissants en eau douce a depuis quelques années, conduit les spécialistes de ces questions, obtenir l'eau douce à partir d'eau de mer ou saumâtre. Les usines de dessalement d'eau de mer existent et permettent d'extraire de la mer quelques millions de m³ d'eau douce par jour.

2. Faune et flore marines :

2.1. Phytoplancton :

Les principaux constituants sont :

- Diatomées
- Chrysophycées
- Xanthophycées d'où la couleur verte de l'eau
- Péridiniens ou Dinoflagellés
- Flagellés calcaires
- Flagellés silicieux (sillicoflagellés)

2.2. Zooplancton :

- Foraminifères : des protozoaires formant appartenant aux rhizopodes.
- Radiolaires
- Tintinides
- Crustacés (Cadi-podes, Cladocères, Ostracodes, Amphipodes, Ephausiacés)
- Mollusques
- Cœlentérés
- Tuniciers
- Vermidiens

3. Flore microbienne de l'eau de mer :

Les microorganismes rencontrés dans l'eau de mer sont de trois types : des germes typiquement aquatiques, des germes telluriques et des germes de contamination humaine ou animale.

Les germes typiquement aquatiques : sont des algues microscopiques et des bactéries. Les bactéries appartiennent le plus souvent aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Spirillum*, *Crenothrix*, *Sphaerotilus*, *Galionella*, etc. Les algues sont de type eucaryote ou procaryote (cyanobactéries) : quelques-unes sont toxigènes mais elles sont rares et cette toxicité a peu ou pas d'incidence sur la qualité de l'eau.

Les germes telluriques : rencontrés dans l'eau sont des bactéries sporulées (*Bacillus*, *Clostridium*) ou appartenant au genre *Streptomyces* et quelquefois des spores fongiques.

Les germes de contamination humaine ou animale : les contaminations microbiennes sont liées, aux végétaux, aux animaux et humains (baignade, contamination fécale, industries biologiques). La contamination fécale peut être animale (poissons et autres) ou humaine (par l'intermédiaire de rejets).

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chez l'homme prédominent les coliformes fécaux ou thermotolérants: de 10^8 à 10^{10} germes /g dont, au départ, 80 à 90% d' *Escherichia coli*, dont le nombre relatif décroît rapidement par rapport aux coliformes. On rencontre ensuite des entérocoques (10^7 à 10^9 germes/g), d'autres bactéries (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, etc), des virus (10^2 à 10^3 germes/g ; parfois jusqu'à 10^6 germes/g). On trouve aussi des bactéries sporulées anaérobies (*Clostridium perfringens*).

Une contamination microbienne industrielle peut être directe, liée au rejet des levures et bactéries lactiques (industries de fermentations alimentaires) ou indirecte : flores associées aux rejets sucrés, amylacés (industries alimentaires), protéiques (abattoirs), divers (papeterie, tannerie, etc.)

Les germes de pollution fécale humaine ou animale sont très fréquents et souvent pathogènes. Il s'agit d'Entérobactéries (*Escherichia coli*, coliformes, *Salmonella*, *Shigella*), de streptocoques fécaux, de *Clostridium perfringens*, de virus, etc. On peut également rencontrer dans l'eau, surtout sous climat tropical, mais parfois aussi en climat tempéré, des protozoaires et autres parasites animaux. Dans le cas d'eaux conditionnées, on peut rencontrer des contaminations par *Pseudomonas aeruginosa*.

La contamination par les germes pathogènes est souvent une contamination de la nappe. Cependant il peut arriver qu'elle soit due à une détérioration des installations et des infiltrations dans celles-ci, d'eaux souillées.

En définitive, bien que la majorité des germes rencontrés couramment dans l'eau soit des germes banaux mésophiles peu dangereux, les problèmes microbiologiques posés sont essentiellement des problèmes sanitaires dus à des germes pathogènes souvent en quantité limitée [04].

II. Pollution marine :

L'eau est l'élément autour duquel se maintient et se développe la vie. L'humanité se trouve depuis quelques années devant une explosion démographique, une expansion industrielle et une croissance alarmante de la pollution des eaux [05].

1. Définition de la pollution de l'eau :

La pollution comprend toute nuisance apportée à un écosystème qu'elle soit une modification chimique, physique ou biologique de la qualité de l'eau. C'est la contamination de l'eau par les corps et substances étrangers tels que des micro-organismes, des produits chimiques, des déchets industriels ou autres ; dues à des déversements, écoulements, rejets, dépôts directs ou indirects de matières de toute nature et, plus généralement, tout à fait susceptible de provoquer ou d'accroître la dégradation des eaux en modifiant leurs caractéristiques, chimiques, biologiques ou bactériologiques [06,07,08].

2. Sources de la pollution marine :

Il n'y a pas pollution d'un milieu sans souillure et dégradation de celui-ci. Qui dit pollution marine pense obligatoirement à une altération de la qualité du milieu marin, le plus vaste des écosystèmes de la biosphère [09].

2.1. Rejets d'effluents urbains :

Ces rejets sont de deux origines : origine domestique et origine industrielle.

2.1.1. Eaux usées domestiques :

Elles sont essentiellement porteuses de pollution organique, qui peut être de deux types:

- eaux ménagères : qui ont pour origines salles de bains et cuisines, chargées de détergents, graisses et solvants ainsi que de débris organiques.
- eaux de vannes : ce sont les rejets de toilettes riches en diverses matières organiques azotées, germes fécaux, germes pathogènes, virus, et parasites [08,10,11].

Dans une étude de rejets d'une agglomération, il a été montré que le déversement d'effluents urbains à raison de seulement 7,5 m³/sec a suffit à dégrader voir à détruire totalement le peuplement sous-marin sur plus d'une centaine d'hectares jusqu'à une profondeur de 40 m [12].

2.1.2. Eaux usées industrielles :

En plus des matières organiques azotées ou phosphorés, elles contiennent également des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures. Elles ne doivent être mêlées aux eaux usées domestiques que si elles ne présentent pas de danger pour les réseaux de collecte [08].

2.2. Eaux usées pluviales :

Pendant les périodes orageuses, elles peuvent constituer une importante source de pollution des cours d'eau. Quand l'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles) ou quand, pendant son ruissellement, elle se contamine par des résidus: huiles de vidanges, carburants dans le périmètre urbain, et engrais et pesticides en zones rurales [08].

2.3. Eaux usées d'origine agricole :

Les engrais, indispensables à l'agriculture moderne, modifient la faune et la flore naturelle des cours d'eau et la composition chimique des eaux souterraines(ruissellement et lessivage par les eaux naturelles). Ces engrais sont composés de nitrates, phosphores, insecticides et herbicides chlorés et phosphorés, détergents, mouillants et matières organiques fermentescibles [13,14].

2.4. Effluents des établissements hospitaliers : [15]

Les effluents hospitaliers ont une qualité proche des eaux usées domestiques avec un volume supérieur. Les effluents générés par l'activité hospitalière peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement compte tenu de la nature et de l'importance des substances spécifiques qu'ils contiennent(résidus médicamenteux, réactifs chimiques, antiseptiques, détergents, révélateurs et fixateurs de radiographies...) et en raison de leur évacuation, au même titre que les rejets urbains classiques, vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable.

Il existe plusieurs types de rejets hospitaliers :

❖ **Rejets de nature domestiques :**

Il s'agit des prélèvements et rejets destinés exclusivement à satisfaire les besoins des personnes physiques. Dans cette catégorie, on trouve : les rejets des cuisines, les rejets des produits détergents, les rejets des garages et ateliers, ceux de la blanchisserie, de la chaufferie et de la climatisation.

❖ **Rejets de nature spécifique à l'hôpital ou à certains soins :**

▪ **Rejets de nature spécifique à l'hôpital :**

Ces rejets spécifiques communs aux différents services de soins sont les produits désinfectants et antiseptiques, les rejets de germes pathogènes, les médicaments et les métaux lourds (mercure, argent).

En ce qui concerne les désinfectants et les antiseptiques, les produits les plus utilisés sont principalement des dérivés chlorés, les produits contenant des aldéhydes (glutaraldéhyde : molécule toxique pour l'homme et l'environnement), la bétadine...

En effet, les rejets médicamenteux émis après métabolisation par les patients représentent une quantité importante.

L'hôpital rejette également des germes pathogènes issus des personnes malades qui peuvent se retrouver dans les eaux des vannes en ayant développé une résistance aux antibiotiques. La flore hospitalière est composée de la flore des malades et des germes de l'environnement. Ainsi les germes pathogènes que l'on trouve dans les eaux usées hospitalières peuvent être :

-des bactéries présentes dans les selles ou les urines (*Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, Coliformes, entérobactéries, streptocoques...) ou des bactéries responsables d'infections nosocomiales (Staphylocoques, Streptocoques, *Pseudomonas aeruginosa*...). Toutes ces bactéries sont dangereuses car elles acquièrent une résistance aux antibiotiques.

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

-des parasites (amibes, *Taenia*, *Ascaris*...) et des champignons.

▪ **Rejets spécifiques à certains soins :**

Certains services nécessitent l'utilisation de certains produits toxiques. C'est le cas de : l'hémodialyse qui rejette des toxines et des produits chimiques, du service de médecine nucléaire qui génère des effluents radioactifs, des laboratoires et de la pharmacie dont la possibilité d'évacuation de certains produits dangereux dans le réseau d'égout.

3. Les types de pollution :

3.1. Pollution physique :

Elle peut être thermique, radioactive ou due au transport de matières en suspension. Ces dernières créent la turbidité qui donne à l'eau un aspect peu agréable, causent des dommages aux poissons et freinent le développement des organismes photosynthétiques. Les pollutions radioactives et thermiques proviennent quant à elles du rejet de radio-isotopes ou d'eaux chaudes ayant servi au refroidissement des centrales électriques et nucléaires. Les conséquences directes de ce rejet, est l'élévation de la température des eaux naturelles, ce qui modifie le taux d'oxygène,

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

augmente l'activité cellulaire et la respiration de la biocénose, diminue la diversité du phytoplancton et peut provoquer la prolifération d'espèces thermophiles [10,16,17].

3.2. Pollution chimique :

Les polluants chimiques sont nombreux et d'origines diverses : déchets industriels minéraux et organiques. Ils peuvent être dégradables (substances dont la nature est modifiée ou la quantité réduite par des phénomènes biologiques, chimiques ou physiques) ou non dégradables (ne sont pas modifiés par les processus biologiques qui se déroulent dans les eaux naturelles) [17]. Ce sont les engrais agricoles, les pesticides, les composés organochlorés, les hydrocarbures, les détergents. Certains éléments toxiques (plomb, arsenic, mercure...) dits bio-accumulables, peuvent, à travers la chaîne alimentaire depuis le plancton, atteindre l'Homme, et provoquent des altérations graves de certains organes [05,14,16,18,19,20,21].

3.3. Pollution microbienne :

La pollution microbienne est principalement liée aux eaux usées urbaines. Ces dernières sont très chargées en coliformes, bactéries pathogènes, virus et parasites (Tableau 01) [06,22,23].

Le réservoir majeur des bactéries responsables des maladies à transmission hydrique se trouve être l'appareil digestif de l'Homme et des animaux. L'élimination de ces bactéries par les matières fécales contamine les égouts urbains, les eaux résiduaires hospitalières et les eaux de surface [19].

Tableau (01): Concentration de quelques micro-organismes dans les eaux usées urbaines [23]

Microorganismes	Concentrations
<i>Escherichia coli</i>	2.10 ⁸ germes /litre [24]
	10 ⁸ -10 ⁹ germes /litre [25]
	10 ⁷ germes /litre
<i>Streptococcus faecalis</i>	10 ⁷ germes /litre [24]
	10 ⁷ -10 ⁸ germes /litre [25]
	10 ⁷ germes /litre [26]
<i>Salmonella</i> (1700 types sérologiques)	250 germes /litre [27]
	200 à 16.10 ⁴ germes /litre [28]
	20 à 10.10 ⁴ germes /litre [29]
<i>Mycobacterium</i> (au moins 80 sérotypes)	10 ⁵ à 10 ⁶ germes /litre [30]
	1,5.10 ⁶ germes /litre [31]
Entérovirus (plus de 100 sérotypes)	38 à 466 NPPUC/litre [32]
	80 à 2000 NPPUC/litre [33]
	15 à 160 U.F.P/litre [34]
<i>Giardia lamblia</i> (kystes) Helminthes (œufs) Bactériophages	8.10 ⁴ germes /litre [35]
	30 germes /litre [31]
	3.10 ³ à 10 ⁶ germes /litre [36]

NPPUC : nombre le plus probable d'unités cytopathogènes

UFP : unités formant plages

4. Effets de la pollution de l'eau :

Parmi les principaux effets de la pollution de l'eau, on cite :

- La dégradation de la qualité de l'eau en la rendant impropre aux usages souhaités.
- Les maladies à transmission hydrique.
- La destruction des organes bienfaisants et le bouleversement du processus d'auto-épuration et éventuellement la modification de façon défavorable du milieu vivant [37,38].

Dans le même contexte, on peut citer le phénomène d'eutrophisation. C'est une fertilisation excessive des eaux due à un apport massif de composés azotés et phosphorés provenant de l'activité agricole et des rejets domestiques et industriels. Ces composés favorisent le développement des micro-algues (phytoplanctons) et des macro-algues qui constituent le premier maillon de la quasi-totalité des chaînes alimentaires. L'eutrophisation induit un dysfonctionnement de l'écosystème, elle conduit à son asphyxie par épuisement des réserves d'oxygène [12,38,39].

III. Équilibre biologique et pouvoir auto-épurateur de la mer : [40]

La stabilité biologique du milieu marin, en dépit des rejets continus en son sein des eaux résiduaires riches en bactéries telluriques et en dépit des populations souvent très denses qui, depuis des millénaires, entourent certaines mers comme la Méditerranée, pose un problème d'un extrême intérêt. Ce phénomène repose sur une qualité spécifique du milieu marin que l'on a qualifié de capacité d'auto-épuration. On va aborder le comportement des bactéries telluriques entraînées dans le milieu marin et les mécanismes connus qui en limitent l'extension et la prolifération.

1. La dispersion bactérienne en mer :

En ce qui concerne le phénomène bactériologique, c'est-à-dire l'agent bactérien responsable de la pollution, il faut savoir que les bactéries, au cours de leur vie et tout au long du chemin qui les mène vers la mer, se sont fixées sur les particules en suspension, minérales ou organiques. Ainsi, ces particules qui les transportent ont un avenir différent selon leur dimension. Les études faites dans ce domaine montrent que les grosses particules, surtout celles d'un poids spécifique élevé, ont une tendance progressive à la sédimentation, alors que les particules de faible dimension (inférieures à 20 microns) suivent la destinée de la diffusion turbulente des eaux et, de ce fait, sont entraînées dans les couches océaniques superficielles. La majeure partie de la charge bactérienne des eaux résiduaires, soit environ 98,5%, suit les particules de faible dimension. Ainsi, c'est en surface et au large des émissaires que l'on retrouvera la plupart des bactéries rejetées, alors que, sur le fond adjacent, la charge bactérienne sera d'extension relativement plus faible.

Ces eaux polluées, de densité plus faible, vont dériver à la surface de la mer ; et c'est là que les mécanismes de dispersion des bactéries vont intervenir. Progressivement vont s'établir une lente diffusion et une dilution des eaux usées dans la masse marine. De nombreux auteurs ont pu étudier ces phénomènes d'une manière relativement précise par des méthodes de marquage colorés ou grâce à l'emploi de corps radioactifs de vie plus ou moins courte (Brome 82, Iode 131). Ils ont pu aussi mesurer la dilution de ces eaux, à des distances plus ou moins grandes à la sortie de l'émissaire et en tirer les lois mathématiques sur la dispersion des eaux résiduaires en mer. Mais quand on fait ces mesures d'ordre physique ou chimique, on se rend compte que, contrairement à ce que l'on pourrait croire, le nombre de bactéries initiales se trouvant dans l'eau d'égout, qui est en moyenne voisin de 2 à 3 millions de micro-organismes par millilitre, diminue beaucoup plus vite que ne le laissent présager les phénomènes de dilution (Figure 01).

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Des formules mathématiques assez complexes permettent de prévoir, en fonction de la distance, de la vitesse des courants (c'est-à-dire du temps pendant lequel ces bactéries vont être soumises au contact du milieu marin), la charge bactérienne des eaux de mer en tenant compte également de la qualité des bactéries, plus ou moins sensibles à ces actions auto-épuratrices. Elles ont permis, à partir de très nombreuses mesures physiques et bactériologiques, de préparer l'implantation de nombreux points de rejets d'eaux résiduaires en mer, dans le but de les rendre non polluants pour les rivages adjacents. En effet, on peut trouver des points de rejets où les eaux polluées ont la possibilité d'avoir une extension en mer suffisante pour que l'action auto-épuratrice joue avant qu'elles ne soient ramenées vers les zones littorales.

L'ensemble des études relatives à la disparition des bactéries telluriques des eaux d'égout après leur rejet en mer met en évidence une différence constante entre la diminution réelle du nombre de ces germes et celle qui pourrait être normalement prévue par les simples phénomènes de dilution. Le graphique montre les résultats obtenus par trois auteurs, dans des conditions expérimentales différentes: J. BONDE, dans le cas d'un rejet en Baltique, B. KETCHUM pour un rejet en estuaire (Raritan River, U.S.A.), et M. AUBERT pour l'émissaire d'eaux usées de Nice. L'intervalle AB matérialise le pouvoir auto-épurateur propre à l'eau de mer.

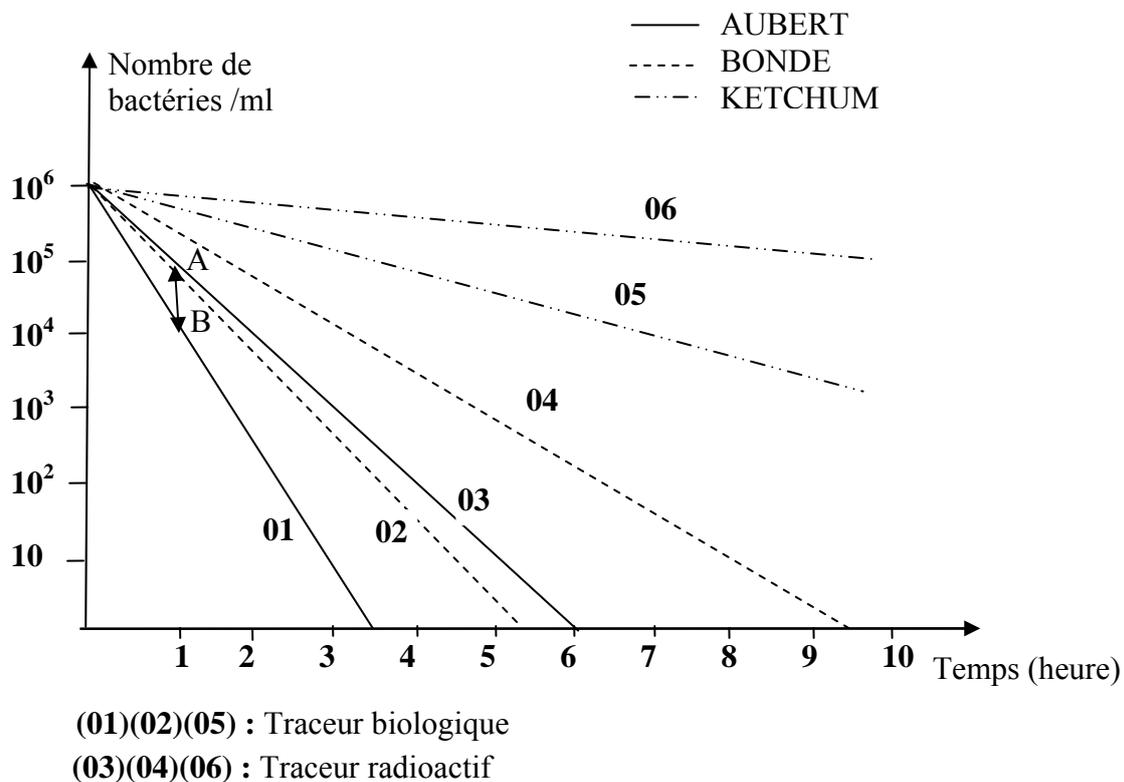


Figure (01) : Disparition des bactéries telluriques des eaux d'égout après leur rejet en mer [40]

2. Le pouvoir auto-épurateur de l'eau de mer :

De nombreux auteurs ont étudié la survie des bactéries terrestres, et plus particulièrement celle des germes entériques présents dans les eaux d'égout, dans l'eau de mer naturelle. Cette survie, très courte en eau de mer fraîche, est considérablement augmentée dans la même eau après autoclavage ou simple filtration. Cette observation a conduit les recherches vers l'étude des facteurs d'origine biologique pouvant être responsables de l'auto-épurateur de l'eau de mer.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Considérons maintenant les phénomènes qui vont se développer vis-à-vis des micro-organismes exogènes au cours de leur dérive dans les eaux marines. Pour l'immense majorité des cas, l'expérience montre qu'ils y sont détruits après des temps de survie plus ou moins courts (Tableau 02). Cette rapide décroissance n'est cependant pas totale, car il existe des formes microbiennes résistantes mais celles-ci ne représentent qu'un faible pourcentage. Ainsi Zobell indique que 99,9% des bactéries des eaux usées meurent en 48 heures dans l'eau de mer, le reste survivant plus d'un mois.

Il est classique de décrire ainsi, la courbe de mortalité et de survie des germes des eaux résiduaires. D'abord, une phase de repos, au cours de laquelle la population reste sensiblement constante. Sa durée est très variable suivant les germes. Ensuite, apparaît une phase de décroissance qui suit une courbe logarithmique au cours de laquelle la population subit une rapide diminution. Puis, vient la phase de résistance que l'on voit s'amorcer à la fin de la phase de décroissance et les cellules bactériennes résistantes commencent à se multiplier.

Des études mathématiques ont permis d'exprimer sous forme de formules chiffrées l'évolution des populations bactériennes des eaux résiduaires mises en contact avec de l'eau de mer. Il semble d'ailleurs que les bactéries ne soient pas seules à subir ces effets antagonistes, les virus également y sont sensibles. Cette résistance est d'ailleurs inversement proportionnelle à la concentration initiale. Elle évolue parallèlement à l'abaissement de la température ainsi qu'à l'addition d'eaux d'égout.

Cette action due à l'eau de mer, n'est pratiquement valable qu'à la condition que l'eau de mer soit fraîchement prélevée et n'ait pas subi de traitement, en particulier, de chauffage.

Les résultats des expérimentations montrés dans le tableau ci-dessous nous amènent aux conclusions suivantes :

- ↔ L'activité antibactérienne de l'eau de mer s'effectue sur les bactéries pathogènes d'origine entérique des égouts; elle diminue si l'eau de mer est filtrée; elle disparaît si l'eau de mer est autoclavée; elle est pratiquement nulle si l'eau de mer est vieillie.
- ↔ Ils confirment donc la présence d'un facteur antibactérien dans l'eau de mer naturelle, thermolabile et sensible au vieillissement.
- ↔ Ce pouvoir auto-épurateur varie dans le temps et dans l'espace et que son intensité d'action n'est pas constante. Elle dépend des phénomènes biologiques qui les conditionnent.

Le milieu marin est donc loin de représenter un milieu favorable aux micro-organismes terrigènes. C'est un milieu de température basse, auquel il manque un taux de matières organiques suffisant pour le développement microbien, encore que, près des égouts, l'apport en substances azotées ne soit pas négligeable. Certains auteurs ont pensé que des facteurs comme la salinité ou les taux de métaux lourds dissous (Cu, Zn, Co, Ni, Pb, Hg) avaient une influence entravante pour la multiplication des agents bactériens. En réalité, les quantités de métaux dissous dans l'eau de mer sont bien au-dessous des seuils limitants et la salinité ne joue pas un rôle important, car on connaît beaucoup de bactéries qui peuvent être cultivées dans des milieux hypersalés, ces espèces halophiles ou halotolérantes ayant par ailleurs des temps de survie particulièrement courts en eau de mer fraîche (*Staphylococcus aureus*).

Ce sont donc surtout des phénomènes d'ordre biologique qui interviennent dans cette auto-épurateur, et non pas des phénomènes simplement chimiques.

En effet, à côté des phénomènes de défense passive du milieu, il existe des phénomènes actifs, intervenant directement contre les bactéries rejetées dans la mer. Ces phénomènes se différencient selon l'endroit où se produisent ces attaques contre les bactéries rejetées.

Tableau (02) : Survie de quelques bactéries rejetées dans l'eau de mer [40]

Auteurs	Date	Eau de mer		Cond. d'Exp.	Germe	Taux de mortalité
		Source	Traitement			
De Glaxa	1889	Baie de Naples	Naturelle	Lab.	<i>E. typhosa</i>	Disparit. en 9 j
		"	Stérilisée	"	"	Disparit. en 25 j
		"	Naturelle	"	<i>Vibrio comma</i>	Disparit. en 4 j
		"	Stérilisée	"	"	Disparit. en 36 j
Burdoni	1894	—	—	—	<i>E. typhosa</i>	Disparit. en 14 j
Soper	1909	—	—	—	<i>E. typhosa</i>	Disp. en 2-3 sem.
Trawinski	1929	—	—	—	Typhoïde	Disp. en 12-16 h
		—	—	—	Dysenterie	Disp. en 12-16 h
		—	—	—	Paratyphoïde	Disparit. en 21 j
Kiribayashi et Aida . .	1934	Port de Kellung	Naturelle	Océ.	<i>Vibrio comma</i>	Disparit. en 10 j
Beard, Meadowcroft . .	1935	B. San Francisco	Naturelle	Océ.	<i>E. typhosa</i>	95 % en 24 h
		"	Filtrée	—	"	90 % en 2 j
		"	Naturelle	—	<i>E. coli</i>	90 % en 3,5 j
		"	Filtrée	—	"	90 % en 4,6 j
Zobell	1936	Pacifique	Naturelle	Océ.	B. eaux d'égout	97 % en 2 h
		"	—	"	"	99 % en 2 j
		"	Filtrée	"	"	81 % en 2 h
		"	Autoclavée	"	"	64 % en 2 h
Carpenter	1938	—	—	—	B. eaux d'égout	80 % en 1/2 h
Weston et Edwards . .	1949	Port de Boston	Naturelle	Lab.	B. eaux d'égout	40 à 56 % en 4 h
		"	"	"	Coliformes	90 % en 4 h
Départ. Santé Publique Californie	1942	B. Santa Monica	Naturelle	Lab.	Coliforme	97 à 99 % en 24 h
Vaccaro, Briggs	1943	Vineyard Sound	Naturelle	Lab.	<i>E. coli</i>	90 % en 24 h été
Ketchum	1949	"	"	"	"	90 % en 4 j hiver
		"	Autoclavée	"	"	90 % en 22 j
Williams	1950	Puget Sound	Naturelle	"	<i>E. coli</i>	90 % en 1 à 2 j
Orlob	1951	Pacifique	Naturelle	"	Coliformes	76 % en 2 j
Tanon	1952	Méditerranée	Naturelle	"	B. eaux d'égouts	Destruction
Heim de Balzac		"	Autoclavée	"	"	Prolifération
Buttiaux et Leurs . . .	1953	Manche	Naturelle	"	Samonelles	38 à 47 % en 44 h
Nusbaum et Carver . .	1955	Baie de San Diego	Naturelle	"	Coliformes	90 % en 1,5 j
		"	Autoclavée	"	"	0 % en 8 j
Gevaudan et Tamalet .	1957	B. Marseille	Naturelle	"	<i>E. coli</i>	90 % en 24 h
		"	Autoclavée	"	"	75 % en 24 h
		"	Naturelle	"	<i>S. typh.</i>	86 % en 2 j
		"	Autoclavée	"	"	85 % en 2 j
Aubert et Lebout . . .	1962	Baie de Nice	Naturelle	"	B. eaux d'égout	83 % en 72 h
		"	Autoclavée	"	"	Proliférat. en 24 h
Pramer, Carlucci et Scarpino	1963	Atlantique	Naturelle	"	<i>E. coli</i>	94 % en 48 h
		"	Filtrée	"	"	85 % en 48 h
		"	Autoclavée	"	"	53 % en 48 h
Saz, Watson et coll. . .	1963	Vineyard Sound	Naturelle	"	<i>Staph. aureus</i>	99 % en 24 h
		"	Inactive	"	"	0 % de mortalité

Pour simplifier le problème, on doit considérer trois zones :

- **la zone d'estuaire** : c'est la zone même du rejet du fleuve ou de l'égout ;
- **la zone benthique** : c'est la zone du fond marin où ont été englouties les bactéries rattachées aux particules qui ont sédimenté ;
- **la zone pélagique** : c'est la zone qui s'étend vers la pleine mer où vont dériver les eaux superficielles.

A chacune de ces zones correspondent des mécanismes spécifiques où l'auto-épuration s'élabore d'une manière particulière :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

◆ **Dans la zone d'estuaire**, proche de l'arrivée des eaux d'égouts, le taux bactérien est élevé : une ville de 300 000 habitants rejette environ $1,5\text{m}^3$ d'eaux résiduaires par seconde, donc chaque centimètre cube contient en moyenne 2 à 3 millions de germes bactériens. Dans cette zone d'estuaire, divers mécanismes auto-épurgateurs apparaissent, relevant de l'action de microprédateurs tels que les bactériophages ou les *Bdellovibrio bacteriovorus*. Des études ont montré que ces bactéries parasitent les germes entériques habituels dans l'eau d'égout et les font éclater. Ces phénomènes sont très actifs et importants dans la zone d'estuaire. De plus, il existe des macroprédateurs, des animaux pluricellulaires, qui se nourrissent directement des bactéries rejetées.

◆ **Dans la zone benthique**, qui comprend la couche sédimentaire et la strate aqueuse qui la recouvre, on voit jouer un double phénomène: l'action antagoniste des bactéries spécifiquement marines et l'activité antiseptique des sécrétions algacées. Les bactéries marines sont en effet très nombreuses dans la couche sédimentaire benthique, où elles atteignent couramment des concentrations de 10^8 à 10^9 cellules/g de boue. Elles y trouvent une richesse en matières organiques qui favorise leur développement ; elles y jouent le rôle que les bactéries du sol jouent au niveau des terres émergées et sont à l'origine des cycles de la matière.

Des travaux ont permis de déterminer certains mécanismes biologiques qui sont à la base de cette action antagoniste. Ils nous ont conduit à considérer que la destruction des antagonismes interspécifiques existant au sein des populations indigènes et qui s'exercent d'une manière particulièrement intense vis-à-vis des germes terrestres « étrangers », dont la compétitivité est très faible par rapport à celle des micro-organismes adaptés au milieu marin. De tels antagonismes s'exercent en fait par l'intermédiaire de substances chimiques antibiotiques ou enzymatiques. D'autre part, dans cette zone benthique, existent des algues qui tapissent le fond de la mer ; or, ces végétaux rejettent dans le milieu environnant des substances qui ont une action fortement antibactérienne : ce sont en particulier des phénols, des tanins, divers dérivés terpénoïdes et certaines substances de dégradation des chlorophylles.

Ainsi donc, dans cette zone benthique, on trouve d'une part un mécanisme de type antibiotique dû aux bactéries spécifiquement marines et d'autre part un mécanisme de type antiseptique dû aux algues.

◆ **Au niveau de l'immense domaine pélagique**, où est rejetée la majeure partie des bactéries entraînées dans les couches d'eaux superficielles et véhiculées par les courants, les mécanismes d'auto-épuration sont vraisemblablement plus complexes. On retrouve, les actions prédatrices dues aux petits crustacés planctoniques, mais c'est par ailleurs dans cette zone pélagique que se trouve la plus grande partie de la biomasse phytoplanctonique. Il a été montré que le phytoplancton, ou du moins certaines espèces, libère dans l'eau de mer des substances qui ont une action antibactérienne et qui achèvent de détruire la plus grande partie des bactéries qui diffusent dans ces zones pélagiques. Il s'agit là surtout de micro-algues appartenant essentiellement à la classe des Diatomées et à celle des Chrysophycées. La nature chimique de certaines de ces substances a pu être déterminée : il s'agit d'un acide gras en C_{20} , et d'un arabinosyl-nucléoside dans le cas d'une Diatomée très abondante, *Asterionella japonica* (Planche 01) et de l'acide acrylique naissant chez une Chrysophycée commune dans les eaux froides polaires, *Phaeocystis pouchettii*.

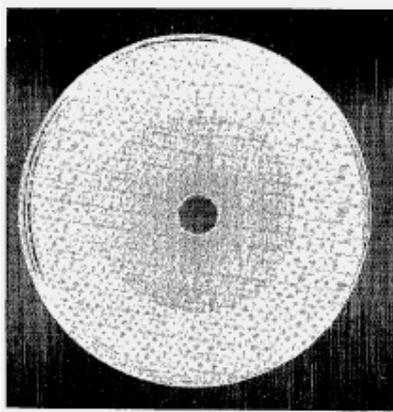
Il a été montré que la proximité d'une espèce de Péridinien *Prorocentrum micans* et d'une espèce de Diatomée antibiotico-productrice *Asterionella japonica*, arrête la synthèse de la substance antibiotique sécrétée par cette Diatomée, en bloquant ainsi l'action antibactérienne. Le télémédiateur excrété dans le milieu par le Péridinien et agissant à distance était une protéine qui se retrouve dans les cellules de *Prorocentrum micans* et dans le milieu où il a vécu. Cette action spécifique s'effectue ainsi par un processus biologique à trois étapes, dont chaque étape a pu être

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

précisée et chimiquement identifiée. Ce processus fait donc apparaître l'existence de télémediateurs de type secondaire, d'action indirecte.

Ainsi, au lieu d'un blocage arrêtant la sécrétion d'antibiotique par la Diatomée, une action d'un médiateur qui provoque au contraire l'induction de cette synthèse a été mise en évidence. En effet, pour que la synthèse de l'antibiotique soit réalisée par la Diatomée, il est nécessaire que dans l'eau de mer où vivent ces Diatomées existent certaines substances qui sont des nucléoprotéines.

D'autres rapports entre bactéries telluriques et bactéries marines ont été démontrés. En effet, il est apparu que les bactéries marines (*Chromobacterium* et *Pseudomonas*) qui produisent des substances antagonistes de certaines bactéries telluriques, peuvent être amenées à arrêter cette sécrétion par la présence d'autres bactéries marines d'espèces différentes (*Achromobacter*, *Flavobacterium*). Il nous apparaît donc que, comme pour l'action antibactérienne des Diatomées la présence de phénomènes d'induction de cette sécrétion peut-être réalisée par l'action de télémediateurs issus d'autres bactéries marines d'espèces également différentes.



L'antibiogramme, permet de mettre en évidence que certaines espèces du phytoplancton libèrent des substances qui possèdent une action antibiotique. Lorsqu'une culture bactérienne est mise en présence de ces substances, elle ne se développe plus et on obtient un antibiogramme qui montre la zone d'inhibition du développement de la bactérie à l'endroit où l'on avait déposé la substance supposée antibactérienne.

Planche (01) : L'antibiogramme obtenu par un extrait de Diatomée sur une culture bactérienne (*Staphylococcus aureus*) [40]

Ainsi, dans l'ensemble du milieu marin, s'établit un certain nombre de dispositifs qui, par le jeu alterné de différents facteurs antagonistes spécifiques, règlent d'une manière constante la pollution bactérienne d'origine terrestre. Cette notion d'équilibre biologique constamment rattrapé constitue un des éléments de base les plus importants du milieu marin : sa stabilité.

IV. Survie des microorganismes dans l'eau :

1. Facteurs influençant la mortalité des microorganismes :

L'eau est un milieu hostile pour la plupart des microorganismes pathogènes. Après leur introduction, ceux-ci vont disparaître à des vitesses variables selon leur nature et leurs propriétés. Ce sont surtout les pathogènes de l'intestin qu'il paraît opportun de considérer puisque les contaminations sont en effet pour la plupart d'origine fécale. Dans l'environnement, les bactéries sont fréquemment soumises à des agressions, à des atteintes, à des stress qui les rendent incapables de se multiplier sur un milieu habituellement favorable.

Ces agressions physiques (température, radiations, pression...) ou chimiques (pH, antiseptiques, antibiotiques...) produisent des altérations cellulaires ou moléculaires, structurales ou fonctionnelles qui ne sont pas nécessairement fatales, car, le plus souvent, réparables dans certaines conditions. On les qualifie d'agressions subléthales. Ces bactéries, impuissantes à se multiplier,

possèdent pourtant toutes leurs capacités, tout leur potentiel enzymatique en particulier ; on dit souvent qu'elles sont viables c'est à dire aptes à vivre et à croître.

La mortalité des bactéries pathogènes est influencée par les facteurs environnementaux :

- Le taux de mortalité augmente avec la température. Il est donc plus élevé en été qu'en hiver à cause de la température mais aussi du fait de l'action du rayonnement solaire.
- Il est bien connu également que les valeurs de pH comprise entre 6 et 8 sont les plus favorables à la survie ; les fortes acidités ou alcalinités sont nuisibles ; les modifications subites de pH, au dessus ou en dessous de la neutralité, accélèrent la vitesse de la mortalité d'une façon considérable.
- L'aérobiose serait aussi plus favorable à la survie que l'anaérobiose.
- Le rôle des facteurs nutritionnels est complexe : un taux de substances nutritives élevé, comme celui qui se présente dans les effluents d'eaux usées ou dans les suspensions de matières fécales, peut prolonger la survie ou même favoriser la croissance bactérienne. D'un autre point de vue, ces constituants peuvent favoriser la croissance des prédateurs bactériens. En présence d'un taux faible de substances on observe habituellement une réduction substantielle des bactéries [23,41].

2. Survie des bactéries :

La survie des microorganismes varie selon qu'il s'agit d'une bactérie, d'un virus ou d'un protozoaire. Il n'est pas toujours simple de faire la part de ce qui revient aux propriétés de résistance propres des microorganismes ou aux facteurs environnementaux. En ce qui concerne les bactéries, on admet par exemple, que les *Salmonella* sont particulièrement résistantes [42]. De toutes les bactéries pathogènes, *Yersinia enterocolitica* aurait la plus grande aptitude à survivre. Cette espèce a la particularité remarquable d'être pathogène pour l'homme et de se multiplier pourtant à des températures basses à + 4°C ce qui pourrait expliquer sa grande stabilité dans les milieux hydriques. Les *E.coli* entéropathogènes ont un faible taux de survie (environ 10 jours) très inférieur à celui des *E.coli* non pathogènes (environ 60 jours) [23,41]. D'une manière générale, les bactéries du système intestinal ne survivent généralement pas dans le milieu aquatique. Elles sont soumises à un stress physiologique et perdent graduellement la capacité de se multiplier sur des milieux différentiels et sélectifs. Ces coliformes stressés peuvent être revivifiés avant qu'ils ne soient identifiés [01].

3. Survie des virus et des protozoaires :

Dans les milieux hydriques, les virus sont évidemment incapables de se multiplier ; ils vont donc tendre à disparaître sous l'effet des facteurs physico-chimiques et biologiques. La température aurait un rôle déterminant ; les basses températures favorisent la survie, les températures élevées au contraire inactivent les virus. Le pH alcalin, dû aux composés ammoniacaux favorise également l'inactivation. Plus l'eau est pure et exempte de matière organique, plus la survie serait longue ; c'est dans l'eau distillée ou désionisée que la persistance serait la plus durable.

Les protozoaires, sous leurs formes kystiques, sont doués d'une résistance exceptionnelle, plus élevée que celle des virus et des bactéries. Les kystes de *Giardia* ne peuvent être détruits par la chloration usuelle et leur élimination ne peut être obtenue qu'après des traitements de coagulation, de sédimentation et de filtration [23,41].

Tableau (03) : Principales caractéristiques épidémiologiques de quelques agents pathogènes présents dans les excréta [04]

Agents pathogènes	Concentration dans les excréta ^(a)	(b) Latence	(c) Persistance	Multiplication en dehors de l'hôte humain	Dose infectieuse médiane (ID ₅₀) ^(d)	Réservoir important autre que l'homme	Hôte intermédiaire
Bactéries							
<i>Campylobacter jejuni</i>	10 ⁷	0	7 jours	Oui ^(f)	E (?)	Oui	Aucun
<i>Escherichia coli</i> ^(e)	10 ⁸	0	3 mois	Oui	E	Non (?)	Aucun
<i>Salmonella</i>							
<i>S. typhi</i>	10 ⁸	0	2 mois	Oui ^(f)	E	Non	Aucun
Autres salmonelles	10 ⁸	0	3 mois	Oui ^(f)	E	Oui	Aucun
<i>Shigella spp</i>	10 ⁷	0	1 mois	Oui ^(f)	M	Non	Aucun
<i>Vibrio cholerae</i>	10 ⁷	0	1 mois (?)	Oui	E	Non	Aucun
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10 ⁵	0	3 mois	Oui	E (?)	Oui	Aucun
<i>Leptospira spp</i>	urine (?)	0	7 jours	Non	F	Oui	Aucun
Virus							
Entérovirus ^(g)	10 ⁷	0	3 mois	Non	F	Non	Aucun
Virus de l'hépatite A	10 ⁶ (?)	0		Non	F (?)	Non	Aucun
Rotavirus	10 ⁶ (?)	0		Non	F (?)	Non (?)	Aucun
Helminthes							
<i>Ascaris lumbricoides</i>	10 ⁴	10 jours	1 an	Non	F	Non	Aucun
<i>Ankylostome</i> ^(h)	10 ²	7 jours	3 mois	Non	F	Non	Aucun
<i>Taenia saginata</i> et <i>Taenia soliste</i> ⁽ⁱ⁾	10 ⁴	2 mois	9 mois	Non	F	Non	Bœuf (<i>T.saginata</i>) ou porc (<i>T.solium</i>)
<i>Schistosoma</i>							
<i>S.haematobium</i> ⁽ⁱ⁾	4 /ml d'urine	5 semaines	2 jours	Oui ^(k)	F	Non	Mollusque
<i>S.japonicum</i> ⁽ⁱ⁾	40	7 semaines	2 jours	Oui ^(k)	F	Oui	Mollusque
<i>S.mansoni</i> ⁽ⁱ⁾	40	4 semaines	2 jours	Oui ^(k)	F	Non	Mollusque
Protozoaires							
<i>Entamoeba histolytica</i>	10 ⁵	0	25 jours	Non	F	Non	Aucun
<i>Giardia lamblia</i>	10 ⁵	0	25 jours	Non	F	Oui	Aucun

- (a) F= faible ($<10^2$) ; M= moyenne (de l'ordre de 10^4) ; E= élevée ($>10^6$) ; ? = incertaine.
- (b) Nombre moyen type d'organisme par gramme de matières fécales (sauf pour les espèces *Schistosoma haematobium* et *Leptospira*, qui se trouve dans l'urine).
- (c) Laps (intervalle) de temps minimal type entre l'excrétion et l'infectivité.
- (d) Durée maximale estimative de la phase infectieuse à 20-30°C.
- (e) Y compris le *E.coli* entérotoxigènes, entéroinvasifs et entéropathogènes.
- (f) La multiplication a lieu principalement sur les aliments.
- (g) Y compris le poliovirus, l'échovirus et les coxsackies
- (h) *Ancylostoma duodenale* et *Necator americanus*.
- (i) La latence correspond à l'intervalle entre l'excrétion par l'homme et la réinfection possible de l'homme. La persistance désigne ici le temps de survie maximale au stade infectieux final. Le cycle de vie suppose un hôte intermédiaire.
- (j) Latence et persistance comme pour l'espèce Taenia. Le cycle de vie suppose deux hôtes intermédiaires.
- (k) La multiplication a eu lieu dans le mollusque qui sert d'hôte intermédiaire.

V. Infections d'origine hydrique :

Au cours du 19^e siècle, les maladies d'origine hydrique ont été responsables dans le monde de vastes épidémies de dysentéries, fièvre typhoïde, choléra...etc. Aujourd'hui, l'**O.M.S** considère que la mauvaise qualité microbiologique des eaux consommées reste la première cause des problèmes de santé [43,44,45,46].

Les maladies d'origine hydrique sont le plus souvent transmises par voie féco-orale et la contamination de l'homme se réalise alors soit par consommation d'aliments contaminés par l'eau, soit lors d'un bain ou d'un contact avec des eaux à usage récréatif [45]. Ces maladies sont généralement liées à la présence de bactéries strictement pathogènes ou opportunistes. Des protozoaires, des parasites et des virus sont également impliqués. Il faut signaler aussi que des intoxications peuvent être liées à la présence d'algues eucaryotes ou de cyanobactéries [06,47].

Toutefois les maladies à transmission hydrique recouvrent un large éventail de manifestations pathologiques d'origine bactérienne, parasitaire ou virale détaillées dans le tableau 04.

Les progrès scientifiques associées aux progrès de l'hygiène collective et individuelle, au développement des techniques de production d'eau potable et à des contrôles stricts des eaux destinées à la consommation humaine ont permis l'éradication presque complète dans le monde occidental des plus graves de ces maladies, qui continuent à constituer un fléau dans certains pays en voie de développement [45].

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau(04) : Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau [03,04]

classification	microorganisme	pathologie	Origine de contamination
Bactéries	<i>Aeromonas spp</i>	GE et syndromes cholériques	I
	<i>Campylobacter jejuni/</i> <i>Campylobacter coli</i>	GE	I
	<i>Clostridium perfringens</i>	GE	I
	<i>E.coli</i> entéropathogènes, entérototoxiques, entéroinvasives	GE et syndromes cholériformes	I
	<i>Legionella pneumophila</i>	Pneumopathie ,fièvre	Inhalation d'aérosols
	<i>Leptospira spp</i>	Leptospiroses ictérohémorragiques	C (baignade,eaux,aliments)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infections cutanées, suppuratives,ou éruptives Surinfections ,pneumopathies	C
	<i>Salmonella</i> typhiques et paratyphiques	Fièvres typhoïdes	I (eaux,coquillages)
	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Salmonella enteridis</i>	GE Infections systémiques	I
	<i>Shigella dysenteriae</i>	GE et dysentérie	I
	<i>Shigella sp</i>	GE	C (baignades)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Infections cutanées suppuratives	C
	<i>Vibrio cholerae ;Vibrio spp</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	GE et cholera infections cutanées GE	I (eaux,coquillages) Coquillages,poissons
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	GE	I
Virus	Adénovirus	GE Pharyngite,conjonctivite	I C,piscines
	Entérovirus	Poliomyélite,affections neurologiques,respiratoires,cutanées,musculaires et cardiaques	I
	Hépatite A virus(HAV) Hépatite E virus(HEV)	Hépatites	I (eaux,coquillages)
	Papilloma virus	verrues	C (en piscine)
	Rotavirus	GE	I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Suite du tableau (04)

classification	microorganisme	pathologie	Origine de contamination
Protozoaires	Amibes : <i>Naegleria, Entamoeba , Acanthamoeba, Balantidium</i>	Amibiase kératite	I (kystes) C
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	GE	I
	<i>Giardia lamblia, Giardia intestinalis</i>	GE giardiase	I (kystes)
Helminthes	Anguillules	anguillulose	C (baignades en piscine) I
	<i>Ankylostoma duodenale Ankylostoma brasiliensis</i>	Ankylostomiase	C (larves)
	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascarirose	I (larves)
	<i>Schistosoma</i>	Bilharziose	C (voie transcutanée)
	<i>Taenia saginata Taenia solium</i>	Teniasus	I irrigation par eaux usées
Fungi	<i>Candida albicans</i>	Candidose	C(baignades en mer, piscines)
	Dermatophytes : <i>Trichophyton, Microsporium Trichosporium</i>	Mycoses cutanées	C(eaux de mer, sables)

I : contamination par ingestion d'eau

C : contamination par contact avec l'eau contaminée

GE : gastro-entérites (se traduisant par douleurs abdominales, diarrhées, vomissements, fièvre, à des degrés divers)

spp : diverses espèces

1. Principaux risques sanitaires liés à la baignade dans l'eau de mer :

Si la baignade constitue une activité de loisirs qui permet détente et exercices physiques bénéfiques pour la santé, elle peut néanmoins présenter certains risques. Ces derniers sont liés soit à la qualité de l'eau soit aux activités associées à la baignade (Tableau 05) [03,48].

Les eaux utilisées à des fins récréatives peuvent être contaminées par le contact direct avec l'être humain et par les polluants provenant de sources extérieures (eaux usées, eaux de pluie et eaux de ruissellement d'origine agricole) [49].

Par ailleurs de nombreuses études épidémiologiques récentes montrent que la baignade dans une eau polluée augmente de façon significative les risques de maladies gastro-intestinales et des maladies de l'appareil respiratoire supérieur [49,50,51,52,53,54].

Tableau (05) : Principaux risques sanitaires liés à la baignade [48]

Risque	Cause
Risque liés à la qualité de l'eau : <ul style="list-style-type: none">- Dermatitis (inflammation de la peau)- Infections bénignes (cercaires)- Gastro-entérites- Infections O.R.L- Leptospiroses	Eaux contaminées
Dangers liés à la baignade ou aux activités associées : <ul style="list-style-type: none">- Plaies- Dermatitis mycosiques (affections de la peau provoquées par des champignons)- Toxi-infection	Contact avec le sable Coquillages

2. Pathologie associée aux produits de la mer :

Les fruits de la mer concentrent les bactéries et les virus d'un facteur 10 à 100 par rapport à la concentration dans l'eau de mer [50]. Les huîtres interviennent surtout dans la transmission des fièvres typhoïdes, paratyphoïdes, de l'hépatite virale. Les moules ont été responsables de nombreuses épidémies de fièvres typhoïdes et de cholera. Les gastro-entérites sont fréquentes chez les consommateurs de palourdes et de coques même en absence de bactéries spécifiquement pathogènes. Certaines pollutions bactériennes sont d'ordre spécifiquement marines. Il en est ainsi de *Vibrio parahaemolyticus*; un des plus fréquents agents de gastro-entérites (coquillages et poissons) [03].

Les bactéries pathogènes des produits de la mer peuvent être commodément classées en deux grandes catégories comme indiqué au tableau 06.

Les bactéries du groupe 01 sont communes et un peu partout présentes dans les milieux aquatiques des différentes régions du monde.

En plus les fruits de mer peuvent être responsables de la transmission des maladies virales aux humains, et les virus entériques semblent être la principale cause des maladies imputables aux coquillages et crustacées. A l'heure actuelle, on connaît plus de 100 virus entériques qui sont excrétés dans les fécès humains et qui se retrouvent dans les eaux usées. Toutefois, un petit nombre

seulement ont été reconnus responsables de maladies associées aux produits de la mer. Il s'agit des virus suivants :

- Hépatite –type A (HAV)
- Virus de Norwalk
- Agent pathogène (Snow Mountain)
- Calcivirus
- Astrovirus
- Non-A et Non-B

Les virus sont inertes en dehors de la cellule de l'hôte vivant, mais ils survivent. Cela signifie que quelles que soient les conditions de temps, de température ou autres caractéristiques physiques, ils ne se multiplient pas dans l'eau ou les coquillages et crustacés. Leur présence dans ces derniers ne peut être que le résultat d'une contamination, due soit à des manipulateurs infectés soit à une eau polluée. Les coquillages qui filtrent leur alimentation ont tendance à concentrer les virus présents dans l'eau dans laquelle ils vivent. La concentration des virus dans les coquillages est beaucoup plus importante que dans l'eau ambiante [55].

Tableau (06) : Bactéries pathogènes transmises par les produits de la mer [55]

Bactéries indigènes (groupe 01)	Bactéries non indigènes (groupe 02)
<i>Clostridium botulinum</i> <i>Vibrio sp</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Autres vibrions * <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella sp</i> <i>Shigella</i> <i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

* les autres vibrions sont les suivants :

Vibrio vulnificus, *V.hollisae*, *V.furnsii*, *V.mimicus*, *V.fluviialis*.

VI. Les bactéries pathogènes :

1. *Escherichia coli* :

▪ Habitat :

E.coli fait partie de la microflore intestinale de tous les animaux, y compris les humains. C'est un commensal de l'intestin ; il représente 80% de la flore intestinale aérobie. Il se trouve en abondance dans les matières fécales à raison de 10^8 germes /g de fécès. De là, il se répand dans la nature : sol et eaux. Sa présence dans le milieu environnant signe toujours une contamination fécale. Sa mise en évidence dans l'eau constitue le test primordial de la colimétrie [23,56,57,58,59,60].

▪ Pouvoir pathogène pour l'homme :

Normalement, *E.coli* ne provoque pas de maladie, au contraire, elle a une fonction de suppression de bactéries nuisibles et permet de synthétiser de nombreuses vitamines. Cependant, certaines souches virulentes peuvent causer des infections humaines [57,58,59].

E.coli est subdivisée en sérotypes, sur la base des antigènes O(171), des antigènes K(80) et des antigènes H(56). A l'intérieur de l'espèce on reconnaît des pathotypes, souvent associés à des

sérotypes particuliers et responsables d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées); leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines [57].

On distingue actuellement, au moins 4 types de souches responsables des entérites :

A. *E.coli* Entéropathogènes (ECEP) :

Encore appelées *E.coli* .G.E .I (des gastro-entérites infantiles). Ces souches ont des propriétés d'adhésion particulières. Elles forment des pili, codés par des plasmides, qui forment des "faisceaux" qui se fixent sur les villosités des entérocytes. Les villosités sont progressivement détruites ("attachement-effacement"). Le cytosquelette des entérocytes est altéré et il se produit très rapidement une fuite hydrique [56,57,61].

B. *E.coli* Entérotoxiques (ECET) :

Ces souches déclenchent des diarrhées aiguës "cholera-like" chez les enfants de moins de deux ans, surtout dans les pays en voie de développement, et sont également considérées comme responsables d'un nombre important de diarrhées des voyageurs "turista" [23,56].

Ces souches sont pathogènes par sécrétion d'entérotoxine, qui est codée par un plasmide. La toxine est le plus souvent une toxine thermolabile ou **LT** (très voisine de celle du vibron cholérique), mais parfois thermostable ou **ST**. LT entraîne après une cascade d'événements biochimiques une hypersécrétion intestinale de l'eau et de chlorures, un hyper péristaltisme intestinal et une diarrhée explosive, qui durent 1 à 3 jours. Les plasmides en cause portent aussi des gènes responsables de la production de pili ou fimbriae (adhésines) qui permettent l'attachement des *E.coli* à la muqueuse intestinale [56,57,60].

C. *E.coli* Entéroinvasives (ECEI) :

Ces souches provoquent des diarrhées aiguës ou syndromes dysentériques ("dysentérie-like") avec présence de mucus, sang, et leucocytes dans les selles. Les **ECEI** ont la propriété de pénétrer dans les cellules par invasion de la muqueuse colique. La virulence de ces souches est liée à la présence d'un plasmide très proche de celui connu chez *Shigella*. Certaines de ces souches produiraient une cytotoxine comme les shigelles [56,57].

D. *E.coli* Entérohémorragiques (ECEH) /producteurs de virotoxines (VTEC) :

Le sérotype **O157 :H7** est le plus fréquent. Ces souches provoquent des diarrhées sanglantes, sans pus, ni fièvre, et des colites hémorragiques.

Après fixation sur la surface des cellules de la muqueuse, abrasion de la bordure en brosse de villosités intestinales, elles produisent de puissantes cytotoxines, dites virotoxines et appelées **SLT**(Shiga-like) car elles ressemblent à la toxine de *Shigella dysenteriae*. Elles sont produites sous le contrôle de bactériophages en situation chromosomique (intégrés) convertisseurs. Les **SLT** disséminent par voie sanguine et inhibent la synthèse protéique. Les **ECEH** hébergent un plasmide codant pour une adhésine [56,57,62,63].

Tableau (07) : Propriétés des *E.coli* responsables de diarrhées [61]

<i>E.coli</i>	Entéropathogènes ECEP	Entérohémorragiques ECEH	Entérotoxiques ECET	Entéroinvasifs ECEI
Diarrhée	Aigue et chronique	sanglante	liquide	Dysentérique
Cible	Enfants moins de 1 an	Intoxication alimentaire	Enfants et voyageurs	Adultes et intoxication alimentaire
Sérotypes	O26,O55,O66, O111,O114,O19, O125,O126,O127, O128,O142	O157	O5,O6,O15,O20, O25,O27,O63,O78, O80,O85,O115,O128, O148,O159	O26,O112,O124, O136,O143,O144, O147,O152,O164
Mécanisme	adhérence	Pas invasif	attachement	Envahissement
Toxines	Dysentérique ?	Dysentérique	LT/ST	Dysentérique
Plasmide	OUI	OUI	OUI	OUI
Taille	55-72 Md	30-75 Md		140 Md

■ **Caractères biochimiques :**

E.coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* qui se définit par les caractères suivants :

- bacilles à Gram négatif (2 à 4 µ de long sur 0,4 à 0,6 µ de large),
- mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles,
- poussant sur milieux de culture ordinaires,
- aéro-anaérobies facultatifs,
- fermentant le glucose avec ou sans production de gaz,
- réduisant les nitrates en nitrites,
- dépourvus d'oxydase [57].

Les principaux genres décrits dans cette famille sont : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Shigella*, et *Yersinia*.

- les principaux caractères biochimiques positifs *d'E.coli* sont : indole (+) (exceptions) ; ONPG (+) (exceptions) ; mannitol (+).
- les caractères suivants sont positifs de façon moins constante : mobilité, LDC, ODC, production de gaz lors de l'attaque du glucose,
- sont toujours négatifs : urée, TDA, VP, citrate de Simmons [61].

■ **Traitement :**

Le traitement curatif d'une diarrhée aigue est avant tout un traitement symptomatique par la réhydratation. La diarrhée des voyageurs peut être prévenue par des mesures d'hygiène ou par la prise d'antibiotiques pour certaines. Les fluoroquinolones ou le cotrimoxazole sont utilisés à titre curatif. La mise au point du vaccin anti-turista progresse [61].

2. Salmonella :

■ **Habitat :**

Les *Salmonella* sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables, après pénétration par voie

orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes (maladies à déclaration obligatoire n°1), des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives (maladies à déclaration obligatoire n°2).

Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*Salmonella typhi* surtout), des aliments (produits laitiers, œufs, viande) ou d'animaux familiers porteurs (tortues) [64].

■ **Pouvoir pathogène naturel :**

A. Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes :

◀ **étiologie :**

Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts, mais de pouvoir pathogène similaire: *Salmonella typhi*, *S.paratyphi A*, *S.paratyphi B* et *S. paratyphi C*. Ces *Salmonella* sont dites " majeures" en raison de la gravité de la pathologie qu'elles provoquent [57].

◀ **physiopathologie :**

Les *Salmonella* sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (coquillages). La dose infectante serait de l'ordre de 10^5 bactéries. Elles traversent sans la léser la paroi intestinale et gagnent les ganglions mésentériques satellites où elles vont se multiplier. Une partie des *Salmonella* se lysent et libèrent leur endotoxine. Celle-ci provoque des signes cliniques (fièvre, typhos, bradycardie) et biologiques (leucopénie) et une irritation des plaques de PEYER qui peut entraîner des hémorragies intestinales et des perforations. A partir des ganglions mésentériques, par le canal thoracique, des *Salmonella* gagnent le courant sanguin (hémoculture positive), et disséminent dans tous les organes (reins, foie, vésicule biliaire) et sont excrétées en faible nombre et de manière intermittente dans les selles (coproculture positive). Finalement, l'organisme infecté produit des anticorps contre les antigènes bactériens (sérodiagnostic positif), qui contribuent à la guérison spontanée de la maladie. Sans traitement la mortalité est d'environ 20% [57].

◀ **traitement :**

-Le traitement curatif repose sur l'antibiothérapie. Le chloramphénicol a été longtemps l'antibiotique de choix et a été remplacé par les fluoroquinolones et le cotrimoxazole.

-Le traitement préventif repose surtout sur l'hygiène générale (hygiène alimentaire) et sur la vaccination **TAB** (*Salmonella typhi*, *paratyphi A* et *B*). Un vaccin acellulaire spécifique de la fièvre typhoïde (**TYPHIM**) est disponible depuis 1988. Il est constitué de l'antigène capsulaire purifié de *Salmonella typhi* [57].

B. Gastro-entérites à *Salmonella* :

Les *Salmonella* dites "mineures" (*Salmonella typhimurium*, *S.enteritidis*, *S.dublin*,...) ubiquitaires, sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé ou après une contamination oro-fécale, souvent par les mains sales. Il peut s'ensuire des infections purement digestives, les gastro-entérites. Celles-ci se traduisent par de la diarrhée, des vomissements et de la fièvre. Leur évolution est en général bénigne. Certains sujets restent porteurs sains de *Salmonella* dans leur tube digestif et peuvent dans certaines circonstances disséminer leur souche.

Le diagnostic biologique des gastro-entérites repose sur l'isolement de la *Salmonella* par coproculture. Les hémocultures et le sérodiagnostic sont négatifs, la *Salmonella* reste purement digestive. Chez le nouveau-né, le jeune enfant, le sujet âgé, l'immunodéprimé, les *Salmonella* mineures sont susceptibles de franchir la barrière intestinale et de provoquer un syndrome septicémique de type typhoïdique avec hémocultures positives.

Le traitement des gastro-entérites à *Salmonella* repose essentiellement sur la réhydratation. Le traitement préventif repose sur l'hygiène générale [57,65].

C. Toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* :

La consommation simultanée par plusieurs personnes d'un aliment massivement contaminé par des *Salmonella* mineures entraîne un tableau de gastro-entérite, qui, simulant un véritable empoisonnement, est appelé toxi-infection alimentaire collective (TIAC). La période d'incubation est de 10 à 18 heures. Les troubles durent en général 2 à 5 jours. Les complications sont rares sauf chez les sujets à faibles moyens de défense. Le diagnostic se fait par la recherche de *Salmonella* dans les selles des malades et dans l'aliment incriminé. Le traitement est le même que celui des gastro-entérites [57].

■ Caractères biochimiques :

Les salmonelles sont des entérobactéries et en possèdent les caractères généraux. Elles sont : lactose (-), uréase (-), H₂S (+), citrate (+). Certains sérovars ont des caractères particuliers [60].

3. *Shigella* :

■ Habitat, pouvoir pathogène, épidémiologie :

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale; on ne les trouve que chez les malades, les convalescents et les porteurs sains. Elles sont responsables de l'historique "dysentérie bacillaire" qui décimait les armées en campagne. Actuellement, elles sont la cause, chez l'adulte, de colites infectieuses et chez l'enfant, de gastro-entérites sévères avec diarrhée mucopurulente et sanglante, fièvre et déshydratation. Ces infections surviennent par petites épidémies familiales ou "de cantine". En France, c'est *Shigella sonnei* que l'on isole le plus souvent [60].

En ce qui concerne la transmission de *Shigella* en eau de mer, on a pu démontrer que la shigellose, une maladie qui pouvait être causée par l'ingestion de 10 à 100 microorganismes seulement, pouvait être contractée au cours de baignades dans des eaux polluées [49].

■ Physiopathologie :

Après pénétration par voie orale, les *Shigella* envahissent la muqueuse de la partie terminale de l'iléon et du gros intestin. La dose infectante serait de 100 bactéries. Elles y forment des micro-abcès qui donnent naissance à des ulcérations superficielles qui saignent et se recouvrent d'une pseudo-membrane faite de mucus, de débris cellulaires, de leucocytes et de *Shigella*. La virulence est liée à la présence de grands plasmides (120-140 Md) codant pour des protéines nécessaires à la phagocytose par les cellules M des plaques de PEYER et à la multiplication intracellulaire, et au passage de cellule à cellule. Certaines souches de *Shigella* produisent aussi une toxine à activité entérotoxique et neurotoxique, responsable du syndrome hémolytique urémique (SHU) [57,65].

■ **Caractères biochimiques :**

Les *Shigella* sont des entérobactéries à faible pouvoir métabolique, toujours immobiles. Elles sont extrêmement proches des *E.coli* [60], mais ne fermentant pas le lactose. Elles ont les caractères suivants :

- elles n'ont pas d'uréase,
- fermentation du glucose sans production de gaz (exceptions avec certains biotypes de *S.flexneri* 6 et *S.boydii* 13 et 14 et *S.dysenteriae* 3),
- elles ne produisent jamais d'H₂S,
- absence de LDC et de tryptophane-désaminase,
- pas de culture sur milieu citrate de Simmons [57,61].

■ **Traitement :**

- Le traitement curatif repose sur l'administration d'antibiotiques: ampicilline, cotrimoxazole, fluoroquinolones et si besoin, sur la réhydratation .

- Le traitement préventif: la dysentérie bacillaire est par excellence une maladie de transmission fécale-orale : mains « maladie des mains sales », aliments, eau. Ce sont les mesures d'hygiène publique qui sont les plus importantes: contrôle de l'eau potable, des aliments; entretien des réseaux d'égouts; isolement des malades et désinfection des excréta; détection des porteurs sains, en particulier chez les professionnels de l'alimentation. Il n'y a pas encore de vaccin disponible [57].

4. *Yersinia enterocolitica* :

■ **Habitat :**

Bactérie ubiquitaire, trouvée chez l'animal et dans l'environnement (sol,eaux), contaminant l'homme et les animaux par voie digestive. *Yersinia enterocolitica* est surtout responsable de gastro-entérites, mais aussi des syndromes appendiculaires, des polyarthrites, ou un érythème noueux [60].

■ **Pouvoir pathogène naturel :**

Le bacille pénètre par voie digestive et se multiplie dans les ganglions mésentériques. Chez le sujet fragilisé, l'évolution peut se faire vers la septicémie. L'entérocolite à *Yersinia enterocolitica* est le plus souvent particulière: elle est à début brutal et associe diarrhée intense, vomissements, douleurs abdominales et fièvre [61].

■ **Caractères biochimiques :**

Les *Yersinia* présentent les caractères généraux des *Enterobacteriaceae* cités précédemment. Les éléments importants de l'identification sont : l'absence de mobilité à 37°C et la mobilité en dessous de 29°C. La réaction de l'uréase est toujours fortement et rapidement positive. Le test de l'ONPG est positif. L'absence de LDC et d'ADH est constante. La production de H₂S et la culture sur citrate de Simmons sont négatives [61].

■ **Traitement :**

La streptomycine semble l'antibiotique de choix, avec la tétracycline et le chloramphénicol [57].

5. *Vibrio* :

5.1. *Vibrio cholerae* :

■ Habitat :

Vibrio cholerae se trouve dans les selles des malades et de certains sujets (porteurs sains). Il survit dans les eaux polluées ainsi que sur les objets contaminés.

L'homme peut être infecté par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, et par contact inter-humain direct [57,66,67].

■ Pouvoir pathogène :

Après ingestion, *V.cholerae* se multiplie dans l'intestin grêle sans traverser la paroi intestinale. Il libère une exotoxine thermolabile protéique (entérotoxine) dont l'action déjà décrite chez *E.coli* (ECET) entraîne une hypersécrétion d'eau et de chlorures dans la lumière intestinale et inhibe la réabsorption du sodium. La dose infectante est importante, de l'ordre de 10^8 bactéries.

Après une incubation de 1 à 4 jours, le début de la maladie est brutal et marqué par des nausées, des vomissements, une diarrhée profuse et des crampes abdominales. Les selles ressemblent à de l'eau de riz et contiennent du mucus, des cellules épithéliales et beaucoup de vibrions. Les pertes en eau (plusieurs litres d'eau par jour) et en électrolytes entraînent déshydratation, collapsus circulatoire et anurie. En l'absence de traitement, la mort survient en 2 à 5 jours dans 50% des cas environ [57,67,68,69].

■ Caractères biochimiques : [61]

-Métabolisme respiratoire : oxydase (+), catalase (+), nitrate-réductase (+).

-Métabolisme glucidique :

-glucose (+) fermenté sans gaz, saccharose (+),

-lactose (-), ONPG (+), arabinose (-),

-VP (-) pour biotype classique, (+) pour El Tor.

-Métabolisme protéique :

-gélatine (+), indole (+),

-LDC (+), ODC (+), ADH (-).

-Métabolisme lipidique :

-estérase (+), lécithinase (+).

■ Traitement :

-Le traitement curatif: la réhydratation et le remplacement des électrolytes constituent l'essentiel du traitement. L'administration orale de cyclines raccourcit la période d'excrétion des vibrions et diminue la diarrhée.

-Le traitement préventif: la prophylaxie repose surtout sur l'hygiène générale [57].

5.2. *Vibrio parahaemolyticus* :

■ Habitat :

Vibrio parahaemolyticus est une espèce halophile, saprophyte des eaux de mer côtières; pendant la saison froide, les organismes sont présents dans les alluvions marines; au cours de la saison chaude, ils existent à l'état libre dans les eaux côtières, dans le poisson et les crustacés [67,70].

■ Pouvoir pathogène :

La transmission de la maladie se fait par ingestion de fruits de mer crus ou insuffisamment cuits ou de tout aliment exposé à la contamination croisée (préparation dans des locaux où on manipule des fruits de mer crus) ou encore, par rinçage à l'eau de mer contaminée; l'aliment doit reposer pendant un certain temps à la température ambiante pour que l'organisme s'y multiplie et atteigne une dose infectieuse ($>10^6$ bactéries); exposition d'une plaie ouverte à l'eau de mer contaminée. La période d'incubation est habituellement entre 12 à 24 heures, mais peut varier de 4 à 96 heures [67,70].

Ce *Vibrio* produirait une entérotoxine thermolabile, mais le mécanisme de la diarrhée est assez complexe et une action entéro-invasive n'est pas exclue [61].

V.parahaemolyticus est un pathogène strict de l'homme. Il provoque une gastro-entérite caractérisée par de la diarrhée liquide et des crampes abdominales; nausées, vomissements, fièvre et céphalées peuvent parfois se manifester; à l'occasion se présente comme une maladie ressemblant à la dysentérie accompagnée de selles sanguinolentes ou glaireuses, d'une forte fièvre et d'une numération leucocytaire élevée; les plaies ouvertes peuvent s'infecter; les infections généralisées et les décès sont rares [70].

■ Caractères biochimiques :

V.parahaemolyticus est VP (-), ONPG (-), saccharose (-), arabinose (+). Il tolère 7 à 8% de NaCl [61].

■ Traitement :

Les souches sont résistantes à l'ampicilline, sensibles à la gentamycine et à la tobramycine, aux tétracyclines, au chloramphénicol et au triméthoprime-sulfaméthoxazole [61].

5.3. *Vibrio alginolyticus* :

Il s'agit d'un vibron halophile dénué de pouvoir entéropathogène, qui peut être isolé à partir d'infections cutanées (ulcères, cellulite, conjonctivite, infection de l'oreille), souvent à la suite d'un contact avec de l'eau de mer.

Vibrio alginolyticus est VP (+), ONPG (-), saccharose (+), arabinose (-); il supporte jusqu'à 10% de NaCl [61].

5.4. *Vibrio vulnificus* :

Vibrio vulnificus est une espèce du milieu marin. Elle est responsable, chez l'homme, de deux types d'infections: une forme septicémique grave, survenant 24 heures après l'ingestion de fruits de mer, chez des patients à défenses compromises (cirrhose par exemple) et des formes cutanées consécutives à un traumatisme et un contact avec de l'eau de mer ou des aliments d'origine halieutique. Le caractère ONPG rapide, lactose (+) et sa résistance constante à la colistine sont les éléments majeurs d'orientation vers le diagnostic bactériologique [61,71,72].

6. *Aeromonas hydrophila* :

■ Habitat :

Aeromonas hydrophila a une répartition géographique mondiale et les eaux douces, les eaux de faible salinité, la vase, les sédiments et, d'une manière générale, l'environnement aquatique constituent l'habitat principal de ce germe.

A. hydrophila peut contaminer les eaux de boisson dans lesquelles leur nombre est plus important lors des saisons chaudes. La contamination des eaux potables et des eaux d'abreuvement des animaux pourrait expliquer l'infection de mammifères domestiques non inféodés au milieu aquatique ainsi que le portage intestinal mis en évidence chez l'homme, les bovins les ovins, les chevaux, les chiens et les chats. Les végétaux et divers aliments d'origine animale tels que les poissons et produits de la mer, viande de bœufs, de veaux, d'agneaux, et de volailles peuvent être contaminés [55,73,74].

Les espèces *Aeromonas* peuvent être isolées dans les matières fécales des animaux à sang chaud, les eaux usées, l'eau douce et les eaux salées qui sont en interface avec des eaux douces.

Aeromonas a été trouvé à des pH allant de 5,2 à 9,8 et à des températures comprises entre 4 et 45 °C. On ne le considère pas comme halophile, parce que sa tolérance au sel varie entre 0 et 4% [49,62].

■ Pouvoir pathogène :

Les infections chez les humains provoquées par *Aeromonas* surviennent de façon prédominante pendant la période qui s'étend de mai à novembre, probablement en raison de l'origine aquatique des bactéries. Les infections causées par *Aeromonas* ont été divisées en quatre catégories:

- ↳ cellulite ou infection d'une plaie attribuable à l'exposition à l'eau ;
- ↳ diarrhée aiguë de courte durée ;
- ↳ septicémie, le plus souvent accompagnée de troubles biliaires ou pancréatiques ;
- ↳ autres infections : infections des tissus mous, infections urinaires, méningite, péritonite, otite et endocardite, en particulier chez les personnes immunodéficientes [49,74].

Les facteurs de pathogénicité ont fait l'objet de nombreux travaux: ces bactéries peuvent produire des hémolysines, des endotoxines, des cytotoxines, des protéases et elles possèdent des facteurs d'attachement. De plus, certaines souches de *A. hydrophila* produisent une aérolysine qui est une protéine extracellulaire, hydrophile, douée à la fois d'une activité hémolytique et cytolitique [55,73]. Les espèces *Aeromonas* provoquent des troubles diarrhéiques aigus évoluant spontanément à la guérison, et dont la spécificité est confirmée par la découverte de diverses exotoxines. L'une

d'entre elles, l'entérotoxine cytotoxique, a été détectée chez le jeune souriceau. C'est une molécule thermolabile et acidophile qui provoque une lyse cellulaire dans les cultures de tissus [49].

■ **Caractères biochimiques :**

Les principaux caractères biochimiques permettant d'identifier *A. hydrophila* sont les suivants : oxydase (+), nitrate-réductase (+), glucose (+), VP (+), activité d'hémolyse du sang de mouton (β -hémolyse visible sur la gélose au sang) [61].

■ **Traitement :**

A. hydrophila est résistante aux pénicillines, sensible aux aminosides (sauf la streptomycine), au chloramphénicol, aux tétracyclines, au triméthoprime-sulfaméthoxazole [56].

7. *Campylobacter jejuni* :

■ **Habitat :**

Campylobacter jejuni est une bactérie commensale du tube digestif des volailles, qui peut être isolée à partir des eaux de surface contaminées, de la boue, chez le bétail et chez les chiens et les chats. Les oiseaux en particulier constituent un réservoir bien documenté, car de faibles quantités de fientes d'oiseaux tombées dans l'eau peuvent libérer de nombreux micro-organismes de *Campylobacter* [23,49].

■ **Pouvoir pathogène :**

C. jejuni est une autre espèce voisine *C. coli*, sont responsables de gastro-entérites chez l'homme.

Sous sa forme la plus habituelle, l'entérite à *C. jejuni* survient après une incubation de 1 à 3 jours, elle se caractérise par de la diarrhée (constante), des douleurs abdominales (fréquentes), de la fièvre (inconstante) et, quelquefois, des vomissements. La guérison survient spontanément en une semaine environ [23,61].

Les *Campylobacter* sont doués d'un caractère invasif permettant de pénétrer dans les entérocytes. Ils possèdent deux toxines: une cytotoxine thermolabile voisine de la toxine cholérique responsable de la diarrhée et une toxine thermostable voisine à celle produite par *Shigella* ayant une activité cytotoxique [61].

Les modes de transmission aux humains comprennent le contact avec des animaux, la manipulation de poulet cru, le contact entre personnes et la consommation d'aliments contaminés, de lait non traité et d'eau [49].

■ **Traitement :**

L'antibiotique de choix est l'érythromycine. Les *Campylobacter* sont aussi sensibles aux aminosides, aux tétracyclines, au chloramphénicol et à la combinaison amoxicilline-acide clavulanique. La sensibilité à l'ampicilline est inconstante [61].

8. *Pseudomonas aeruginosa* :

▪ Habitat :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquitaire très répandue dans la nature [56]. Elle vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Elle résiste mal à la dessiccation. Elle fait partie de la flore commensale de l'homme. On le trouve dans le tube digestif, la peau et les muqueuses et rarement la salive. Le bacille pyocyanique peut survivre et se multiplier dans une infinie variété de liquides et de milieux, de supports et de matériels, surtout s'ils sont humides [61,75,76,77].

▪ Facteurs de virulence :

Le bacille pyocyanique élabore des protéines et des substances toxiques pour l'homme, l'animal et les plantes. On distingue principalement : une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipase) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine). Sa virulence est multifactorielle [61].

Tableau (08) : Facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* [77]

Facteur de virulence	Effet(s) biologique(s)
Facteurs extracellulaires	
Exotoxine	Domage cellulaire Toxique pour les macrophages
Phospholipase et glycolipide	Destruction superficielle de tissus pulmonaires
Protéases	Envahissement de tissus, dommage cellulaire, inhibition du complément médiateur de la défense et le clivage de IgG
Facteurs intracellulaires	
Lipide A	Effets endotoxiques
Antigène O	Possibilité de l'inhibition des phagocytes
Polysaccharide mucoïde	Effets anti-phagocytaires Diminution de la fonction pulmonaire
Pili	Adhérence de l'épithélium
Slime polysaccharidique	Toxique pour les neutrophiles, effets similaires à celles des endotoxines

▪ Pouvoir pathogène :

P.aeruginosa est considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales [61].

Les infections à *P.aeruginosa* sont remarquablement polymorphes dans leurs expressions cliniques et dans leurs localisations. Elles sont rarement observées chez les sujets préalablement en bonne santé. Il s'agit alors d'infestations massives (nageurs de piscines contaminées...) ou

d'inoculations traumatiques directes dans un tissu ou une cavité (méningites ou ostéomyélites d'inoculation) [56,78].

• Infections de l'oreille :

Une étude approfondie a permis de faire ressortir une relation entre la concentration de *P.aeruginosa* dans les eaux de baignade et le risque d'infection de l'oreille [49].

P.aeruginosa n'est pas un saprophyte courant du conduit auditif externe. Seul 1% des individus sains en est porteur. Il est par contre isolé chez 45-65% des sujets ayant une otite externe banale. Celle-ci s'observe en particulier chez les nageurs en raison de la prédilection de la bactérie pour les milieux humides (les normes exigées pour les eaux de baignade ne font pas mention des pathogènes hydriques d'origine non fécale comme *P.aeruginosa*), mais également en zone tropicale ou après un traumatisme.

Une forme d'otite externe à bacille pyocyanique a été décrite sous le terme « d'oreille des plongeurs », atteignant les plongeurs en mer. *P.aeruginosa* est en cause également dans les périchondrites du pavillon [61,79].

• Infections cutanées :

Des infections cutanées à bacille pyocyanique peuvent s'observer en climat chaud et humide, mais également chez tout sujet en contact avec une eau contaminée. Un risque existe également pour les baignades dans des eaux stagnantes ou mal renouvelées ou non épurées (gravières, anse du bord de mer sans courants ou à faible marée surpeuplées en été) où sont associées, bien sûr d'autres bactéries hydriques [80]. Des sérotypes de *P.aeruginosa* ont été isolés dans des lésions cutanées de baigneurs [49,79].

• Entérites :

Leur mécanisme physiopathologique est proche de celui d'autres entérites. Elles sont très rares. Parmi les formes cliniques des entérites à *P.aeruginosa* on distingue :

- l'entérite aiguë consécutive à l'ingestion d'aliments très contaminés.
- l'entérite hydrique (Fièvre de Shagaï) avec un tableau de fièvre typhoïde, liée à l'absorption d'eaux polluées [80].

■ Caractères biochimiques : [81,82]

- Le métabolisme glucidique est typiquement oxydatif sans acidification des milieux.
- La plupart des souches n'attaquent aucun glucide, certaines cependant acidifient le glucose sans dégagement de gaz.
- Les réactions de Voges-Proscauer et rouge de méthyle sont négatives.
- Les nitrates sont réduits en nitrites puis en azote gazeux.
- *P.aeruginosa* possède une catalase, une cytochrome oxydase et une arginine dihydrolase.

■ Traitement :

Les antibiotiques ayant en général une bonne activité sur *P.aeruginosa* sont : la ticarcilline, la pipéracilline, l'azlocilline, la ceftazidime la cefsulodine, l'imipinème et les aminosides. Les souches résistantes à la colistine sont très rares. Parmi les cyclines, la vibramycine est la plus active. Mais l'activité de tous ces antibiotiques n'est pas régulière [61].

9. *Staphylococcus aureus* :

■ Habitat :

Bactéries ubiquistes, très répandues dans la nature (air, eau, sol). *Staphylococcus aureus* est un commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement [23,55,57,61,83].

■ Pouvoir pathogène :

Staphylococcus aureus est un germe pyogène responsable de la plupart des infections suppurées de la peau et des muqueuses ; il "surinfecte" souvent les plaies négligées.

On distingue parmi les infections staphylococciques les formes suivantes :

- ◀ **formes cutanées :** atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés (folliculite, furoncle, anthrax), atteinte péri-onguéal (onyxis, perionyxis), atteinte du tissu sous-cutané (panaris, phlegmons). Certaines formes superficielles (impétigo) peuvent se compliquer de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliatine [57,83].
- ◀ **formes muqueuses :** otites, sinusites, mastoïdites, conjonctivites [56,57,84,85].
- ◀ **formes intestinales :** soit intoxication alimentaire par absorption de toxine préformée dans les aliments contaminés (produits de mer) par un staphylocoque producteur d'entérotoxines. Les symptômes habituels qui peuvent survenir dans les 2-4 heures qui suivent la consommation d'aliment sont les nausées, les vomissements et, parfois, la diarrhée. Les symptômes ne durent généralement pas plus de 24 heures mais, dans les cas graves, la déshydratation peut conduire au choc et au collapsus [55,57,65].

■ Caractères biochimiques :

L'identification de *S.aureus* repose sur la mise en évidence des caractères suivants : catalase (différence avec les streptocoques), fermentation du glucose en anaérobiose (différence avec les microcoques), coagulase (différence avec *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*), DNase thermostable [57].

■ Traitement :

Dans le cas des staphylococcies cutanéomuqueuses, localisées les antibiotiques à utiliser sont principalement des macrolides ou apparentés (érythromycine, pristinamycine).

Dans les staphylococcies graves une association de deux antibiotiques bactéricides : bêta-lactamines (oxacilline) + aminoside (gentamycine) ou fluoroquinolones (ofloxacine). En cas de résistance aux pénicillines, le traitement antibiotique sera un glycopeptide (vancomycine ou teicoplanine) seul ou associé à un autre antibiotique actif (aminosides, rifampicine, acide fusidique, fosfomycine) [57].

VII. Affections fongiques (mycoses) et agents responsables :

1. Les mycoses cutanées :

Les mycoses cutanées, également appelées dermatophytoses/dermatomycoses ou teignes inflammatoires, sont cosmopolites et représentent les maladies fongiques humaines les plus courantes. Le traitement est à base d'onguents topiques tels que le miconazole, le tolnaftate ou le cotrimoxazole pendant deux à quatre semaines [01].

▪ Agents infectieux :

Trois genres de champignons microscopiques ou dermatophytes sont impliqués dans ces mycoses: *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Trichophyton*.

▪ Période d'incubation :

Elle est de 4 à 14 jours. Les onychomycoses ne se manifestent qu'après une incubation plus prolongée.

▪ Clinique :

La présentation clinique est déterminée par le réservoir du champignon (homme, animaux ou sol) et la réaction immunologique de l'hôte. Les dermatophytes adaptés à l'homme (le plus fréquent étant *T. rubrum*) ne provoque qu'une faible réaction inflammatoire. Les dermatophytes provenant d'animaux ou du sol provoquent une réaction inflammatoire purulente après un temps de latence de 2 à 3 semaines.

a. Tinea capitis

Infection du cuir chevelu avec atteinte des cheveux par certains *Microsporum* ou *Trichophyton*.

b. Tinea de la barbe (sycosis)

Le plus souvent causé par des *Trichophyton* d'origine animale (*T. mentagrophytes* et *T. verrucosum*). Folliculite purulente après une phase initiale inflammatoire desquamative.

c. Tinea corporis ou cruris

Les agents les plus fréquents sont *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* et *T. floccosum*. Lésions annulaires, progressant de façon centrifuge avec périphérie rouge et surélevée avec présence éventuelle de vésicules. Au centre une région sèche et desquamante. Le diagnostic différentiel inclut les candidoses inguinales ainsi que l'intertrigo.

d. Tinea pedis (athlete's foot)

Le plus souvent causé par *T. rubrum* et *T. mentagrophytes*. Dermatose desquamative des pieds avec formation de ragades, le plus souvent dans les régions interdigitales. On peut également observer de petites vésicules.

e. Tinea unguis

Il s'agit d'une infection le plus souvent causée par *T. rubrum* et qui touche un ou plusieurs ongles des mains ou des pieds. L'ongle s'épaissit, devient friable et perd sa couleur normale. Ceci peut aboutir à la formation d'une masse d'allure caséeuse ou alors à la perte de l'ongle. Les onychomycoses doivent être distinguées des onychodystrophies non infectieuses.

■ Mesures à prendre :

- Traitement :

Traitement local avec des substances antimycotiques, par exemple des dérivés imidazolés. Le traitement doit être poursuivi au moins une semaine après la guérison clinique. Un traitement systémique n'est indiqué que dans certaines indications: atteinte des cheveux ou des ongles; mycose étendue et résistante au traitement local.

- Prévention primaire :

Serviettes et linges individuels. Nettoyage régulier et complet des bains et des douches. Traitement des personnes et des animaux infectés [86].

2. Les candidoses :

La candidose est la mycose causée par le mycète dimorphe *Candida albicans*. Contrairement aux autres mycètes pathogènes, *C. albicans* est un membre de la flore normale du tractus digestif, de l'appareil respiratoire, du vagin et de la bouche [01,87]. Des vaginites à *Candida* peuvent être contractées à la suite de séjour sur les plages très fréquentées [03].

Les lésions cutanées peuvent être traitées par des applications locales de substances comme le caprylate de sodium, le propionate de sodium, le violet de Gentiane, la nystatine, le miconazole et la trichomycine. Pour les candidoses systémiques on peut également utiliser le cétoconazole, l'amphotéricine B, le fluconazole et la flucytosine [01,65].

VIII. Caractères biochimiques des bactéries responsables d'infections d'origine hydrique :

1. Les bactéries à Gram négatif :

Les caractères biochimiques des espèces bactériennes recherchées, celles appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et celles dites non entérobactéries sont résumées dans les tableaux 10 et 11.

2. Les bactéries à Gram positif :

Les caractères biochimiques permettant de différencier les espèces du genre *Staphylococcus* sont représentés dans le tableau 12.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau (09) : Tableau de différenciation des entérobactéries [88]

<i>Espèce</i>	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NIT	MOB
<i>Escherichia coli 01</i>	+	-	+	±	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	±	±	-	+	-	+	±
<i>Escherichia coli 02</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	±	±	±	-	±	-	+	±
<i>Escherichia coli 03</i>	±	-	±	±	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	±	±	-	±	-	+	-	+	-
<i>Escherichia coli 04</i>	+	-	+	±	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	±	+	-	+	-	+	±
<i>Shigella dysenteriae 01</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Shigella dysenteriae 02</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	±	-	-	-	±	-	+	-
<i>Shigella dysenteriae 03</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	±	-	-	-	-	±	-	+	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	+	-	±	-	-	±	-	±	-	+	-
<i>Shigella doydii 01</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	±	-	-	±	-	±	-	+	-
<i>Shigella doydii 02</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	±	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Shigella sonnei</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
<i>Salmonella cholerae suis</i>	-	±	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	±	-	-	-	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>Salmonella spp</i>	-	±	+	+	±	+	-	-	-	-	-	+	+	±	+	+	-	±	-	+	-	+	+
<i>Salmonella para A</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+
<i>Salmonella typhisuis</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	±	-	+	-	+	+
<i>Salmonella galinarum</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	±	-	-	-	+	-	+	-
<i>Salmonella pullorum</i>	-	-	+	+	-	±	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	±	-	+	-
<i>Salmonella arizonae</i>	+	±	+	+	±	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	±	-	+	-	+	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	+	-	-	+	-	-	+	-	±	-	-	+	+	±	+	-	+	-	+	±	-	+	-

Tableau (10) : Tableau de différenciation des bacilles Gram (-) non-entérobactéries [88]

<i>Espèce</i>	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NIT	MOB
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	±	-	±	-	-	-	+	±	+	+	+	-	-	-	+	-	±	±	+	+	+
<i>Vibrio cholerae</i>	+	-	+	+	±	-	-	-	+	±	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>Vibrio alginolyticus</i>	-	-	+	±	±	-	-	-	+	-	±	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	±	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	+	+	±	-	-	-	+	-	±	+	+	-	-	-	-	-	-	±	+	±	+
<i>Vibrio vulnificus</i>	+	-	±	+	+	-	-	-	+	-	+	+	±	-	-	-	-	-	+	-	+	±	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	-	-	+	-	±	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±
<i>Pseudomonas putida</i>	-	+	-	-	±	-	-	-	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
<i>Pseudomonas cepacia</i>	±	-	±	-	±	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	±	-	+	±	±
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	±	-	±	-	±	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±	±	±	-	±	-	-	-	+	-	+
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±
<i>Pseudomonas spp</i>	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	±

Tableau (11) : Tableau d'identification des staphylocoques [61,88]

<i>Espèce</i>	Catalase	GLU	LAC	MAN	NIT	VP	SAC	ADH	URE	MAN(anaérobie)	coagulase
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus auricularis</i>	+	+	-	-	+	-	±	+	-	-	-
<i>Staphylococcus capitis</i>	+	+	-	±	+	+	±	+	±	-	-
<i>Staphylococcus caprae</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	±	-	-
<i>Staphylococcus camosus</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus cohnii spp cohnii</i>	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-
<i>Staph. cohnii ssp urealyticum</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	+	+	-	+	±	+	±	+	-	-
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	+	+	+	±	+	±	+	+	-	-	-
<i>Staphylococcus hominis</i>	+	+	±	±	+	±	+	±	+	-	-
<i>Staphylococcus hyicus</i>	+	+	+	-	+	-	+	+	±	-	-
<i>Staphylococcus lentus</i>	+	+	+	+	+	±	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	+	+	±	-	+	+	+	-	±	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	+	+	+	+	±	+	+	±	±	+	-
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
<i>Staphylococcus sciuri</i>	+	+	±	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus simulans</i>	+	+	+	±	+	-	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus warneri</i>	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus xylosum</i>	+	+	+	+	+	±	+	-	+	-	-

IX. Contrôle de qualité des eaux de baignade :

1. Fondement de l'utilisation des microorganismes indicateurs :

La qualité bactériologique d'une eau n'est pas un paramètre stable, mais au contraire sujet à fluctuation, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents [04]. Pour l'évaluation de la qualité des eaux de baignade, le suivi porte essentiellement sur la pollution bactériologique engendrée par des rejets d'eaux usées. Cette pollution présente, en effet, le risque de dissémination de germes pathogènes, susceptibles d'entraîner des maladies telles que conjonctivites, rhinopharyngites, otites, sinusites, maladies cutanées ou digestives. Toutefois, l'analyse complète des germes pathogènes est pratiquement impossible à réaliser en raison :

- ◆ des contraintes au niveau des prélèvements en raison des besoins de volumes importants et des conditions de transport des échantillons.
- ◆ des techniques analytiques compliquées et coûteuses.
- ◆ de leur durée de vie souvent très courte.
- ◆ de leur présence en nombre faible, d'où la nécessité de concentrer les échantillons.
- ◆ de leur présence aléatoire.
- ◆ des phénomènes de compétitivité microbienne.
- ◆ du nombre élevé d'espèces différentes [45,50,89,90,91,92].

Pour pallier les difficultés de fonder une surveillance de la qualité des eaux sur les germes pathogènes est né le concept de "**microorganismes indicateurs de contamination fécale**". Ces indicateurs sont spécifiques de la flore intestinale, ils ne sont pas nécessairement pathogènes, mais leur présence en grand nombre dans un milieu aquatique indique l'existence d'une contamination fécale, et donc un risque épidémiologique potentiel [45]. Du fait que la plupart des microorganismes à l'origine des infections à transmission hydrique, ont pour habitat normal les intestins de l'homme ou de certains animaux à sang chaud, s'il a été prouvé qu'une eau est soumise à une pollution par les matières fécales, il existe un risque qu'elle contienne des microorganismes pathogènes de cette origine [04,44,93].

2. Caractéristiques d'un bon indicateur de contamination :

Idéalement, un bon indicateur de contamination fécale doit avoir les propriétés suivantes :

- Il doit être absent des eaux non polluées et associé exclusivement à la présence de déchets fécaux d'origine animale et humaine.
- Il doit être présent dans les eaux contaminées par les matières fécales en même temps que les germes pathogènes, mais en plus grand nombre qu'eux.
- Il doit être incapable de se développer dans le milieu aquatique, tout en pouvant survivre plus longtemps que les germes pathogènes.
- Il doit être au moins aussi résistant à la désinfection que les germes pathogènes.
- Il doit être applicable à toutes les variétés naturelles d'eaux utilisées à des fins récréatives (eau douce, eau de mer, et eau d'estuaire).
- Il doit être facilement détectable par une méthode spécifique et d'une grande sensibilité, et identifiable sans ambiguïté à l'aide de tests simples, rapides et peu coûteux.
- Un lien doit pouvoir être établi entre l'indicateur, sa nature, son abondance et la probabilité d'apparition d'infections.
- La densité des indicateurs doit être en corrélation directe avec le degré de contamination fécale [01,45,49].

Plusieurs groupes de bactéries répondent de manière relativement satisfaisante à ces critères. Il s'agit des coliformes totaux, des coliformes fécaux, et des streptocoques fécaux [45,94].

3. Microorganismes indicateurs spécifiques de pollution fécale:

3.1. Les coliformes totaux :

◀ Définition des coliformes :

Sous le terme de « coliformes » est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae*.

La définition suivante a été adoptée par l'organisation internationale de standardisation (ISO). Le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram-négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37°C.

Le dénombrement de ces organismes est souvent désigné sous l'expression de « dénombrement des coliformes totaux ». Ainsi, les coliformes constituent-ils un rassemblement assez hétéroclite du point de vue taxonomique. Mais leur étude est traditionnelle et les renseignements donnés par cet examen sont d'une certaine utilité dans le domaine de la santé publique.

Les coliformes comprennent les genres : *Esherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia* [04].

◀ Origines et habitats des coliformes :

On distingue deux catégories de coliformes :

- ◆ Des coliformes thermotrophes ou thermotolérants : dont la température optimale de croissance se situe entre 36°C et 38°C, et capables de se multiplier à des températures élevées, toujours à 41°C, souvent à 44°C ; ils sont par contre incapables de se développer à + 4°C, en 30 jours. Les coliformes fécaux appartiennent à cette catégorie, mais il serait osé de prétendre que cette catégorie comprend exclusivement des coliformes fécaux.
- ◆ Des coliformes psychrotrophes : dont la température optimale de croissance se situe entre 30°C et 34°C, et qui se multiplient rapidement à + 4°C en 2 à 4 jours, et à + 10°C en 1 jour ; ils sont par contre incapables de se développer à 41°C et à 44°C. Ils ne font pas partie de la flore fécale des animaux à sang chaud.

Les uns ou les autres de ces germes peuvent être isolés en milieu hospitalier : ils s'implantent dans les habitats restés vacants, par suite de bouleversements des flores (coloniseurs) ; ils peuvent être responsables d'infections opportunistes.

On peut donc établir une classification contemporaine des entérobactéries coliformes, comme le montre le tableau 12. Cette classification, utile en hygiène et santé publique, permet de faire le lien entre la taxonomie et l'intérêt hygiénique ou épidémiologique de telle ou telle espèce : les unes sont fécales, d'autres sont aquicoles, d'autres encore sont des coloniseurs hospitaliers [23].

Tableau (12) : Classification des coliformes en hygiène et en santé publique [23,95]

Coliformes d'origine fécale	Coliformes d'origine aquatique ou tellurique	Coliformes isolés en clinique : coloniseurs ou pathogènes opportunistes
<i>Esherichia</i> <i>E.coli</i>		<i>E.fergusonii</i> <i>E.hermanii</i> <i>E.vulneris</i>
<i>Citrobacter</i> <i>C.freudii</i> <i>C.koseri</i> <i>C.amalonaticus</i>		
<i>Enterobacter</i> <i>E.cloacae</i> <i>E.aerogenes</i>	<i>E.amnigenus</i> <i>E.dissolvens</i> <i>E.intermedius</i> <i>E.nimipressularis</i>	<i>E.asburiae</i> <i>E.gergoviae</i> <i>E.hormaechei</i> <i>E.sakazakii</i> <i>E.taylorae</i>
<i>Klebsiella</i> <i>K.oxytoca</i> <i>K.pneumoniae</i>	<i>K.planticola</i> <i>K.terrigena</i>	<i>K.ornithinolytica</i> <i>K.ozenae</i>
<i>Salmonella</i> Sous-espèce 3a* Sous espèce 3b*		
<i>Shigella</i> <i>S.sonei</i> *		
<i>Yersinia</i> <i>Y.enterolitica</i>	<i>Y.aldovae</i> <i>Y.bercovieri</i> <i>Y.frederiksenii</i> <i>Y.intermedia</i> <i>Y.kristensenii</i> <i>Y.mollareti</i> <i>Y.rohdei</i>	
<i>Serratia</i>	<i>S.fonticola</i> <i>S.grimesii</i> <i>S.liquefaciens</i> <i>S.plymuthica</i> <i>S.proteamaculans</i> <i>S.rubidae</i> <i>Hafnia alvei</i>	
Thermotrophes ou thermotolérants**	Psychrotrophes ou psychrotolérants	Mésophiles ou thermotrophes ou psychrotrophes

* Certains sérotypes sont des pathogènes spécifiques.

** *Yersinia enterolitica* (sérotype adaptés O₃, O₉) est psychrotrophe mais il se développe aussi aux températures élevées(+ 42°C).

◀ Intérêt hygiénique de la recherche des coliformes dans une eau :

Les coliformes sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance. Par ailleurs, leur résistance aux agents antiseptiques, et notamment au chlore et à ses dérivés, est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est instauré ; ils constituent donc des indicateurs d'efficacité de traitement.

Donc, le dénombrement des coliformes totaux est un examen capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement désinfectant, et d'intérêt plus nuancé pour déceler une contamination d'origine fécale [04].

3.2. Les coliformes fécaux (coliformes thermotolérants) :

◀ Définition :

Ce sont des coliformes qui présentent les mêmes propriétés et caractéristiques des coliformes totaux après incubation à la température de 44°C.

Le groupe des coliformes fécaux comprend les espèces suivantes: *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Esherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Moellerella wisconsensus*, *Salmonella* (sous-genre III *Arizona*), *Yersinia enterocolitica* [04].

◀ Intérêt hygiénique de dénombrement des coliformes fécaux :

La présence de coliformes fécaux dans un milieu aquatique, et plus particulièrement d' *E.coli* , est considérée comme un bon indicateur d'une contamination récente du milieu par du matériel fécal humain ou d'animaux à sang chaud [45]. Néanmoins, leur mise en évidence dans l'eau n'est pas la preuve de la présence de pathogènes, mais elle permet de la suspecter fortement [91,96].

Un autre test peut fournir les mêmes indications que celles fournies par le dénombrement des coliformes fécaux, c'est le dénombrement des *E.coli* présumés qui correspondent à des coliformes thermotolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane, à 44°C. L'examen peut donc être orienté vers l'un ou l'autre de ces dénombrements [04].

3.3. Esherichia coli :

◀ Définition :

Le terme « *E.coli* » correspond à des coliformes thermotolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane et ont les caractères biochimiques propres à cette espèce [04].

◀ Intérêt de la recherche et de dénombrement d'*Esherichia coli* :

Selon l'OMS, l'indicateur le plus précis pour estimer la pollution fécale est en fait *Esherichia coli*, en raison de son abondance dans les fèces humaines (jusqu'à 1 milliard de bactéries par gramme de matière fraîche), et de sa persistance pour être recherché (sa durée de détection dans l'eau à 20°C varie d'une semaine à un mois) [91,97].

3.4. Les streptocoques fécaux :

◀ Définition :

Sous la dénomination générale de « streptocoques fécaux », il faut entendre l'ensemble des streptocoques possédant la substance (acide teichoïque) antigène caractéristique du groupe D de Lancefield [90].

Du point de vue taxonomique, ils appartiennent aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus*. Le genre *Enterococcus* comprend les streptocoques qui se caractérisent par une large tolérance à des conditions de croissance défavorables, notamment les espèces *Enterococcus faecalis*, *E.faecium*, *E.durans*, *E.hirae*, *E.avium*, *E.casseliflavus*, *E.cecorum*, *E.gallinarum* et *E.solitarus*. La plupart de ces espèces peuvent être considérées en pratique comme des indicateurs spécifiques d'une pollution fécale humaine. Toutefois, on peut aussi les isoler à partir des fécès d'animaux. Certaines espèces, comme *E.faecalis*, *E.malodoratus* et *E.solitarus* se rencontrent principalement sur des végétaux.

En ce qui concerne le genre *Streptococcus*, seuls *Streptococcus bovis* et *S.equinus* possèdent l'antigène du groupe D et font partie du groupe des streptocoques fécaux. On les trouve principalement dans les excréments d'animaux [98].

◀ Intérêt de dénombrement des streptocoques fécaux :

Bien que ce groupe semble assez ubiquiste, il est généralement considéré comme un indicateur fiable de pollution fécale, car tous sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et de certains animaux à sang chaud, et ont un habitat fécal [04,45,90].

En plus, le rôle principal des streptocoques fécaux était de faire partie du rapport coliformes fécaux/streptocoques fécaux utilisé comme indicateur de la nature de la source fécale [49]. Donc la détermination pratique de l'origine de la pollution fécale est indiquée par le rapport CF/SF :

- a.** Si le rapport CF/SF est supérieur ou égal à 4 ($CF/SF \geq 4$), la source probable de contamination est les déchets humains.
- b.** Si le rapport CF/SF est inférieur ou égal à 0,7 ($CF/SF \leq 0,7$), la source probable de contamination est les déchets de bétail ou de basse-cour.
- c.** Si le rapport CF/SF est compris entre 0,7 et 4 ($0,7 < CF/SF < 4$), la source probable de contamination est à la fois les déchets humains et animaux [99].

◀ Les streptocoques fécaux, les meilleurs indicateurs de contamination dans l'eau de mer :

Dans l'eau de mer, le groupe des entérocoques représente le meilleur indicateur disponible de la contamination fécale en provenance d'animaux à sang chaud. Ils survivent plus longtemps dans l'eau de mer que les coliformes fécaux. En plus, il existe une corrélation positive entre les affections gastro-intestinales et les niveaux d'entérocoques dans l'eau de mer [49,53,54,100].

4. Microorganismes indicateurs, non réellement spécifiques de pollution fécale :

4.1. Les bactéries aérobies revivifiables (germes aérobies mésophiles, hétérotrophes) :

◀ Définition :

Dans un dénombrement dit de germes totaux, on distingue deux catégories des bactéries cultivant, sur le plan hygiénique : les germes saprophytes, qui se développent à 20°C ; et les germes dits « pathogènes », qui se multiplient à 37°C. Cette distinction provient du fait évident, qu'à 20°C on favorise le développement des germes spécifiques de l'eau, et qu'à 37°C (température du corps humain) on sélectionne les microorganismes provenant de l'homme ou des animaux à sang chaud, de leurs sécrétions, de leurs flores naturelles et en particulier des matières fécales. Il s'agit donc des bactéries hébergées par l'homme ou l'animal [23].

◀ Intérêt de dénombrement des germes totaux :

Cet examen vise à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre de microorganismes, en particulier de bactéries se développant dans les conditions aérobies habituelles de culture [04].

Le dénombrement des germes hétérotrophes, cultivant à 37°C est souvent considéré comme accessoire, il n'apporte pas d'information supplémentaire intéressante, par rapport à celle fournie par le trio des indicateurs de qualité. Il est en effet illusoire de vouloir définir le degré de pureté d'une eau, sur la base de son contenu en bactéries totales. Lorsque ce dénombrement est pratiqué, de façon systématique, pour connaître la distribution spatiale et temporelle des bactéries hétérotrophes, il représente une alternative moderne et efficace d'évaluation de la qualité [23].

Ce dénombrement peut donner aussi des indications importantes pour juger la validité de techniques utilisées pour la recherche d'autres paramètres : un nombre très élevé de germes par rapport à un nombre très faible de coliformes rend le dénombrement de ces derniers très incertain [04].

4.2. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs :

◀ Définition :

Ce groupe se compose de microorganismes anaérobies sporogènes, dont le plus caractéristique, *Clostridium perfringens*, normalement présent dans les fèces, mais en moins grand nombre qu'*E.coli*.

Les spores de *Clostridium* peuvent survivre dans l'eau beaucoup plus que les coliformes et ils résistent à la désinfection.

◀ Intérêt de la recherche des *Clostridium* sulfito-réducteurs :

La présence des spores de *Clostridium* dans les eaux désinfectées peut indiquer que le traitement est déficient et que des pathogènes résistants à la désinfection ont pu également survivre. En raison de leur longévité, ils sont surtout capables d'indiquer une contamination intermittente ou à distance, et ne sont pas donc recommandés pour la surveillance de routine des réseaux de distribution.

Comme ils ont tendance à survivre et à s'accumuler, on risque de les retrouver très loin, dans le temps et dans l'espace, de la source de pollution, ce qui peut donner lieu à des fausses alertes [56,98].

Par ailleurs, les *Clostridium* sulfite-réducteurs sont souvent considérés comme des témoins de pollution fécale. La forme spore, beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale ancienne ou intermittente [04].

5. Autres indicateurs proposés :

▣ Les bactériophages fécaux :

La présence des coliformes et de streptocoques fécaux peut s'accompagner de bactériophages dits fécaux. Ces coliphages sont des virus qui attaquent spécifiquement les bactéries du groupe coliforme [04,49]. Les bactériophages fécaux se trouvent presque constamment présents dans les matières fécales humaines et animales. Ils sont considérés comme des témoins d'une contamination fécale. L'aspect quantitatif est peu important [06,90].

Etant donné que les bactériophages fécaux sont plus résistants à la désinfection par le chlore que les bactéries indicatrices de contamination fécale, ils constituent un indicateur de l'efficacité de la désinfection. Enfin, leur survie pendant de longues périodes dans l'environnement, ressemble à celle des virus entériques humains pouvant être transmis par l'eau, comme les entérovirus, l'hépatite A et les rotavirus. Ils pourraient être utilisés comme indicateurs à long terme de contamination par les entérovirus [04,49].

Il peut donc être utile d'inclure la numération des coliphages et des bactériophages dans l'évaluation continue de l'impact de la pollution fécale sur les eaux utilisées à des fins récréatives y compris les eaux de mer [49,101].

6. Microorganismes pathogènes :

Les microorganismes pathogènes d'origine fécale pourront être recherchés pour constater la matérialisation d'un danger vis-à-vis duquel la présence de bactéries fécales joue le rôle de signal d'alarme. Cet examen est souvent pratiqué en liaison avec les examens biologiques effectués chez des malades atteints d'une maladie infectieuse dont on soupçonne une origine hydrique.

En fait, seules les *Salmonella* et les *Shigella* sont des bactéries fréquemment recherchées, en dehors de cas d'épidémies. Ces dernières années cependant, une certaine importance a été attribuée aux *Yersinia*, aux *Campylobacter*, aux virus et aux parasites. Les risques sanitaires provenant de microorganismes d'origine non fécale sont surtout importants au cours des baignades et pratiques thermales. Ils ne peuvent être évalués que par la recherche des pathogènes eux-mêmes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *V.parahaemolyticus* sont les plus fréquemment recherchés [04,49].

7. Critères d'évaluation de la qualité de l'eau :

Deux catégories d'indicateurs sont utilisés pour évaluer la qualité sanitaire des eaux de baignade : des paramètres microbiologiques et des paramètres physicochimiques.

- **Les paramètres microbiologiques** : trois indicateurs de contamination fécale sont recherchés : les coliformes totaux, les coliformes fécaux ou *Esherichia coli* et les streptocoques fécaux. En cas de pollution avérée, d'autres microorganismes (salmonelles, entérovirus) peuvent être recherchés.
- **Les paramètres physicochimiques** : six font l'objet d'une évaluation qualitative visuelle ou olfactive sur terrain. Les trois premiers participent au calcul du classement des eaux de baignade :
 1. les mousses ;
 2. les phénols ;
 3. les huiles minérales ;
 4. la couleur ;
 5. les résidus goudronneux et les matières flottantes ;
 6. la transparence.

En fonction des circonstances de terrain, d'autres paramètres peuvent être mesurés : pH, nitrates, phosphates, chlorophylle, micropolluants, ... [48,102].

8. Normes de qualité requise pour les eaux de baignade : réglementation française :

La directive européenne du 08/12/1975 (n° 76/160/CEE) a établi les seuils de qualité des eaux de baignade (Tableau 13). Elle a été transposée en droit français par le décret n° 81-324 du 7 avril 1981 modifié par le décret n° 91-980 du 20/09/1991, qui fixe les normes d'hygiène et de sécurité applicables aux piscines et aux baignades [19,48,89].

Les analyses sont associées à des niveaux de qualité :

- Niveau guide (**G**) : limite objectif vers laquelle il faut tendre.
- Niveaux impératif (**I**) : limite supérieur à ne pas dépasser [89,102].

⇔ **L'interprétation :**

Chaque résultat est interprété par rapport à ces seuils de qualité :

- L'eau est de **bonne qualité** lorsque les résultats sont inférieurs aux nombres guides,
- L'eau est de **qualité moyenne** lorsque les résultats obtenus sont supérieurs aux nombres guides mais restent inférieurs aux nombres impératifs,
- L'eau est de **mauvaise qualité** lorsque les résultats obtenus sont supérieurs aux nombres impératifs.

En cas de non respect de ces seuils, la baignade peut être interdite et une enquête est menée pour rechercher les causes de pollution [102].

9. Classement sanitaire des eaux de baignade :

A l'issue de la saison estivale, un classement des plages est établi à partir de l'ensemble des paramètres analysés. A l'échelon européen, le classement est basé sur la conformité des paramètres microbiologiques ainsi que des paramètres physico-chimiques (résultats inférieurs aux nombres impératifs pour 95% des échantillons).

Il définit deux classes : eaux conformes et eaux non conformes. Au niveau national, la classification comporte 4 catégories (Tableau 14).

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Il partage les eaux conformes en :

- **Eaux de bonne qualité, catégorie A** : respect des valeurs guides et impératives de la directive,
- **Eaux de qualité moyenne, catégorie B** : respect des valeurs impératives,

d'une part et d'autre part les eaux non conformes en :

- **Eaux momentanément polluées, catégorie C** : entre 5 et 33% d'échantillons non conformes aux valeurs impératives,
- **Eaux de mauvaise qualité, catégorie D** : plus de 33% d'échantillons non conformes aux valeurs impératives [102,103].

Tableau (13) : Normes physiques, chimiques, microbiologiques pour les eaux de baignade [04,89,102,104,105]

Paramètres	G	I
<i>Microbiologiques</i>		
Coliformes totaux/100 mL	500	10000
Coliformes thermotolérants/100 mL	100	2000
Streptocoques fécaux/100mL	100	400(en projet)
Salmonelles/1L	-	0 ⁽²⁾
Entérovirus PFU/ 10L	-	0 ⁽²⁾
<i>Physicochimiques</i>		
pH	-	6-9 ⁽¹⁾⁽²⁾
Coloration	-	Pas de changement anormal de la couleur ⁽¹⁾⁽²⁾
Huiles minérales (mg/L)	≤0.3	Pas de film visible à la surface de l'eau et absence d'odeur ⁽²⁾
Substances tensioactives réagissant au bleu de méthylène mg/L (lauryl sulfate)	≤0.3	Pas de mousse persistante ⁽²⁾
Phénols (indices phénols) (mg/L C ₆ H ₅ OH)	≤0.005	Aucune odeur spécifique ⁽²⁾
Transparence (m)	2	1 ⁽¹⁾
Oxygène dissous (% saturation O ₂)	80-120	- ⁽²⁾
Résidus gourdonneux et matières flottantes (bois, plastique, récipients en verre,...)	Absence	-
Ammoniaque (mg/L NH ₂)	-	⁽³⁾
Azote Kjeldahl (mg/L N)	-	⁽³⁾
Autres substances considérées comme indices de pollution : pesticides (mg/L)	-	-
Métaux lourds : arsenic (mg/L) (As), cadmium(Cd), chrome(VI) (CrVI), plomb(I) (Pb), mercure(Hg).	-	⁽²⁾
Cyanures (mg/L Cn)	-	-
Nitrates et phosphates (mg/L) (NO ₃ , PO ₄)	-	-

⁽¹⁾ Dépassement des limites prévues en cas de conditions géographiques ou météorologiques exceptionnelles.

⁽²⁾ Pour ces paramètres, la teneur est à vérifier lorsqu'une enquête effectuée dans la zone de baignade en révèle la présence possible ou une détérioration possible de la qualité des eaux.

⁽³⁾ Ces paramètres sont à vérifier lorsqu'il y a tendance à l'eutrophisation des eaux.[1]

Tableau (14) : Critères de classement sanitaire des eaux de baignade [48]

A Les eaux de bonne qualité	B Les eaux de qualité moyenne
<ul style="list-style-type: none"> ● Au moins 80% des résultats en <i>E.coli</i> et en coliformes totaux sont inférieurs ou égaux aux nombres guides (100/100ml et 500/100ml respectivement) ; ● Au moins 95% des résultats en <i>E.coli</i> et en coliformes totaux sont inférieurs ou égaux aux nombres impératifs (2000/100ml et 10000/100ml respectivement) ; ● Au moins 90% des résultats en streptocoques fécaux sont inférieurs ou égaux au nombre guide (100/100ml) ; ● Absence d'huiles minérales, de phénols et de mousses dans au moins 95% des échantillons. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Les nombres impératifs fixés par la directive pour les <i>E.coli</i> et les coliformes totaux (2000/100ml et 10000/100ml respectivement) sont respectés dans au moins 95% des prélèvements, les conditions relatives aux nombres guides n'étant pas, en tout ou en partie, vérifiées ; ● Absence d'huiles minérales, de phénols et de mousses dans au moins 95% des échantillons.
<p>Les eaux classées en catégorie A ou B Sont conformes aux normes européennes.</p>	

C Les eaux pouvant être polluées momentanément	D Les eaux de mauvaise qualité
<ul style="list-style-type: none"> ● Les fréquences de dépassement des nombres impératifs pour <i>E.coli</i> ou les coliformes totaux sont comprises entre 5% et 33,3% ; ● Ou la présence d'huiles minérales, de phénols ou de mousses est relevée dans 5 à 33,3% des échantillons. <p>Cette pollution peut faire l'objet de mesures immédiates ou à moyen terme, permettant d'améliorer définitivement la qualité de l'eau. Il est important de noter que si moins de 20 prélèvements sont effectués pendant toute la saison sur un point, un seul dépassement du nombre impératif suffit pour entraîner le classement de la plage en catégorie C.</p>	<p>Lorsque, pour les paramètres <i>E.coli</i> ou coliformes totaux, les conditions relatives aux nombres impératifs sont dépassées au moins une fois sur trois, ou que la présence d'huiles minérales, de phénols ou de mousses est relevée dans plus d'un échantillon sur trois, l'eau correspondante est considérée comme de mauvaise qualité.</p>
<p>Les eaux classées en catégorie C ou D ne sont pas conformes aux normes européennes, et peuvent être interdites à la baignade.</p>	

X. La résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme et elle est liée à leur inéluctable évolution. Elle s'observe à divers degrés à l'égard de tous les membres d'une famille d'antibiotiques donnée. On assiste de surcroît à des multirésistances, c'est à dire au fait qu'une bactérie est résistante en même temps à plusieurs familles d'antibiotiques [106,107,108].

1. Quelques facteurs favorisants :

La prescription à grande échelle et parfois impropre d'antibiotiques fait que les bactéries évoluent constamment vers la résistance. Plusieurs études ont établi que l'apparition de la résistance est associée, d'une part, à la surconsommation d'antibiotiques et, d'autre part, à des traitements trop longs et insuffisamment dosés.

Le recours intensif à des antibiotiques dans l'élevage animal industriel (en particulier des volailles) contribue au phénomène de résistance. En milieu vétérinaire, les antibiotiques issus de la pharmacopée humaine sont utilisés sans règles strictes soit comme promoteur de la croissance, soit à des fins prophylactiques et thérapeutiques. Cette pratique très répandue de traitements antibiotiques sur une longue durée conduit inévitablement à la sélection de bactéries multirésistantes, en particulier des entérobactéries et des entérocoques. Éliminées du tube digestif des animaux, les bactéries passent dans les effluents, l'eau et, selon la chaîne alimentaire, finissent par coloniser le tube digestif de l'homme (flore intestinale). Lors de l'abattage des animaux, une contamination de la viande est quasi inévitable. Un moyen de pallier ce problème serait d'utiliser des antibiotiques différents de ceux utilisés en médecine humaine.

L'administration répétée d'antibiotiques chez l'homme ou l'animal élimine les bactéries sensibles et sélectionne les seules bactéries résistantes, lesquelles en profitent pour se développer et en donnant de nouvelles générations résistantes. L'autre phénomène important est la dissémination des gènes de résistance vers des bactéries sensibles au sein d'une même espèce mais aussi au sein d'espèces éloignées [107,108,109,110,111,112,113,114,115] .

2. Les types de résistance :

On connaît deux types de résistance :

- **Résistance naturelle :** elle est programmée sur le génome bactérien, donc fixe et constante à l'intérieur du taxon c'est-à-dire présente dans toutes les souches de l'espèce considérée. A ce titre, elle constitue un critère d'identification. Elle préexiste à l'usage des antibiotiques.
- **Résistance acquise :** consécutive à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique. Elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre : leur fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace (région , ville, hôpital...). Elle constitue un marqueur épidémiologique [107,116,117,118].

3. Les phénotypes de résistance :

Quand on étudie la sensibilité d'une souche à plusieurs antibiotiques, on détermine son phénotype de résistance aux antibiotiques. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "sauvage" ou sensible. Si des résistances acquises ont modifié sa

sensibilité, elle exprime un phénotype de résistance qu'on peut identifier et dont on doit tenter de déterminer le mécanisme. Ces phénotypes sont souvent désignés par les initiales des antibiotiques devenus inactifs : ainsi une souche résistante à la kanamycine, à la tobramycine et à la gentamycine appartient au phénotype KTG [116].

4. Le support génétique de la résistance :

La résistance naturelle est programmée dans le génome bactérien. Les modifications génétiques responsables de résistance acquise sont chromosomiques, secondaires à une mutation portant sur le chromosome ou extra-chromosomiques par acquisition de gènes.

■ **Les résistances mutationnelles :** elles sont :

- **spontanées :** elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique,
- **stables :** elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien,
- **spécifiques :** elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques à la fois,
- **rares :** le taux de mutation se situe habituellement entre 10^{-7} et 10^{-8} .

La résistance par mutation est peu répandue en clinique (moins de 20% des résistances acquises). L'usage de l'antibiotique sélectionne les souches résistantes et la parade consiste à associer les antibiotiques. Ce type de résistance est observé, entre autres, chez les mycobactéries [116,118].

■ **Les résistances extra-chromosomiques :** dont le support est un plasmide ou un transposon acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction.

- Elles sont fréquentes (plus de 80% des résistances acquises).
- Elles sont contagieuses et se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitant, même d'espèces différentes.
- Elles peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques, entraînant une polyrésistance.

La résistance plasmidique concerne la plupart des antibiotiques. Seuls y échappent les rifampicines, les polypeptides, les nitrofuranes, les quinolones et les glycopeptides. Toutes les espèces bactériennes y sont sujettes.

L'usage d'un seul antibiotique dont la résistance est codée par un gène de plasmide sélectionne les souches résistantes à toutes les molécules dont le gène de résistance se trouve sur le plasmide, ce qui entraîne la sélection rapide de souches polyrésistantes [108,109,116,118,119].

5. Mécanismes de résistance :

Pour être efficace, un antibiotique doit parvenir au contact de la bactérie, ce qui implique qu'on tienne compte, dans la prescription, des données pharmacologiques telles que la posologie, la voie d'introduction, la diffusion tissulaire et le métabolisme de la molécule. Il doit ensuite pénétrer dans la bactérie, n'y être ni détruit ni modifié, se fixer à une cible et perturber ainsi la physiologie bactérienne. Si l'une de ces conditions n'est pas remplie, l'antibiotique, même correctement administré, se révèle inefficace. Ce phénomène appelé résistance est lourd de conséquences et doit être, si possible, dépisté au laboratoire.

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques :

- en se rendant imperméables à leur pénétration ;
- en produisant des enzymes capables de les inactiver ;
- en modifiant la structure de leurs cibles [116,120].

A. Diminution de la perméabilité :

Elle concerne la membrane extérieure (pour les bactéries Gram négatif) ou la membrane cytoplasmique (pour toutes les bactéries). C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance naturelle. Il peut concerner :

- ✘ les **beta-lactamines**
- ✘ les **cyclines**
- ✘ les **phénicols**
- ✘ les **macrolides**

On peut rencontrer ce mécanisme dans la résistance mutationnelle (beta-lactamines, quinolones, aminosides, phénicols) ou dans la résistance plasmidique (tétracycline) [118,121].

B. Inactivation enzymatique :

C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance plasmidique. Il concerne particulièrement :

- ✘ les **beta-lactamines** : pénicillinases, céphalosporinases hydrolysant la molécule.
- ✘ les **aminosides** : transférases qui phosphorylent, acétylent ou adénylent certains sites de la molécule.
- ✘ les **phénicols** : transférase qui acétyle la molécule.

On peut rencontrer ce mécanisme dans la résistance mutationnelle : certaines bactéries synthétisent des faibles quantités de beta-lactamases (ce qui suggère une fonction physiologique de ces enzymes dans la vie de la cellule). Une mutation altère le gène de régulation et provoque une synthèse accrue (beta-lactamase "déréprimée") [118,121].

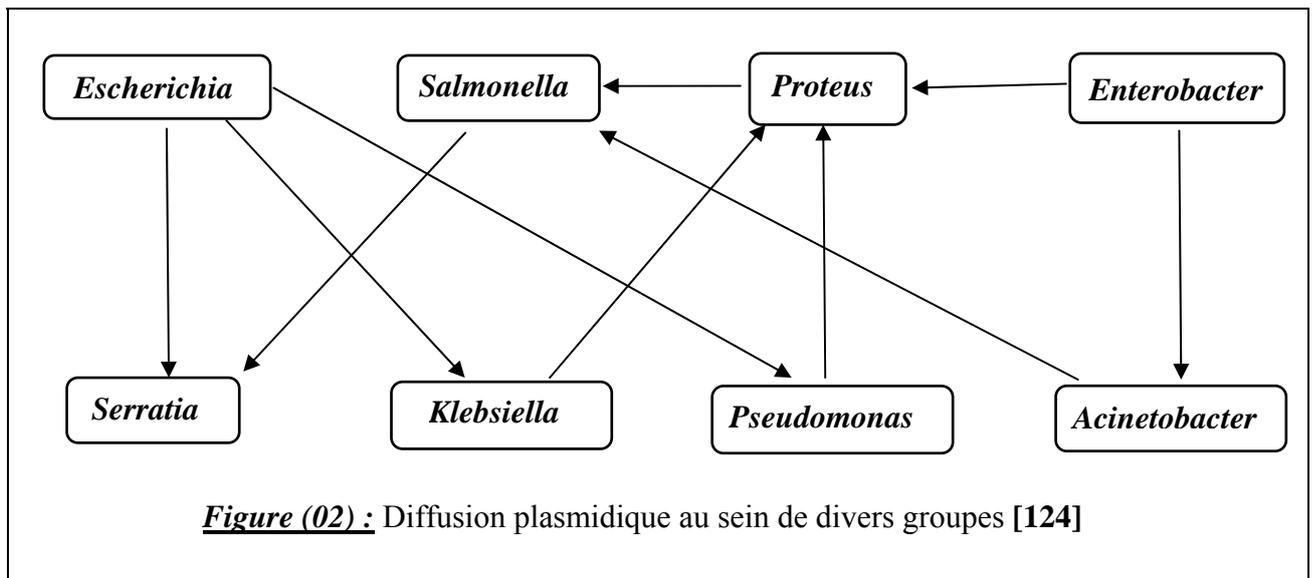
C. Modification de la cible :

C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance mutationnelle. La cible est légèrement modifiée par la substitution d'un acide aminé dans la protéine (s'il s'agit d'une enzyme ou d'une protéine ribosomale) ou la substitution d'un nucléotide (s'il s'agit de l'ARN ribosomal). Il peut concerner : les beta-lactamines, les aminosides, les macrolides et les quinolones.

On peut rencontrer ce mécanisme dans la résistance plasmidique : dans le cas des macrolides, une méthylase modifie deux nucléotides du ribosome qui perd son affinité pour l'antibiotique. Dans le cas des sulfamides ou du triméthoprim, le plasmide code pour des iso-enzymes qui ne fixent pas ces molécules [118,121].

6. Diffusion épidémique de la résistance au sein du monde bactérien :

Le transfert à médiation plasmidique du matériel génétique peut se produire de plusieurs façons, ce qui provoque la propagation de la résistance à au moins un antibiotique parmi les bactéries de la même espèce et du même genre ou d'espèces et de genres variés (Figure 02). En outre, la résistance peut se transmettre entre les bactéries Gram positif et Gram négatif [122,123].



7. Pathologie et bactéries résistantes aux antibiotiques :

De nombreuses enquêtes dans le monde ont dénoncé le mauvais usage qui a été fait des antibiotiques dans le monde médical. Il en est résulté une large prise de conscience et la conviction que cette arme précieuse n'avait pas été exploitée au mieux de nos intérêts. Il est clair en effet que l'usage intensif des antibiotiques en sélectionnant les bactéries résistantes a favorisé leur capacité d'agression et les a rendues opportunistes, c'est-à-dire capables à la suite d'une défaillance des moyens de défense de l'hôte (humain), de provoquer une infection.

Ce phénomène de la résistance aux antibiotiques est analysé maintenant dans son contexte et ses conséquences écologiques. Certaines études ont mis en évidence l'importance des bactéries R⁺ (entérobactéries) isolées dans les eaux usées, les eaux de rivière, les eaux de baignade et même les eaux d'alimentation.

En bref, ces analyses tendraient à faire admettre l'existence d'une augmentation ou d'une accumulation de bactéries résistantes dans le milieu aquatique. Ainsi, les taux des entérobactéries R⁺ qui se situe aux environs de 0,1 à 1% dans les matières fécales humaines en l'absence de traitement antibiotique, serait de 10% dans les eaux usées, de 50% dans les eaux de surface, de plus de 80% dans les eaux d'alimentation. Ces taux pourraient traduire l'existence d'une forte pression sélective dans l'environnement aquatique. Un certain nombre d'hypothèses sont avancées pour l'expliquer : avantage sélectif des bactéries résistantes car multirésistantes aux antibiotiques et à certains métaux lourds ; possibilité de transfert des caractères de résistance d'une souche à l'autre : présence dans le milieu d'entérobactéries autochtones (indigènes) résistantes aux antibiotiques. Ces hypothèses sont restées jusqu'à présent purement spéculatives.

On peut se demander si les aliments (l'eau en particulier) porteurs de bactéries résistantes aux antibiotiques (B.R.A) sont dangereux pour le consommateur. Ces risques tiendraient à l'éventuelle capacité d'implantation des B.R.A dans les flores naturelles de l'homme (tube digestif), à leur pouvoir de multiplication, enfin à leur pouvoir pathogène « opportuniste ». Il apparaît à la lumière des travaux d'écologie microbienne que la capacité des B.R.A à s'implanter dans le tube digestif n'est pas favorisée ou exaltée par leur résistance aux antibiotiques.

La résistance aux antibiotiques s'accompagne souvent d'une résistance aux métaux lourds, ce qui pourrait expliquer leur prédominance dans les rejets industriels (toxiques). Ces bactéries

résistantes sont capables d'opérer des transformations dangereuses (méthylation) à partir des métaux toxiques comme le mercure, le cadmium, le plomb, l'étain. La forme méthylée qui s'accumule dans les chaînes biologiques marines jusqu'aux poissons est 50 à 100 fois plus toxique que la forme inorganique initiale (Hg^{++}). Il serait d'un grand intérêt de connaître les conditions dans lesquelles cette transformation s'établit, au niveau de quel site : sédimentaire ou bien grâce à des hôtes biologiques comme le poisson, quels en sont les mécanismes génétiques.

La toxicité du milieu aquatique, marin en particulier, et son évolution, pourront être mieux appréhendées par une meilleure connaissance de ces phénomènes microbiologiques [03].

8. Les antibiotiques en milieu marin :

La persistance des antibiotiques dans les sédiments marins dépend de :

- la nature de l'antibiotique ;
- la nature du sédiment ;
- les conditions environnementales.

Toutefois la présence des antibiotiques dans les sédiments entraîne trois conséquences :

- la diminution transitoire d'un facteur 2 à 3 du nombre total de bactéries ;
- l'augmentation transitoire du pourcentage de bactéries sédimentaires résistantes ;
- la perturbation des cycles biogéochimiques de l'azote et du soufre [125].

I. Matériel :

- Flacons en verre de 250 ml, avec bouchon à vis métallique
- Pipettes graduées : 1 ml, 2 ml, 5ml, 10ml, 20ml, 25ml
- Tubes à essais
- Pipettes Pasteur
- Boîtes de Pétri stériles
- Appareillage de laboratoire :
 - Four Pasteur
 - Autoclave
 - Microscope optique
 - Balance de précision
 - Compteur de colonies
 - Bain-marie
 - Etuves à: 30°C ; 37°C ; et 44°C
- Milieux de culture (Annexe N°01)
- Réactifs (Annexe N°02)
- Galeries API 20E
- Disques d'antibiotiques

Avant chaque utilisation, la verrerie doit être soigneusement lavée, rincée, séchée et stérilisée au four Pasteur à 180°C pendant 2 heures .

II. Méthodes :**1. Prélèvement des échantillons :**

Un examen bactériologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté et conservé dans des conditions satisfaisantes [04,126].

1.1. Sites de prélèvement :

Le choix des sites de prélèvements est basé sur certains critères : emplacement géographique, activités à proximités à savoir urbaines, industrielles,... etc. Ainsi, les sites choisis dans le cadre de ce travail s'étendent sur la corniche de la willaya de **Annaba**. Il s'agit des plages :suivantes : **Joinoville, Saint-Cloud, Chappuis, et Belvedere** (Figure 03).

❖ Plage Joinoville :

Cette plage non surveillée, mais interdite à la baignade, car elle est confrontée à des graves problèmes de pollutions, compte tenue de sa proximité immédiate au complexe **A.S.M.I.D.A.L** (usine fabriquant des pesticides).

❖ Plage Saint-Cloud :

Plage située proche de l'agglomération. Plage assez grande qui s'étend sur 600 m. On a choisi deux points de prélèvement pour cette plage :

- ↳ le premier en face d'une forte agglomération (habitations et restaurations).
- ↳ le deuxième en face d'une clinique.

❖ Plage Chappuis :

Plage qui s'étend sur une distance de 800 m. Cette plage très surveillée, est implantée en milieu urbain où le nombre d'habitants est plus élevé que celui de la plage *Saint-Cloud*. Elle est très fréquentée en regard de l'existence d'une infrastructure à caractère lucratif et de restauration. On note un déversement d'égout directement à la mer. .

❖ Plage Belvedere :

Plage éloignée de l'agglomération, néanmoins, il existe plusieurs chantiers de construction.

1.2. Volume et fréquence des prélèvements :

Pour chaque site, un échantillon d'eau d'un volume de 250 ml est prélevé. Pour cette étude, 08 prélèvements ont été effectués dans une période allant de 28/02/2003 jusqu'au 08/02/2004, et ceci afin de cerner les quatre saisons (Tableau 15).

Tableau (15): Calendrier des différents prélèvements réalisés.

Saisons	Dates de prélèvement
<i>Hivers</i>	18 février 2003
<i>Printemps</i>	15 mars 2003
	28 avril 2003
<i>Eté</i>	02 juin 2003
	09 août 2003
<i>Automne</i>	14 septembre 2003
	02 novembre 2003
<i>Hiver</i>	08 février 2004

1.3. Mode de prélèvement :

L'échantillon destiné à l'analyse microbiologique doit être prélevé dans des conditions d'asepsie rigoureuse, et doit être le plus représentatif possible du milieu d'où il provient [04,06].

Les prélèvements sont effectués dans l'intervalle horaire allant de 9h à 10h 30, et toujours au même endroit du site.

Les flacons stérilisés et étiquetés, sont plongés sous l'eau à une profondeur de 10 à 30cm. Ils sont ouverts sous l'eau, et sont remplis jusqu'au bord, ensuite, le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport [06].

1.4. Transport et conservation des échantillons :

L'analyse bactériologique doit être effectuée le plus rapidement possible, dans un délai ne dépassant pas 8 heures, après la prise des échantillons. Au cours des périodes chaudes, quand la température extérieure est supérieure à 10°C, le transport des échantillons est effectué dans une glacière dont la température doit être entre 4 et 6°C [04,06].

2. Mesure de pH des échantillons :

Le pH est mesuré par méthode électrométrique avec l'électrode de verre. Le pH-mètre est étalonné directement en unité de pH.

L'eau à analyser est amenée au contact de l'électrode de verre, qui doit être rincée à l'eau distillée avant et après la mesure de pH de chaque échantillon. La lecture est faite après stabilisation de la valeur de pH [06].

3. Analyse microbiologique de l'eau de mer :

Actuellement, le contrôle bactériologique de l'eau est basé sur la technique de filtration sur membrane. Cependant cette technique n'est pas été utilisée dans le récent travail par manque de moyens.

Le travail a été limité sur la recherche sélective de certaines bactéries au détriment d'autres, selon la disponibilité de milieux de culture et de réactifs.

Les dilutions décimales des différents échantillons sont effectuées après le choix d'une gamme de dilutions, qui a été faite après un essai préliminaire sur des échantillons de l'eau de mer des différents sites effectués au mois de février 2003. Les dilutions retenues vont de 10^{-1} à 10^{-4} [06].

❖ préparation des dilutions :

Différentes dilutions de 10^{-1} jusqu'à 10^{-4} sont préparées avec de l'eau physiologique stérile répartie à raison de 9 ml par tube. L'échantillon d'eau de mer est agité soigneusement afin d'obtenir une suspension homogène de bactéries.

A l'aide d'une pipette stérile, prélever 1 ml de l'échantillon mère, l'introduire dans un premier tube. A partir de cette dilution 10^{-1} ainsi préparée, prélever 1 ml avec une nouvelle pipette stérile, l'introduire dans un deuxième tube, réalisant ainsi la dilution 10^{-2} , et continuer ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-4} . Il faut bien homogénéiser la solution ainsi diluée en l'aspirant et la refoulant avec la pipette.

Au fur et à mesure de chaque dilution, différents milieux sontensemencés [88].

3.1. Analyse quantitative :

3.1.1. Dénombrement de la microflore aérobique mésophile totale (germes totaux) : Méthode par ensemencement en surface sur milieu gélosé :

▪ Principe :

Un faible volume d'échantillon est réparti avec un étaleur stérile, sur la surface d'un milieu strictement défini et non sélectif. La lecture est faite après 24 heures d'incubation à 37°C [04].

▪ Milieu de culture :

La gélose tryptone-glucose-extrait de levure (T.G.E.A) [M1] permet la croissance des microorganismes aérobies et aéro-anaérobies facultatifs ne présentant pas d'exigences particulières [06].

▪ Mode opératoire : [04]

- Prélever une prise d'essai de 0,1 ml de l'échantillon à analyser, et la déposer à la surface du milieu en boîte de Pétri.
- Etaler soigneusement la goutte sur la surface du milieu.
- Procéder de même, pour les différentes dilutions : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .
- Les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

▪ Lecture :

Le comptage de micro-organismes contenus dans 1 ml d'échantillon n'est autre que le nombre de colonies comptées, multiplié par 10, et éventuellement par l'inverse du rapport de dilution [04].

Le nombre de germes totaux retenu est la moyenne arithmétique des nombres de germes trouvés pour les différentes dilutions. Les résultats sont exprimés en nombre d'unités formant colonies (U.F.C) par millilitre d'eau et sont rapportés ensuite au nombre d'U.F.C par 100 ml d'eau [06].

3.1.2. Dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale:**3.1.2.1. Dénombrement des coliformes totaux, et des coliformes fécaux :**

La méthode choisie est la colimétrie par inoculation en milieux liquides (fermentation en tubes multiples).

Cette technique d'énumération des coliformes est utilisée depuis plus de 80 ans pour le suivi de la qualité de l'eau [127].

▪ Principe :

Elle consiste en l'ensemencement de plusieurs dilutions de l'échantillon, chacune dans une série de tubes contenant un milieu de culture non véritablement sélectif, mais permettant de mettre en évidence la fermentation du lactose avec production du gaz.

Ensuite, repiquer à partir des tubes positifs sur un milieu de confirmation et incubé à 44°C. La détermination du nombre caractéristique (nombre de tubes positifs pour chaque dilution) permet l'établissement du nombre le plus probable de coliformes [04].

▪ Milieux de culture :

- Le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (B.C.P.L) simple concentration S/C et double concentration D/C [M2,M3] permet de rechercher et de dénombrer les coliformes par la fermentation du lactose et la production de gaz [02].

- Le milieu de Schubert [M4] est un milieu plus spécifique que le B.C.P.L, car il contient un inhibiteur de bactéries Gram (+) et une autre source de carbone qui est le mannitol au lieu du lactose. il permet d'identifier rapidement *Escherichia coli* par la mise en évidence de la production d'indole [104].

▪ **Mode opératoire :**

La colémetrie comporte deux temps:

- la recherche présomptive des coliformes.
- la recherche confirmative des coliformes fécaux.

Le dénombrement est effectué suivant la méthode du nombre le plus probable (N.P.P).

1) Test présomptif : dénombrement des coliformes totaux :

Le système d'ensemencement choisi consiste à ensemercer des dilutions successives de l'eau à analyser (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), à raison de 3 tubes de B.C.P.L par dilution c-à-d, ensemercer:

- 3 tubes de 10ml de bouillon à double concentration (D/C) avec 10 ml d'eau diluée à 1/10.
- 3 tubes de 10 ml de bouillon à simple concentration (S/C) avec 1 ml d'eau diluée à 1/10.
- 3 tubes de 10 ml de bouillon à simple concentration (S/C) avec 1 ml d'eau diluée à 1/100.

Tous les tubes sont munis des cloches de Durham pour mettre en évidence le dégagement du gaz.

Après inoculation, agiter pour homogénéiser sans faire pénétrer d'air dans la cloche de Durham et incuber à 37°C pendant 48 heures [04].

▪ **Lecture :**

Considérer comme positifs (c-à-d pouvant contenir des coliformes) les tubes où il se produit simultanément :

- un trouble dans toute la masse liquide
- un dégagement de gaz dans la cloche (qui doit occuper le 1/10 du volume de la cloche).
- un virage au jaune de l'indicateur coloré (la fermentation du lactose se manifeste par la production d'acide entraînant le virage du pourpre de bromocrésol au jaune).

Dénombrer dans chaque série le nombre de tubes positifs. Reporter à la table de **Mac Grady** (Annexe N°03) pour déterminer le nombre de coliformes totaux présents dans 100 ml d'échantillon. Le résultat donné par la table est multiplié par 10 [02,04].

Remarque :

Les résultats de cette première étape de recherche doivent être confirmés, car de fausses réactions peuvent se produire à ce niveau :

- De fausses réactions positives dues aux *Bacillus*, et *Clostridium* et autres bactéries non coliformes fermentant le lactose [06].
- De fausses réactions négatives en présence de nombres élevés en bactéries non coliformes [127].

2) Test confirmatif : dénombrement des coliformes fécaux :

La confirmation de la présence de coliformes est réalisée à partir des tubes d'inoculation positifs, sur un milieu plus spécifique: milieu de Schubert [06].

Ensemencer à partir de chaque tube B.C.P.L positif 2 à 3 gouttes dans un tube de milieu de Schubert muni d'une cloche de Durham, incubé à 44°C pendant 24 h [02].

▪ **Lecture :**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant simultanément: une pousse bactérienne et un dégagement du gaz dans la cloche [04].

Noter le nombre des tubes positifs et exprimer le résultat selon la table de **Mac Grady** pour déterminer le nombre le plus probable (N.P.P) de coliformes fécaux par 100 ml d'échantillon [02].

3.1.2.2. Dénombrement des streptocoques fécaux :

Ce dénombrement est fait selon la méthode par ensemencement en milieu liquide en tubes pour la détermination du N.P.P.

▪ **Principe :**

Comme pour les coliformes, ce dénombrement est basé sur l'utilisation de deux milieux liquides dits: présomptif et confirmatif [06]. Alors que le tube primaire contient déjà une certaine quantité d'azide de sodium, le repiquage à partir des tubes positifs sur un milieu nettement plus inhibiteur (plus forte concentration en azide de sodium, et présence d'éthyle violet) ne permet que le développement des streptocoques fécaux [04].

▪ **Milieux de culture :**

- Le milieu de Rothe simple concentration (S/C) et double concentration (D/C) [M5,M6] contient comme agent sélectif l'azide de sodium qui est un inhibiteur des bactéries Gram (-) [104].

- Le milieu de Litsky [M7] contient en plus de l'azide de sodium une faible concentration en cristal violet qui freine le développement d'autres bactéries Gram (+), alors qu'il ne gêne pas celui des streptocoques. Les autres composants du milieu assurent un développement optimal des streptocoques [04,128].

▪ **Mode opératoire :**

Cette recherche est effectuée par deux tests :

1) Test présomptif :

Ce test consiste en l'inoculation du milieu de Rothe comme suit :

- Ensemencer 3 tubes de 10 ml du bouillon à D/C avec 10ml d'eau diluée à 1/10.
- Ensemencer 3 tubes de 10 ml du bouillon à S/C avec 1 ml d'eau diluée à 1/10.
- Ensemencer 3 tubes de 10 ml du bouillon à S/C avec 1 ml d'eau diluée à 1/100 [02].

Homogénéiser soigneusement le contenu des tubes, en assurant que la teinte du bouillon est uniforme en haut et en bas du tube. Incuber à 37°C pendant 48 h.

Les tubes présentant un trouble microbien sont présumés contenir des streptocoques fécaux et sont soumis au test confirmatif [04].

2) Test confirmatif :

Après homogénéisation des tubes positifs, prélever de chacun d'eux, 2 à 3 gouttes et les introduire dans des tubes contenant le milieu de Litsky. Incuber à 37°C pendant 48h [04].

▪ **Lecture :**

L'apparition d'un trouble microbien confirme la présence de streptocoques fécaux. Parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble [04].

Noter le nombre de tubes positifs dans chaque série et se rapporter à la table de **Mac-Grady** pour déterminer le N.P.P de streptocoques fécaux présents dans 100 ml d'eau. Le résultat donné par la table est multiplié par 10 [02].

3.1.2.3. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies (*Clostridium* sulfito-réducteurs) :

La recherche est réalisée selon la méthode par incorporation en milieu gélosé.

▪ **Principe :**

Les bactéries anaérobies, sulfito-réductrices ont la propriété de réduire le sulfite de sodium en sulfure, cette propriété est mise à profit dans les milieux de culture solides préparés, avec une composition établie en tenant compte d'un volume déterminé d'eau incorporée.

Après destruction des formes végétatives, par chauffage à 80°C, en ne laissant subsister que les formes sporulées, l'échantillon est incorporé à un milieu de base fondu, régénéré, additionné de sulfite de sodium et de sels de fer. Après solidification et incubation, la présence des germes sulfito-réducteurs se traduit par un halo noir autour des colonies, dû à la formation de sulfure de fer [04,23].

▪ **Milieu de culture :**

La gélose viande-foie (V.F) [M8] additionnée de sulfite de sodium et d'alun de fer permet le dénombrement des spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs, pouvant être présents dans l'eau à analyser [128].

▪ **Mode opératoire : [04,105]**

- Agiter soigneusement l'eau à analyser.
- Répartir à l'aide d'une pipette graduée stérile 25 ml d'eau dans des tubes stériles à raison de 5 ml par tube.
- Porter les tubes au bain-marie à 80 °C, pendant 10 min.
- Refroidir immédiatement à l'eau du robinet.

- Faire préalablement fondre 250 ml du milieu viande-foie, ajouter après refroidissement 12,5 ml de la solution de sulfite de sodium à 5%, et 2,5 ml de la solution d'alun de fer à 5%, mélanger sans faire des bulles.
- Couler la gélose viande-foie sulfitée, dans chacun des tubes contenant l'eau traitée, remplir et mélanger doucement sans incorporer d'air. Laisser solidifier sur la paillasse
- Incuber à 37°C pendant 48h avec une première lecture à 24h.

▪ **Lecture et expression des résultats :**

Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir. La taille des colonies varie selon l'espèce bactérienne: *Clostridium perfringens* produit des colonies de grandes tailles (3 à 5 mm de diamètre en 18h [04,128]).

Le nombre de colonies par tube est déterminé après 48h. L'addition des 5 chiffres obtenus, donne le nombre de spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs contenus dans 25 ml de l'échantillon mère. Le résultat final est exprimé par 100 ml d'eau analysée [02].

3.2. Recherche des germes pathogènes :

La recherche des germes pathogènes n'est pas entreprise en pratique courante dans les analyses de routine des eaux; elle a une importance particulière lors d'enquêtes épidémiologiques. Dans cette étude, on s'intéresse à la recherche de certains germes pathogènes responsables d'infections d'origine hydrique, afin d'évaluer les niveaux de contaminations possibles, et éventuellement d'évaluer la résistance vis-à-vis des antibiotiques.

Les germes recherchés sont choisis dans les limites des moyens disponibles (milieux de culture, système d'identification et antibiotiques). Les micro-organismes pathogènes recherchés sont: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, Staphylocoques pathogènes et *Pseudomonas*.

3.2.1. Recherche d'*Escherichia coli* pathogène :

▪ **Principe :**

L'eau estensemencée par étalement en surface sur un milieu non sélectif. La lecture est faite après 24 à 48 h d'incubation [02].

▪ **Milieu de culture :**

La gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (B.C.P) [M9] est un milieu non sélectif, utilisé pour la détection et l'isolement des Entérobactéries. Ce milieu permet ainsi la pousse de bactéries non exigeantes. La fermentation du lactose révélée par le virage de l'indicateur coloré de pH, le pourpre de bromocrésol, qui en milieu acide devient jaune, est le critère de différenciation.

Ce milieu contient des inhibiteurs contre l'envahissement de la boîte par les nappes de *Proteus* [129].

▪ **Mode opératoire :**

Prélever 0,1 ml d'eau de mer, déposer à la surface de gélose et étaler à l'aide d'un étaleur stérile. Incuber à 37°C pendant 24 à 48h [04].

▪ Lecture :

La fermentation du lactose se traduit par le virage du pourpre de bromocrésol au jaune.

- Les colonies lactose (+) sont jaunes.
- Les colonies lactose (-) sont bleues violacées [129].

Parmi les colonies lactose (+) :

- ☒ *Klebsiella* et certains *Enterobacter* donnent des colonies muqueuses.
- ☒ La plupart des *E. coli* et des *Citrobacter* donnent des colonies transparentes non muqueuses [130].

☒ Isolement :

L'isolement se fait à partir des colonies lactose positives, ayant les caractéristiques d'*E. coli*.

Un premier repiquage est réalisé par ensemencement en stries, d'une colonie sur une gélose B.C.P. Après 18 à 24h d'incubation à 37°C, un deuxième repiquage est effectué sur le même milieu, dans le but de purifier la culture. Ainsi, les cultures pures obtenues seront soumises à une identification biochimique [02].

☒ Identification d'*E. coli*:**1. Coloration de Gram :****▪ Principe :**

Cette coloration permet de diviser les bactéries en deux groupes: Gram positifs et Gram négatifs. Celles qui retiennent le violet de Gentiane après l'action de l'alcool sont Gram (+), celles qui sont décolorées et prennent ensuite la couleur d'un second colorant sont dites Gram (-).

Cette méthode est basée sur la différence de structure de la paroi chez les deux groupes: fortes proportions de lipides (20%) chez les Gram (-), faibles proportions chez les Gram (+) [131].

▪ Technique américaine dite Gram Hucker :

- Préparer un frottis à partir d'une culture bactérienne pure, et la fixer à la chaleur par passages répétés sur la flamme du bec Bunsen.
- Recouvrir le frottis de violet de Gentiane; laisser agir 1 minute, rincer à l'eau.
- Verser du Lugol et laisser agir pendant 1 minute; rincer à l'eau.
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 min ; rincer à l'eau.
- Recolorer avec de la fuschine pendant 10 à 30 secondes; rincer à l'eau.
- Sécher au dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Observer à l'objectif (x100) à immersion après dépôt d'une goutte d'huile de cèdre.

Les bactéries "Gram positif" apparaissent en violet foncé, tandis que les bactéries "Gram négatif" se colorent en rose ou rouge [88].

2. Recherche de l'oxydase :

▪ **Principe :**

L'oxydase : enzyme intervenant dans divers couples d'oxydo-réduction. La recherche de la phénylène-diamine-oxydase qui agit sur un substrat incolore, entraîne la formation d'une semiquinone rouge. Cette dernière très instable, s'oxyde rapidement en donnant un composé noirâtre [128].

▪ **Technique :**

- Déposer sur une lame propre un disque d'oxydase, et l'imbiber avec une goutte d'eau physiologique stérile.
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur et l'étaler sur le disque. En présence d'oxydase, une coloration violet-brun apparaît immédiatement ou en quelques secondes puis devient noire [04,88].

Si le test oxydase est négatif, et si l'examen microscopique montre la présence de bacilles à Gram (-), la présence de coliformes est confirmée donc, on continue la recherche et l'identification d'*E.coli* en faisant les tests suivants :

3. Recherche de la fermentation du glucose ; Recherche de l'utilisation du lactose; Recherche de la production d'hydrogène sulfuré; Recherche de la production du gaz;

Pour effectuer ces recherches, on utilise le milieu Hajna-Kligler (K.I.A) [M10] ou le milieu T.S.I (triple sugar iron) [M11]; ce dernier permet en plus, la recherche de la fermentation du saccharose.

▪ **Principe :**

Deux glucides sont trouvés dans le milieu de Hajna-Kligler, le glucose et le lactose. L'utilisation des glucides par une bactérie suit toujours la loi de la diauxie: quand une bactérie est capable de cataboliser deux glucides dont le glucose, elle utilise dans un premier temps le glucose jusqu'à son épuisement dans le milieu. Elle utilisera ensuite le deuxième glucide (ici le lactose).

La technique particulière d'ensemencement du milieu permet de distinguer les phénomènes selon leur lieu, pente ou culot [129].

En plus des deux sucres, le milieu K.I.A contient un indicateur de pH, le rouge de phénol, qui vire au jaune par acidification du milieu, due à l'utilisation des sucres.[44] Par ailleurs, la réduction du thiosulfate en anaérobiose par certaines Entérobactéries se traduira par la formation du sulfure de fer noir en présence du citrate ferrique [128].

▪ **Technique :**

A partir d'une culture pure et jeune, ou à partir d'une suspension bactérienne, ensemercer abondamment la pente par stries, puis le culot par piqûre centrale. Incuber à 37°C [132].

▪ Lecture :**1) Utilisation des sucres :**

Sur la pente : l'utilisation de la source de carbone est aérobie. Le principal acide produit est le dioxyde de carbone.

On peut distinguer plusieurs cas de figure :

- Les bactéries glucose (-) alcalinisent le milieu en utilisant les peptones.
- Les bactéries glucose (+) et lactose (+) acidifient le milieu.
- Les bactéries glucose (+) et lactose (-) acidifient le milieu dans un premier temps par utilisation du glucose. le glucose étant en faible concentration il sera rapidement épuisé. Les bactéries utilisent les peptones, ce qui conduit à une alcalinisation du milieu.

Dans le culot : l'utilisation de la source de carbone est anaérobie. Les principaux acides organiques produits sont non volatils ; ils restent enfermés dans la gélose.

- Les bactéries glucose (-) laissent le milieu alcalin en utilisant les peptones. Ces bactéries sont en général aérobies strictes, et la culture sera normalement nulle dans le culot.
- Les bactéries glucose (+) et lactose (+) acidifient le milieu.
- Les bactéries glucose (+) et lactose (-) acidifient dans un premier temps le milieu par utilisation du glucose. Comme sur la pente, le glucose est en faible concentration et il sera rapidement épuisé. Les bactéries utiliseront alors les peptones en alcalinisant le milieu. Cependant les acides produits par fermentation sont des acides relativement forts et le milieu reste acide.

2) Production d'H₂S :

La présence de thiosulfate de sodium et de citrate ferrique dans le milieu K.I.A permet d'apprécier la capacité des bactéries à produire de l'H₂S à partir du thiosulfate. Cette production est matérialisée par la formation à la limite du culot et de la pente d'un précipité noir de sulfure de fer. Dans le cas de dégagement très abondant, toute la partie inférieure du tube peut être noircie [129].

3) Production de gaz :

Elle se manifeste par l'apparition des bulles de gaz dans le culot, parfois même une surélévation de la gélose [132].

▪ Résultats :

- a) Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose (+) : culot jaune et pente jaune.
- b) Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose (-) : culot jaune et pente rouge.
- c) Bactérie de type oxydatif du glucose ou glucose (-) et lactose (-) : culot rouge et pente rouge.
- d) Bactérie de type oxydatif du glucose et lactose (+) : culot rouge et pente jaune. Ces bactéries sont aérobies strictes : le culot ne doit pas présenter de culture et sera donc rouge. La pente peut présenter une culture et sera jaune si l'acidification est suffisante et rouge dans le cas contraire [129].

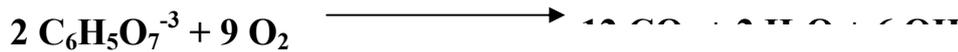
4. Utilisation du citrate:**▪ Principe :**

Ce test détermine la capacité qu'a une bactérie d'utiliser le citrate comme une seule source de carbone.

Le milieu utilisé est le milieu citrate de Simmons [M12]. Il contient le citrate de sodium comme source de carbone, et le phosphate d'ammonium comme source d'azote [132].

L'utilisation du citrate comme unique source de carbone, est une utilisation aérobie et se traduira par une alcalinisation du milieu.

L'équation de l'oxydation par respiration aérobie du citrate est: [129].



▪ **Technique :**

L'ensemencement de la pente se fait par une strie longitudinale, au fil droit, à partir d'une suspension bactérienne. Ne pas visser le bouchon à fond, afin de permettre les échanges gazeux. Incuber pendant 24 heures voire 3 à 4 jours, à 37°C.

▪ **Lecture :**

Seules les espèces capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone et d'énergie, cultiveront sur le milieu citrate de Simmons. Elles possèdent une enzyme perméase [132].

- Les bactéries citrate (+) alcalinisent le milieu entraînant le virage de l'indicateur de pH (le bleu de bromophénol) au bleu.
- Les bactéries citrate (-) ne donnent aucune culture et la couleur du milieu reste inchangée [129].

5. Fermentation du mannitol et mise en évidence de la mobilité :

▪ **Principe :**

Cette étude se fait sur le milieu mannitol mobilité [M13], qui contient du mannitol et un indicateur de pH : le rouge de phénol [132].

▪ **Technique :**

L'ensemencement se fait par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit. Incuber pendant 24 heures à 37°C [129].

▪ **Lecture :**

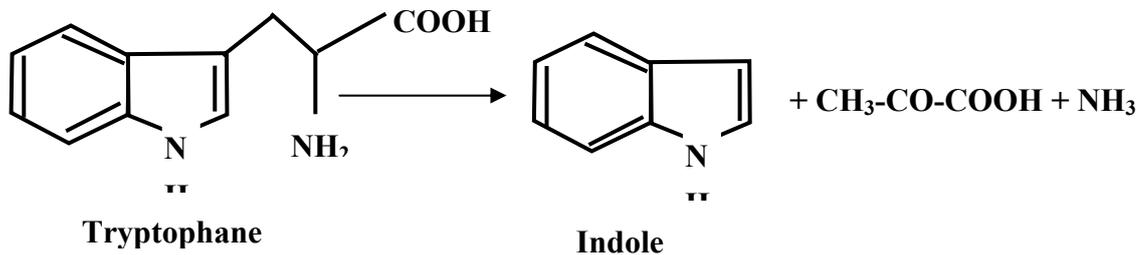
La fermentation du mannitol entraîne le virage de l'indicateur de pH au jaune, par acidification du milieu.

La mobilité de la bactérie se traduit par la formation d'un voile autour de la piqûre [132].

6. Recherche de l'indole :

▪ **Principe :**

Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole grâce à une tryptophanase, la culture est effectuée sur un milieu riche en tryptophane: l'eau peptonée exempte d'indole [M14]. L'indole produit sera révélé par le réactif de Kovacs [128].



▪ **Technique :**

Ensemencer un tube d'eau peptonée exempte d'indole. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, ajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs, agiter légèrement et laisser le réactif remonter à la surface. La lecture est immédiate. Lorsqu'il y a production d'indole, ce composé est extrait de la culture par le réactif qui se rassemble en une couche rose ou rouge à la surface. Si la coloration de réactif est inchangée, la réaction indole est négative [02].

**7. Etude de la voie de fermentation du glucose : test Voges Proskauer (VP)
- Rouge de méthyle (RM):**

▪ **Technique :**

Ensemencer largement le milieu Clark et Lubs [M15]. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, partager la culture en deux tubes l'un pour le test VP et l'autre pour le test RM.

7.1. Test RM :

▪ **Principe :**

Ce test détermine si la bactérie suit la voie des acides mixtes quand la fermentation du glucose conduit à la production de nombreux acides organiques plus ou moins forts (acides : succinique, malique, oxalique, acétique, butyrique, formique...), du CO₂ acide faible et volatil. Le test RM consiste à apprécier le pH du milieu après 24 heures de culture, par un indicateur de pH qui est le rouge de méthyle. Cet indicateur est jaune à pH >7 et rouge à pH <4,5 [129].

▪ **Lecture :**

Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle.

- Une réaction RM (+) se traduit par une coloration du milieu au rouge, ce qui signifie une forte acidification. Donc la bactérie suit la voie des acides mixtes, elle est dite RM (+).
- Une réaction RM (-) se manifeste par coloration du milieu au jaune, ce qui indique une faible alcalinisation, due à la production d'acides organiques relativement faibles et plutôt du CO₂, par la voie butane-diolique. La bactérie est dite RM (-).[129].

7.2. Test Voges Proskauer :

Le carbonate d'ammonium formé alcalinise les milieux.

La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation du milieu, due à l'utilisation de l'urée comme source d'azote, par la bactérie [128].

▪ **Lecture :**

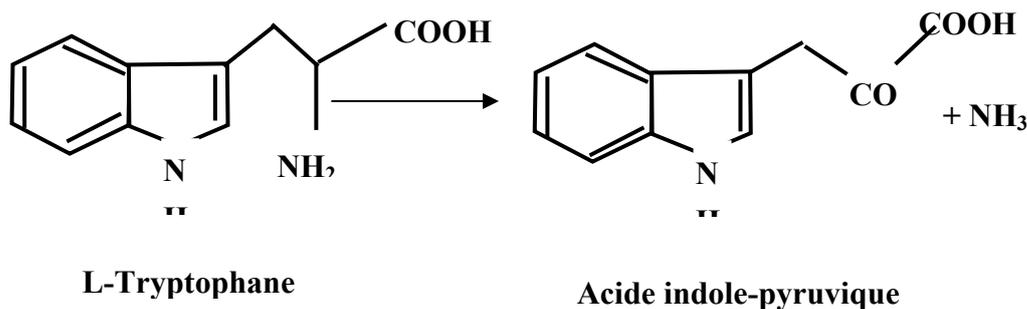
La présence d'uréase se traduit par le virage de l'indicateur de pH, le rouge de phénol, au rouge violacé ou au rose-rouge. Ce virage est dû à l'alcalinisation du milieu.

Une réaction uréase (-) est déduite, si la coloration du milieu ne change pas, ou vire vers le jaune citron. [02].

8.2. Recherche de la T.D.A :

▪ **Principe :**

La désaminase agit sur le L-tryptophane en donnant l'acide indole-pyruvique :



L'acide indole pyruvique donne avec le perchlorure de fer une coloration brune rouge [128].

▪ **Lecture :**

Ajouter 2 gouttes du réactif de T.D.A: le perchlorure de fer dilué au 1/3.

- Une réaction T.D.A (+) se manifeste par une coloration brun-rouge avec présence d'un précipité.
- Une réaction T.D.A (-) est constatée si la coloration du milieu est jaune orangée [02].

9. Dégradation des acides aminés: recherche des (lysine, ornithine) décarboxylases : LDC et O.D.C :

▪ **Principe:**

Ce test détecte la capacité qu'a une bactérie de produire des décarboxylases (L.D.C et O.D.C), enzymes qui décarboxylent respectivement la lysine et l'ornithine en cadavérine et putrescine.

Le test est réalisé sur des milieux liquides contenant le glucose, l'acide aminé considéré et l'indicateur de pH: le pourpre de bromocrésol.

Le principe de ce type de test est le suivant: dans un premier temps, les bactéries fermentent le glucose et le milieu s'acidifie. Dans un deuxième temps, les enzymes actifs sur les acides aminés mentionnés, et dont l'action est favorisée par le pH acide, forment à partir des acides aminés des substances alcalines. L'indicateur de pH devient jaune à pH=5,4, et violet à pH=7.

A noter qu'il faut prévoir un témoin qui, contient seulement le glucose et l'indicateur de pH. Ce témoin doit devenir et rester jaune [132].

▪ **Technique :**

Ensemencer deux à 3 gouttes de la suspension bactérienne, trois tubes contenant respectivement:

- milieu Moëller + lysine (L.D.C) [M17]
- milieu Moëller + ornithine (O.D.C) [M18]
- milieu Moëller (témoin).

Recouvrir le milieu d'une couche de vaseline stérile pour créer l'anaérobiose. Incuber à 37°C pendant 24 heures [132].

▪ **Lecture :**

- Un milieu mauve pâle à violet foncé avec culture, indique la présence d'une décarboxylase.
- Un milieu jaune montre la fermentation du glucose et l'absence d'une décarboxylase [133].

10. Recherche de la β –galactosidase :

C'est une recherche complémentaire à l'étude de la dégradation du lactose; elle est encore appelée test ONPG (orthonitrophényl- β -D- galactopiranoside) [88].

▪ **Principe :**

Le test ONPG permet de détecter l'enzyme capable de scinder la molécule du lactose en glucose et galactose.

Son principe repose sur le fait que l'ONPG, analogue structural du lactose, incolore s'hydrolyse par l'ONPG hydrolase, en galactose, et en orthonitrophénol, composé soluble jaune [88,128].

▪ **Technique :**

Préparer une suspension bactérienne laiteuse dans 0,5 ml d'eau physiologique stérile. Plus la suspension sera dense, plus rapide sera la réaction

Ajouter un disque d'ONPG, et incuber à 37°C jusqu'à 24 heures au maximum. La réaction peut se montrer positive pour des temps d'incubation variant entre quelques minutes et 24 heures [88].

▪ Lecture :

- Une coloration jaune citrine indique un test ONPG (+).
- Une absence de coloration signifie un test ONPG (-) [88].

11. Recherche des enzymes respiratoires :**11.1. Recherche de la catalase :****▪ Principe :**

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène, selon la réaction suivante:



La catalase est synthétisée par la plupart des bactéries aérobies, elle élimine l'H₂O₂ produit au cours du métabolisme aérobie en empêchant son accumulation, vue sa létalité pour la cellule bactérienne [132].

▪ Technique :

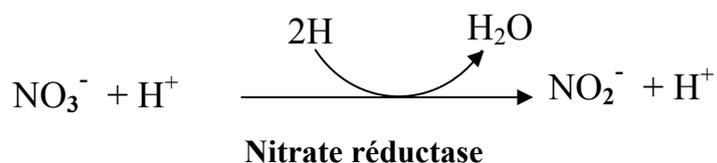
Sur une lame porte-objet, déposé une goutte d'H₂O₂ à 10 volumes; puis dissoudre une colonie de la bactérie, prélevée sur la culture en milieu gélosé [88].

▪ Lecture :

La présence de la catalase se marque par un dégagement immédiat des bulles gazeuses [132].

11.2. Recherche de la nitrate réductase :**▪ Principe :**

Certaines bactéries peuvent utiliser les glucides en anaérobiose en présence d'un accepteur d'hydrogène qui peut être l'ion NO₃. Ces bactéries possèdent une enzyme spéciale, la nitrate réductase, qui catalyse la réduction des nitrates (NO₃⁻) en nitrites (NO₂⁻), elle est recherchée selon la réaction de **Griess** : [80]

**▪ Technique :**

Ensemencer un tube de bouillon nitraté (1‰ de KNO₃) [M19] à partir de la suspension bactérienne. Incuber pendant 24 heures à 37°C [80].

▪ Lecture :

Après avoir vérifié la présence de culture ajouter 4 gouttes de chacun des réactifs de Griess :

Nit I et Nit II. Ces réactifs se combinent à tout nitrite présent pour former un colorant rouge grenadine.

- L'apparition d'une telle coloration ou une coloration rose est signe de transformation de nitrates en nitrites. L'espèce est alors, nitrate réductase (+).
- L'absence de coloration ne signifie pas obligatoirement que l'espèce est NR (-). Elle peut signifier deux cas :
 - a) les nitrates n'ont pas été réduits ;
 - b) les nitrites sont formés, mais ont été ensuite, réduits, en azote, c-à-d que la bactérie a dépassé le stade de nitrites

Pour distinguer entre ces deux possibilités, on procède à un test confirmatif, c'est la réaction de **Zoo-Bell**.

Il consiste à tester le milieu pour la présence de nitrates en ajoutant une pincée de poudre de zinc, réducteur de nitrates.

- s'il persiste de nitrates dans le milieu, le zinc va les réduire en nitrites, et la coloration apparaît, l'espèce sera alors définitivement NR(-)
- si au contraire, les nitrites ont été dégradés, le milieu reste incolore, et l'espèce est dite alors NR(+) [132,133].

3.2.2. Recherche de *Salmonella* et de *Shigella* :

▪ **Principe:**

La méthode de recherche des ces deux bactéries, découle de deux données :

- d'une part leur présence en nombre relativement faible dans les eaux, ainsi que leur difficulté d'y survivre.
- d'autre part, l'existence habituelle d'un nombre important de germes d'accompagnement d'origine fécale (coliformes, streptocoques) ou non (*Pseudomonas*, *Achromobacter*,...etc). Ces germes ont tendance à supplanter les germes pathogènes, qui disparaissent rapidement.

Ces constatations entraînent l'obligation d'utiliser des milieux d'enrichissement sélectifs dans le but d'inhiber le développement des autres bactéries [04].

▪ **Milieux de culture :**

a) milieu d'enrichissement :

Le bouillon au sélénite (S.F.B) ou milieu de Leifson [M20], ensemencé avec un produit polymicrobien renfermant des *Salmonella*, permet d'augmenter la proportion de ces derniers et d'inhiber la croissance des bactéries coliformes et des entérocoques dans les 12 heures suivant le début de l'incubation; ensuite, l'action inhibitrice diminue lentement. *Salmonella* et *Proteus* en revanche sont peu inhibés dès le début [134].

b) milieux d'isolement :

-La gélose Hektoen [M21] : la présence de l'extrait de levure, de sucres et de peptones dans ce milieu favorise la croissance de *Salmonella* et de *Shigella* ; des sels biliaires assurent le pouvoir

sélectif en limitant le développement des coliformes et de *Proteus* [128].

Le milieu Hektoen contient trois types de glucides: la saliciline, le saccharose et le lactose. L'orientation de l'identification des colonies isolées est fondée sur l'attaque de ces trois glucides, les Salmonelles et les Shigelles n'attaquant aucun de ces glucides.

Un autre caractère biochimique que l'on peut suivre sur ce milieu est la production d'H₂S à partir de thiosulfate. Elle se traduit par l'obtention des colonies à centre noire, coloration due à la formation de sulfate de fer. Deux indicateurs sont présents dans le milieu: le bleu de bromothymol, et la fuschine acide qui se colore en présence d'aldéhyde, on observe alors une teinte saumonée si la souche utilise un ou plusieurs glucides présents [129].

-La gélose *Salmonella-Shigella* (S-S) [M22] : ce milieu contient trois inhibiteurs : sels biliaires, vert brillant et forte concentration en citrate de sodium. Ceux-ci empêchent la pousse de toutes bactéries Gram (+), et rendent difficile la croissance des bactéries Gram (-) autres que *Salmonella* et *Shigella*. Le milieu contient du lactose dont la fermentation est révélée par le virage de l'indicateur coloré, le rouge neutre, à sa teinte acide. Il contient aussi de thiosulfate à partir duquel les bactéries qui en sont capables de pousser peuvent produire H₂S, qui sera révélé par le citrate ferrique. Si la bactérie produit l'H₂S, en présence du fer III, un précipité noir se forme au centre de la colonie [129].

▪ **Mode opératoire :**

La recherche de *Salmonella* et de *Shigella* comporte plusieurs étapes:

- 1- **Enrichissement** : introduire 1 ml de l'échantillon d'eau dans 10 ml de S.F.B. Incuber à 37°C pendant 24h [02].
- 2- **Isolement** : à partir du bouillon d'enrichissement, effectuer des isolements sur les deux milieux: S-S et Hektoen. Incuber à 37°C pendant 24 à 48h [04]
- 3- **Lecture** : après 24heures, il est possible de différencier les colonies à lactose (+), et au bout de 36 à 48h, toutes les colonies ont généralement leurs aspects caractéristiques selon le milieu d'isolement [04]. Les bactéries seront suspectées sur la base de l'aspect des colonies sur chacun des milieux comme il sera montré dans les tableaux 16 et 17.
- 4- **Identification** : tout type de colonies dont l'aspect est caractéristique ou douteux, doit être soumis à une confirmation [04] Pour cela, on procède aux mêmes tests d'identification que ceux réalisés pour la recherche d'*E.coli*.

Tableau (16): Lecture sur la gélose S-S [133]

Aspects des colonies	Signification biochimique	Bactéries suspectes
colonies rouges	Lactose (+) H ₂ S (-)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterobacter</i> • <i>Klebsiella</i> • Autres coliformes (<i>E.coli</i>)

colonies rouges à centre noir	Lactose (+) H ₂ S (+)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Citrobacter freundii</i> • <i>Arizona</i>
colonies incolores transparentes	Lactose (-) H ₂ S (-)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella</i> H₂S (-) • <i>Shigella</i> • <i>Serratia</i> • <i>Alkalescens</i> • <i>E. Hafniae</i> • <i>Proteus morganii</i>
colonies incolores à centre noir	Lactose (-) H ₂ S (+)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella</i> H₂S (+) • <i>Proteus vulgaris</i> • <i>Proteus mirabilis</i>

Tableau (17): Lecture sur la gélose Hektoen [04,133]

Aspects des colonies	Signification biochimique	Bactéries suspectes
colonies jaune saumon	Saccharose et/ou lactose et/ou salicine positives H ₂ S (-)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>E.coli</i> • <i>Citrobacter diversus</i> • <i>Klebsiella</i> • <i>Enterobacter</i> • <i>Serratia</i> • <i>Arizona</i> • <i>Levinea</i> • <i>Yersinia</i>
colonies jaune saumon à centre noir	Saccharose et/ou lactose et salicine positives H ₂ S (+)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Citrobacter freundii</i> • <i>Proteus vulgaris</i>
colonies vertes ou bleuâtres	Saccharose et lactose et salicine négatives H ₂ S (-)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Shigella</i> • <i>Salmonella</i> à H₂S (-) • <i>Providentia</i> • <i>Proteus morganii</i> • <i>Proteus rettgeri</i>
colonies vertes bleuâtres à centre noir	Saccharose et lactose et salicine négatives H ₂ S (+)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella</i> • <i>Proteus mirabilis</i>

Remarque :

Les *Pseudomonas* peuvent se développer sur la gélose Hektoen, en donnant des petites colonies bleu brunâtre avec éventuellement un centre noir. Le Vibriion cholérique donne des colonies jaune rosé [04].

3.2.3. Recherche du Vibriion cholérique et des *Vibrio* :

Il est rare que la recherche du Vibriion cholérique dans les eaux en général présente un intérêt. Par contre, quand une épidémie risque de se propager par la présence de la maladie, il est utile de procéder à des contrôles dans les eaux de surfaces qui peuvent être souillées par les selles de ces malades [04].

▪ Principe :

Après enrichissement en milieu hypersalé, et après isolement d'une part sur un milieu non sélectif, d'autre part sur un milieu sélectif, l'identification est basée essentiellement sur des épreuves immunologiques [04].

▪ Milieux de culture : [128]**a) milieu d'enrichissement :**

L'eau peptonée alcaline (E.P.A) [M23] freine la pullulation de la microflore secondaire qui risque de gêner l'isolement.

b) milieux d'isolement :

-Gélose nutritive (G.N) [M24] : utilisée comme milieu non sélectif pour l'isolement du vibron cholérique.

-Gélose hyperalcaline [M25] : la forte alcalinité du milieu inhibe largement les entérobactéries dans l'eau d'où son utilisation comme milieu d'isolement sélectif.

▪ Mode opératoire : [04,135]**1- Enrichissement :**

Ajouter 1 ml de l'eau à analyser dans un tube de 10 ml d'E.P.A. Incuber à 37°C pendant 3h. Prélever en surface et ensemer un nouveau milieu d'enrichissement. Incuber à 37°C pendant 3h.

2- Isolement :

Prélever à la surface du dernier milieu d'enrichissement et ensemer une boîte de GN, et une boîte de gélose hyperalcaline. Incuber à 37°C pendant 24h.

3- Identification :

Les colonies de Vibron sont fines, blanches sur gélose hyperalcaline, et fines transparentes sur G.N. [24]81. L'identification est faite sur des colonies provenant de l'un et de l'autre de ces milieux comme suit :

- Un examen microscopique entre lame et lamelle pour examiner la morphologie des bactéries : forme incurvée, flagelle polaire unique, ainsi que la mobilité.
- Un examen microscopique après coloration de Gram montre que le bacille cholérique est Gram négatif.
- Une recherche de l'oxydase: le Vibron est oxydase (+).
- Une galerie biochimique qui pourra être une API 20E ou de préférence une API NE.
- Un sérotypage : c'est la confirmation par des épreuves d'agglutination, pratiquées à l'aide de sérums agglutinants, présentés commercialement sous forme lyophilisée ou liquide, polyvalents ou monovalents.

Cette dernière étape n'a pas été effectuée à cause de la non disponibilité des sérums agglutinants.

3.2.4. Recherche des staphylocoques pathogènes :

C'est surtout dans les eaux de baignade, que cette recherche présente un intérêt pratique [04].

▪ **Principe :**

Après enrichissement en milieu contenant du tellurite de potassium comme inhibiteur, la culture est faite sur un milieu de Chapman. Ce milieu, du fait de la haute concentration en chlorure de sodium inhibe le développement des germes Gram (-) et certaines bactéries Gram (+) [128].

▪ **Milieus de culture :**

a) milieu d'enrichissement :

Le bouillon de Giolitti Cantoni (G.C) [M26] additionné de tellurite de potassium à 0,8%, dont l'action du tellurite permet le développement sélectif de *Staphylococcus* [02].

b) milieu d'isolement :

Le milieu Chapman [M27] est un milieu sélectif qui contient de fortes concentrations en NaCl (75 g/l) permettant ainsi la croissance des germes halophiles et halotolérants, dont le genre *Staphylococcus*. Il permet aussi d'étudier la fermentation du mannitol mise en évidence par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol [129].

c) milieux d'identification :

-Le bouillon cœur-cerveau (B.H.I.B) [M28] est bien adapté à la croissance des micro-organismes, quelque soit leur mode respiratoire (aérobie ou anaérobie) [134].

-La gélose Mueller-Hinton [M29] est utilisée pour réaliser le test à la bacitracine dans le but de différencier les staphylocoques des microcoques.

▪ **Mode opératoire :**

1- Enrichissement :

Préparer d'abord le milieu d'enrichissement par addition de 15 ml de tellurite de potassium à 0,8% dans un flacon de 250 ml de bouillon de Giolitti Cantoni. Ensemencer 3 tubes de 15 ml de ce milieu avec 1ml des dilutions (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2}). Incuber à 37°C pendant 24 à 72 heures. Après la période d'incubation, les tubes ayant virés au noir seront considérés comme positifs [02].

2- Isolement :

À partir des tubes d'enrichissement positifs, effectuer des isolements sur milieu de Chapman. L'ensemencement doit être massif, en stries serrées, ou par inondation. Incuber à 37°C pendant 24 à 36h [128,129].

3- Lecture :

- Les colonies de *Staphylococcus aureus* sont de taille importante, elles s'entourent d'un halo jaune dû à l'attaque du mannitol, et élaborent souvent leur propre pigment dont la production s'accroît après la sortie de l'étuve [04,128].

- Les autres espèces de *Staphylococcus* donnent des colonies généralement plus petites, rosées et n'entraînent pas de virage du milieu.

Le milieu de Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus*, une confirmation par des tests plus spécifiques reste obligatoire [128].

4- Identification :

Repérer les colonies suspectes, et effectuer les tests suivants:

- a. Coloration de Gram :** les staphylocoques apparaissent à l'examen microscopique : des cocci à Gram positif regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappes de raisin).
- b. Recherche de la catalase :** toutes les espèces de genre *Staphylococcus* sont catalase positive [56].
- c. Test à la bacitracine :**

- **Principe :**

Ce test permet la différenciation entre les microcoques et les staphylocoques, ces derniers sont plus résistants à la bacitracine [105].

- **Technique :**

Ce caractère est recherché par la méthode de diffusion en gélose de Mueller-Hinton avec un disque de papier chargé à 0,02 U.I de bacitracine. L'incubation se fait à 35°C pendant 18h.

- **Lecture :**

Les staphylocoques se développent au contact du disque, alors qu'une zone d'inhibition de 10 à 25 mm existe dans le cas des microcoques [105].

- d. Recherche de la staphylocoagulase :**

- **Principe :**

Parmi les staphylocoques, seules les souches de *Staphylococcus aureus* peuvent coaguler le plasma humain ou de lapin oxalaté dans un délai de 3 heures.

- **Technique :**

- 1- préparation des cultures :**

À partir de colonies suspectes sur milieu Chapman, ensemercer un bouillon cœur-cerveau et incuber à 37°C pendant 18 heures [02].

- 2- préparation du plasma**

Reconstituer stérilement le plasma avec 10ml de solvant, agiter légèrement pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

3- épreuve de la coagulase:

Mélanger dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma dissous et 0,5 ml de la culture de staphylocoque. Porter à l'étuve au bain-marie à 37°C.

Les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 3 heures. La prise en masse du plasma est généralement totale, au point que le tube peut être retourné. Quelquefois, le caillot est moins compact, mais encore dans ce cas, l'épreuve doit être tenue pour positive si elle se traduit avant la 3^{ème} heure.

e. Fermentation du mannitol : [128]**▪ Principe :**

Contrairement aux autres espèces de *Staphylococcus*, *S.aureus* et *S.saprophyticus* sont capables de puiser de l'énergie par fermentation du mannitol.

▪ Technique :

Une atmosphère anaérobie est créée à l'intérieur d'une jarre à l'aide d'une bougie allumée. Le milieu de Chapmanensemencé par la souche est incubé dans cette atmosphère à 37°C pendant 24h.

▪ Lecture :

La fermentation du mannitol se manifeste par le virage du milieu au jaune.

Les autres tests d'identification sont réalisés comme ceux déjà effectués pour l'identification des entérobactéries qui sont :

- la recherche de : la fermentation du glucose, l'utilisation du lactose, et du saccharose; réalisée sur le milieu T.S.I.
- la recherche de la nitrate réductase.
- le test Voges-Proskauer (V.P).
- la recherche de l'arginine déshydrogénase (A.D.H) réalisée sur le milieu Moëller + arginine (A.D.H) [M30] selon le même protocole de la recherche des décarboxylases.
- la recherche de l'uréase.

3.2.5. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :**▪ Principe :**

Un milieu sélectif, spécifique de la culture de *Pseudomonas aeruginosa* est ensemencé en surface. Les colonies suspectes seront confirmées par subcultures sur milieux d'identification [04].

▪ Milieux de culture :**a) milieu d'isolement :**

La gélose au cétrimide [M31] est un milieu sélectif qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment des *Pseudomonas aeruginosa*. Il contient :

- un antiseptique, le cétrimide (bromure de N-cétyle-N, N-triméthylammonium), qui inhibe

beaucoup de germes.

- un antibiotique à spectre étroit; l'acide nalidixique, qui inhibe les bactéries Gram (-).
- des produits favorisant la production de pigments: le sulfate de potassium et le chlorure de magnésium [104,129].

b) milieux d'identification :

Les milieux de King (**King A, King B**) [M32,M33] permettent de différencier les espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques [129].

▪ **Mode opératoire :**

1- Isolement :

Etaler 0,5 ml d'eau à la surface de la gélose au cétrimide. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

2- Lecture :

Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* ont un diamètre de 1,5 à 2 mm, un contour circulaire, une surface lisse et brillante, une couleur blanc crème, un aspect muqueux et sont parfois déjà accompagnées d'une production de pigment bleu-vert qui commence à diffuser avec émission de fluorescence sous U.V [04].

Pseudomonas aeruginosa dégage une odeur caractéristique de seringa due à la production d'ortho-amino-acétophénol intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment [61].

En outre, on peut observer des colonies plus ou moins jaunâtres présomptives d'autres espèces de *Pseudomonas* [104].

3- Identification :

Pour la confirmation de *Pseudomonas aeruginosa*, procéder aux différents tests biochimiques d'identification communs, cités précédemment, et réaliser les recherches plus spécifiques suivantes :

a. Recherche des pigments spécifiques:

▪ **Principe :** [80,129]

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu, ce qui justifie l'utilisation de deux milieux différents :

- La production de pyocyanine, due spécifiquement à *Pseudomonas aeruginosa*, est favorisée par la présence d'ions inorganiques et de certains acides aminés qui composent le milieu King A.
- La production de pyoverdine, caractéristique du groupe fluorescent, dépend de la nature des peptones, et favorisée par la teneur élevée en phosphate présents dans le milieu King B.

▪ **Technique :**

Ensemencer les deux milieux: King A et King B en faisant une strie médiane à la surface de la gélose. Fermer les tubes sans serrer et incubé à 30°C pendant 1 à 4 jours [80,88].

▪ **Lecture :**

La présence de pigments diffusibles se traduit par l'apparition d'une couleur qui peut diffuser sur toute la pente [129].

Sur le milieu King A : les colonies typiques sur ce milieu sont colorées en bleu-vert, parfois en brun-rose (pyorubine). La pyocyanine est extraite par le chloroforme. Verser 0.5 ml de chloroforme sur la culture, laisser la 10 à 15 min, en position inclinée : la pyocyanine très soluble dans le chloroforme, le colore en bleu [80].

Sur le milieu King B : la production de pyoverdine se manifeste par une coloration jaune-verte, avec une fluorescence observée au U.V à 340 n.m. Ce pigment est insoluble dans le chloroforme [133].

b. Croissance à 41°C et 4°C :

Ensemencer une colonie sur deux tubes de gélose nutritive. Incuber l'un de ces tubes à 41°C, l'autre à 4°C. Procéder à la lecture après 24 à 48 heures [04].

Pseudomonas aeruginosa peut se développer à 41°C, mais non à 4°C.

3.2.6. Recherche de *Candida albicans* et des champignons:

▪ **Principe :**

Un milieu sélectif est ensemencé en surface, les colonies développées après incubation seront confirmées par des tests d'identification complémentaires.

1- Isolement :

▪ **Milieu de culture :**

La gélose Sabouraud + chloramphénicol [M34] contient le chloramphénicol : l'antibiotique inhibe la plupart des contaminants microbiens.

▪ **Technique :**

Étaler 0,5 ml d'eau, en surface du milieu. Incuber à 37°C pendant 24 à 48h, ensuite prolonger l'incubation à la température ambiante du laboratoire.

▪ **Lecture :**

La lecture se fait au bout de 48 heures, et peut aller jusqu'à 7 jours. Les colonies de *Candida albicans* apparaissent bombées, crémeuses et blanchâtres. Elles sont lisses et peuvent se plisser en vieillissant [136].

2- Identification :

La technique d'identification classique repose sur la blastère : filamentation en sérum, exclusive à l'espèce *Candida albicans* [136].

■ Technique :

Incuber 1 ml de suspension de la souche de levure suspecte avec 1 ml de sérum humain pendant 3 heures à 37°C.

■ Lecture :

Observer au microscope entre lame et lamelle. *Candida albicans* montre des tubes germinatifs, qui sont minces et plus longs que les cellules mères.

4. Sensibilité aux antibiotiques :**4.1. Antibiogramme par méthode de diffusion en milieu gélosé: méthode des disques/ antibiogramme standard :**

Cette méthode est la plus utilisée dans les laboratoires du diagnostic. Elle n'est applicable qu'aux bactéries qui donnent une croissance visible après une incubation d'une nuit.

■ Principe :

Des disques d'antibiotiques sont disposés à la surface d'un milieu gélosé adéquat, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques d'antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Un gradient de concentration s'établit dans la gélose). Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture [56,88,132,137,138,139].

■ Milieu de culture :

Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Mueller-Hinton, ce milieu est standardisé d'une manière que :

- Il permet la croissance de nombreuses bactéries, et il ne contient pas d'inhibiteurs des antibiotiques.
- Son pH compris entre 4,2 et 7,2 permet une bonne croissance bactérienne et réalise un compromis pour l'activité des antibiotiques [139].
- Un pH trop acide augmente l'activité des β -lactamines, tétracyclines et acide fusidique.
- Un pH trop basique augmente l'activité des aminosides, des macrolides, lincosamides et streptogramines [137].

Sa concentration en :

- Ions Mg^{++} est comprise entre 10 et 25 mg/l.
- Ions Ca^{++} est comprise entre 20 et 50 mg/l [137].

Des concentrations trop élevées de ces ions inhibent l'action des aminosides, des tétracyclines et des polymyxines [139].

Sa concentration en thymidine est inférieure à 0,03 mg/l. toute concentration supérieure à cette valeur risque de donner de fausse résistance avec le triméthoprime et l'association triméthoprime-

sulfamides [137].

■ **Mode opératoire :**

1- Préparation de l'inoculum : [137]

L'inoculum est préparé de façon à obtenir après incubation des colonies juste confluentes; il est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures (phase stationnaire) sur gélose non inhibitrice: gélose nutritive pour les bactéries à Gram (-) et gélose Chapman pour les staphylocoques.

Prélever au moins 3 colonies de la bactérie et émulsionner dans 5 ml de l'eau physiologique stérile.

2- Ensemencement :

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

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

3- Application des disques et incubation :

- Appliquer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement.
- Incuber à 37°C pendant 16 à 18h.

4- Lecture :

Pour chaque antibiotique: mesurer le diamètre de la zone d'inhibition au revers de la gélose, et reporter cette mesure sur l'échelle de concordance correspondante et indiquer si la bactérie est sensible, intermédiaire ou résistante.

4.2. Antibiotiques utilisés :

Le choix des antibiotiques testés sur les différentes espèces bactériennes isolées, repose d'une part, sur l'identification du genre et son profil habituel vis-à-vis des antibiotiques (résistances naturelles et résistances acquises possibles), et d'autre part, sur le spectre d'activité de chaque antibiotique et son action sur les bactéries à Gram (-) et/ou sur les bactéries à Gram(+) [140,141,142,143,144,145,146]. En plus, les antibiotiques ont été sélectionnés selon leur disponibilité.

Les antibiotiques utilisés pour les bactéries à Gram (-), sont représentés dans le tableau 18.

Pour les staphylocoques, en plus de la streptomycine, la gentamycine, le chloramphénicol et la tétracycline, d'autres antibiotiques ont été utilisés (Tableau 19).

Tableau (18): Liste des antibiotiques utilisés pour les bactéries à Gram (-) [147]

Famille d'antibiotique	Antibiotiques (dénominations communes)	Sigle du disque	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)				
				R	d	I	D	S
β- lactamines	Ampicilline	AM	10µg	14			19	→
	Amoxicilline	AMX	25µg	14			21	→
Aminosides	Streptomycine	S	10 UI	13			15	→
	Gentamycine	GM	10 UI	14			16	→
	Kanamycine	K	30UI	15			17	→
Phénicoles	Chloramphénicol	C	30µg	19			23	→
Polypeptides	Colistine	CSS	50µg	R		15	S	→
Sulfamides et associations	Sulfamides	SSS	200µg	12			17	→
	Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	SXT	1,25 + 23,75µg	10			16	→
	Triméthoprim	TMP	5µg	12			16	→
Tétracyclines	Tétracycline	TE	10UI	17			19	→
	Doxycycline	DO	30UI	17			19	→

Tableau (19): Liste des antibiotiques utilisés pour les staphylocoques [147]

Famille d'antibiotiques	Antibiotiques (dénominations communes)	Sigle du disque	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)				
				R	d	I	D	S
β- lactamines	Pénicilline	P	6µg	06 29 →				
	Oxacilline	OX	5µg	R 20 S →				
Aminosides	Néomycine	N	30 UI	15 17 →				
Macrolides	Erythromycine	E	15 UI	17 22 →				
	Spiramycine	SP	100µg	19 24 →				
	Virginamycine	VG	15µg	19 22 →				
	Lincomycine	L	15µg	17 21 →				
	Clindamycine	CM	2 UI	R 15 S →				
Polypeptides	Polymyxine B	PB	300 UI	R 15 S →				
Quinolones	Ofloxacine	OFX	5µg	16 22 →				
Divers	Acide fusidique	FA	10µg	15 22 →				
	Vancomycine	VA	30µg	R 17 S →				
	Nitroxoline	NI	20µg	12 30 →				

*Pour chaque antibiotique, dont le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré, l'interprétation est faite de cette manière:

- si le diamètre de la zone d'inhibition $\geq D$: la souche est dite sensible (S).
- si le diamètre de la zone d'inhibition $< d$: la souche est dite résistante (R).
- si $d \leq$ diamètre de la zone d'inhibition $< D$: la souche est dite intermédiaire (I).

I. Analyse du paramètre de pH :

Les valeurs de pH relevées au niveau des différents sites étudiés sont reportés dans le tableau 20. La figure 04 représente l'évolution mensuelle de pH au niveau des différents sites.

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que les valeurs de pH mensuelles répondent aux normes de qualité du décret n°81-324 du 7 avril 1981 pour les eaux de baignade : le pH doit être compris entre 6 et 9 [04,92].

La valeur moyenne minimum de 7,81 a été trouvée au niveau du site *Saint-Cloud 02* et la valeur moyenne maximale de 8,07 a été notée au niveau du site *Joinville*.

De plus, les grands changements des valeurs de pH ont été observés au cours des périodes de fortes pluies.

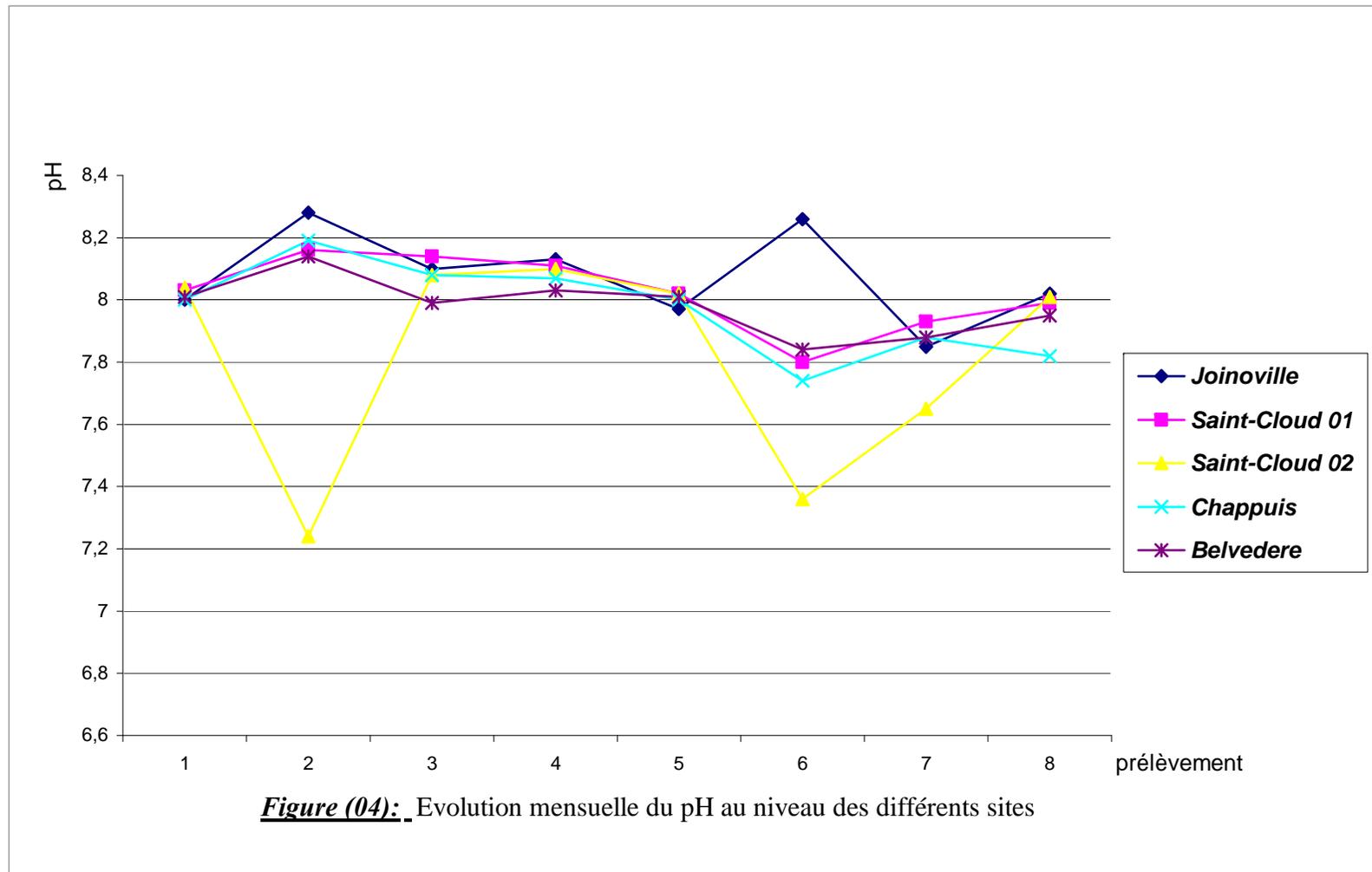
En eau salée, le pH est compris entre 8,0 et 8,3. Les carbonates, les hydroxydes et les bicarbonates augmentent l'alcalinité de l'eau, tandis que les acides minéraux libres et les acides carboniques en accroissent l'acidité [148].

Par ailleurs, l'origine des fluctuations de pH peuvent être dues aux :

- ↳ Eaux usées domestiques.
- ↳ Eaux pluviales : le pH théorique des eaux de pluie est de 5,6.
- ↳ Effluents industriels : les eaux d'exhaure acide et les effluents industriels qui n'ont pas été neutralisés peuvent abaisser considérablement le pH de l'eau [92,148].

Tableau (20) : Valeurs de pH obtenues au niveau des différents sites étudiés

	1	2	3	4	5	6	7	8	valeurs moyennes	valeurs extrêmes
<i>Joinville</i>	8,00	8,28	8,10	8,13	7,97	8,26	7,85	8,02	8,07	7,85-8,28
<i>Saint-Cloud 01</i>	8,03	8,16	8,14	8,11	8,02	7,80	7,93	7,99	8,02	7,80-8,16
<i>Saint-Cloud 02</i>	8,04	7,24	8,08	8,10	8,02	7,36	7,65	8,01	7,81	7,24-8,10
<i>Chappuis</i>	8,00	8,19	8,08	8,07	8,00	7,74	7,88	7,82	7,97	7,74-8,19
<i>Belvedere</i>	8,01	8,14	7,99	8,03	8,01	7,84	7,88	7,95	7,98	7,84-8,14



I. Analyse microbiologique :

Les résultats des dénombrements des germes totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux, concernant les cinq sites choisis dans cette étude sont représentés dans les tableaux 21, 22, 23, 24 et 25. Ces résultats sont représentés graphiquement dans la figure 05.

1. Germes totaux :

La flore totale isolée des cinq sites est importante, elle atteint son maximum au niveau de la plage *Joinoville* ($473,7 \cdot 10^5$ U.F.C /100ml) et tend à diminuer dans les autres plages.

Le taux de germes totaux fluctue considérablement au niveau des cinq sites étudiés au cours de l'année d'étude. Ces variations sont dues au fait que les sites sont exposés à diverses sources de contamination qui diffèrent d'une saison à l'autre contribuant ainsi à une certaine pollution dont la source principale ne peut être déterminée.

Les taux les plus faibles ont été obtenus au mois de juin, presque au niveau de tous les sites sauf *Saint-Cloud 02* et *Chappuis*. Cet abaissement pourrait être le résultat du phénomène de dilution survenu après une chute de pluie (18.02.03) et à la faible température de l'eau (02.06.03 et 09.08.03).

Les taux les plus élevés ont été observés au cours des périodes de pluviométrie importante (15.03.03 et 08.02.04), ou à la fin de saison estivale (14.09.03) après une fréquentation importante par les baigneurs, qui constitue l'une des principales causes de pollution ; ainsi la température de l'eau est dans ce cas favorable pour la croissance des germes [02,92,149].

2. Bactéries indicatrices de contamination fécale :

Les échantillons pris des différents sites ont tous montré une contamination par les coliformes fécaux (CF) et les streptocoques fécaux (SF) souvent par les spores des *Clostridium* sulfito-réducteurs.

Les valeurs moyennes des coliformes fécaux trouvées indiquent que la pollution organique notée relative à chacun des sites est dans l'ordre décroissant suivant : *Saint-Cloud 02, Chappuis, Joinoville, Saint-Cloud 01, Belvedere*.

Belvedere semble être la plage la moins contaminée par les bactéries fécales. Ceci est sans doute dû à sa présence à l'écart des agglomérations et des activités humaines.

Comparée aux normes du décret du 07 avril 1981, la qualité des eaux sur tous les sites est mauvaise : les valeurs annuelles moyennes en CF dépassent le nombre impératif (2000/100ml), et celles en SF dépassent largement le nombre guide (100/100ml) [102].

2.1. Plage Joinoville :

Les résultats sont d'environ 50% de dépassement aux valeurs guides pour les CF et de même pour les SF. Les dépassements aux valeurs impératives sont observés deux fois au cours des périodes pluvieuses (18.02.03 et 15.03.03) et une fois à la fin de la saison estivale (14.09.03).

2.2. Plage *Saint-Cloud 01* :

Les résultats obtenus en CF et en SF dépassent les nombres guides dans 50% des analyses. Alors que les dépassements aux nombres impératifs ne sont observés que deux fois au cours des périodes pluvieuses (02.11.03 et 08.02.04).

2.3. Plage *Saint-Cloud 02* :

C'est la plage la plus contaminée des cinq plages étudiées. Les valeurs impératives sont dépassées dans 87,5% des résultats en CF, alors que pour les SF tous les résultats dépassent la valeur guide. En plus, la moyenne annuelle des taux des CT dépasse aussi la valeur impérative (10000/100ml). Ces résultats ne sont que le reflet de l'agglomération croissante existant à proximité de cette plage. En effet, les rejets urbains sont déversés directement à la mer.

2.4. Plage *Chappuis* :

C'est la plage la plus contaminée après *Saint-Cloud 02*. 75% des résultats en CF dépassent le nombre impératif et 75% des résultats en SF dépassent le nombre guide. En plus, cinq dépassements au nombre impératif ont été observés pour les CT. Ceci pourrait être expliqué par l'agglomération importante, et les activités humaines existant comme la restauration. Les déversements d'égouts permettraient également de donner une idée claire sur cette pollution grave.

2.5. Plage *Belvedere* :

Cette plage apparaît comme la plage la moins contaminée. La contamination par les CF est supérieure au nombre guide dans 62,5% des analyses. La contamination par les SF est supérieure au nombre guide dans 50% des analyses. Les dépassements aux valeurs impératives ont été marqués deux fois, toujours au cours des périodes pluvieuses (18.02.03 et 02.11.03).

3. Le rapport CF/SF :

Le tableau 26 montre les rapports mensuels ainsi que le rapport annuel au niveau de chaque site.

Le rapport CF/SF permet d'indiquer les sources probables de contamination.

Sur la base des données précitées dans la partie bibliographique et des résultats obtenus au cours de l'année d'étude, il s'avère que la contamination fécale des sites : *Joinville, Saint-Cloud 01, Chappuis et Belvedere* est d'origine humaine, étant donnée que les rapports annuels mentionnés sont supérieur à 4. Ceci ne pourrait être due qu'aux déversements d'eaux usées, et à la fréquentation par les baigneurs.

Une pollution mixte : déchets animaux et humains est exclusivement observée au niveau de la plage *Saint-Cloud 02* dont le rapport est de 1,442.

4. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs :

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs par leur présence au niveau des plages étudiées, témoignent d'une contamination fécale ancienne.

Tableau (21) : Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de la plage *Joinville*

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	Σ	<i>m</i>
GT	8 10 ⁵	1664 10 ⁵	4 10 ⁵	2,7 10 ⁵	79,4 10 ⁵	1950 10 ⁵	31,5 10 ⁵	50 10 ⁵	3789,6 10 ⁵	473,7 10 ⁵
CT	4600	4600	930	1500	930	14000	750	930	28240	3530
CF	4600	4600	40	1500	430	14000	750	430	26350	3293,75
SF	90	750	40	40	200	14000	90	140	15350	1918,75

Tableau (22) : Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de la plage *Saint-Cloud 01*

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	Σ	<i>m</i>
GT	1,2 10 ⁵	291,7 10 ⁵	6,8 10 ⁵	0,2 10 ⁵	2,51 10 ⁵	50 10 ⁵	10 ⁵	743,5 10 ⁵	1096,91 10 ⁵	137,11 10 ⁵
CT	430	430	150	90	430	430	11000	11000	23960	2995
CF	430	230	40	40	430	430	11000	11000	23600	2950
SF	40	390	30	90	40	1500	4600	930	7620	952,5

Tableau (23) : Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de la plage *Saint-Cloud 02*

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	Σ	<i>m</i>
GT	160 10 ⁵	110 10 ⁵	20 10 ⁵	3,51 10 ⁵	10 ⁵	183 10 ⁵	157.5 10 ⁵	180 10 ⁵	815,01 10 ⁵	101,87 10 ⁵
CT	14000	14000	14000	14000	930	14000	14000	2100	87030	10878,75
CF	14000	14000	2400	2400	930	14000	14000	2100	63830	7978,75
SF	2100	14000	280	14000	2100	14000	14000	2400	62880	7860

Tableau (24) : Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de la plage *Chappuis*

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	Σ	<i>m</i>
GT	0,6 10 ⁵	602 10 ⁵	400 10 ⁵	4 10 ⁵	10 ⁵	3,85 10 ⁵	23 10 ⁵	16,3 10 ⁵	1050,75 10 ⁵	131,34 10 ⁵
CT	14000	14000	200	4600	40	14000	14000	14000	74840	9355
CF	14000	4600	70	2400	40	11000	14000	11000	57110	7138,75
SF	2400	750	4600	30	90	390	2400	4600	15260	1907,5

Tableau (25) : Résultats de l'analyse bactériologique au niveau de la plage *Belvedere*

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	Σ	<i>m</i>
GT	12 10 ⁵	1278 10 ⁵	1,74 10 ⁵	0,34 10 ⁵	1,58 10 ⁵	10 10 ⁵	20 10 ⁵	151 10 ⁵	1474,66 10 ⁵	184,33 10 ⁵
CT	2400	2400	110	150	430	430	11000	230	17150	2143,75
CF	2400	150	40	230	430	430	11000	230	14770	1846,25
SF	40	30	930	40	230	230	4600	40	6140	767,5

GT : germes totaux (nombre d'U.F.C/100ml)
CT : coliformes totaux (nombre N.P.P/100ml)
CF : coliformes fécaux (nombre N.P.P/100ml)
SF : streptocoques fécaux (nombre N.P.P/100ml)
m : moyenne arithmétique

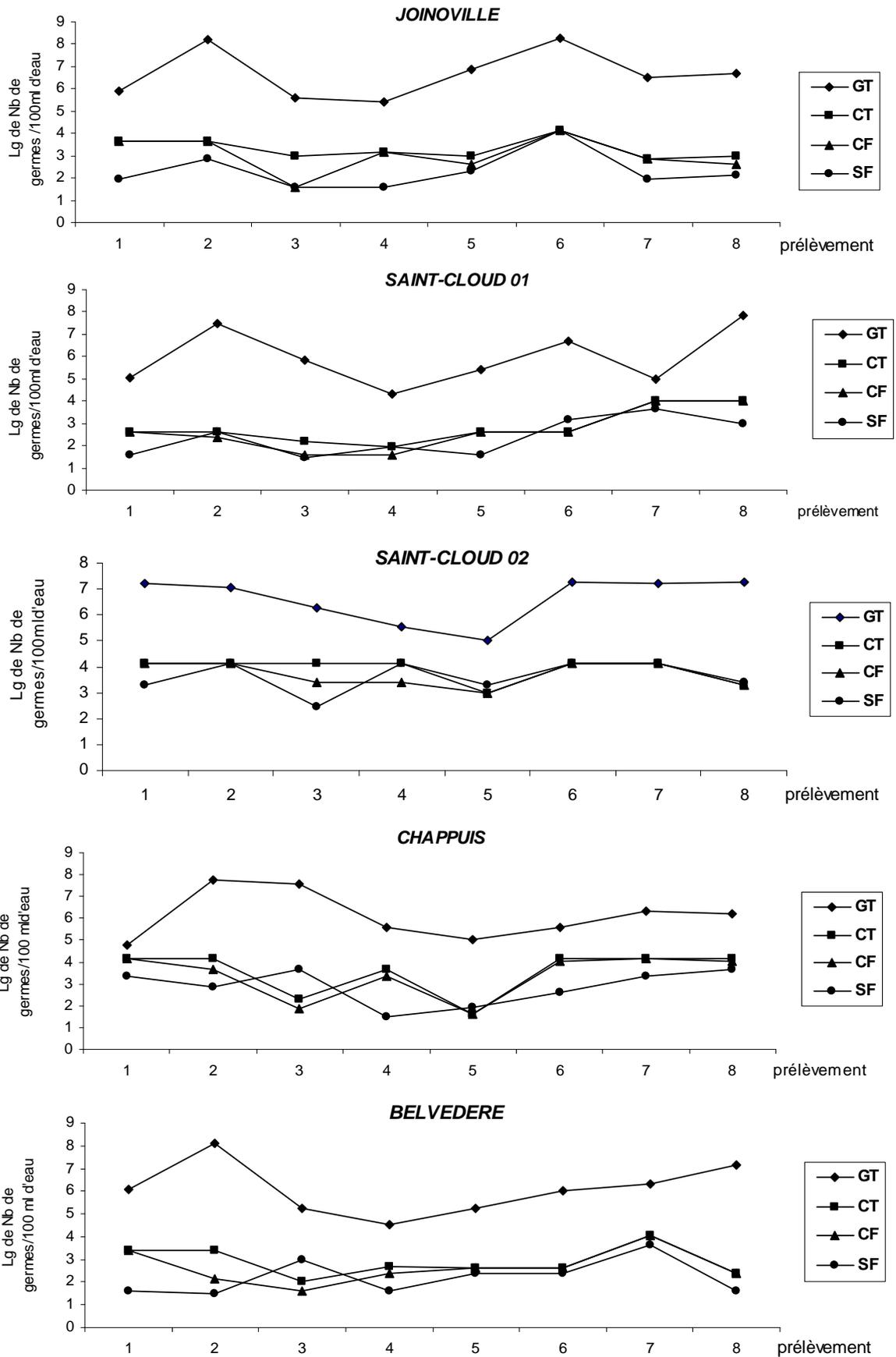


Figure (05) : Présentation graphique des résultats quantitatifs de l'analyse bactériologique au niveau des différents sites étudiés

Tableau (26) : Valeurs mensuelles, trimestrielles, et annuelles des rapports CF/SF, et sources probables de contamination

Rapports mensuels	<i>Joinville</i>	<i>Saint-Cloud 01</i>	<i>Saint-Cloud 02</i>	<i>Chappuis</i>	<i>Belvedere</i>	
Prélèvements	1	51,11	10,75	6,66	5,83	60
	2	6,13	0,58	1	6,13	5
	3	1	1,33	0,39	0,015	0.04
	4	37,5	0,44	0,171	80	5.75
	5	2,15	10,75	0,442	0,444	1,869
	6	1	0,286	1	28,205	1,869
	7	8.33	2,391	1	5,833	2,391
	8	3.071	11,827	0.875	2,391	5,75
Rapports annuels	13,786	4,794	1,442	16,106	10,334	
S.P.C	D.H	D.H	D.H.A	D.H	D.H	
Rapports trimestriels	1- 27,09	1- 11,288	1- 3,767	1- 4,11	1- 32,875	
	2- 3,565	2- 0,955	2- 0,696	2- 3,072	2- 2,521	
	3- 19,825	3- 5,595	3- 0,306	3- 40,222	3- 3,809	
	4- 4,665	4- 1,338	4- 1	4- 17,019	4- 2,13	
S.P.C	1- D.H	1- D.H	1- D.H.A	1- D.H	1- D.H	
	2- D.H.A	2- D.H.A	2- D.B.B.C	2- D.H.A	2- D.H.A	
	3- D.H	3- D.H	3- D.B.B.C	3- D.H	3- D.H.A	
	4- D.H	4- D.H.A	4- D.H.A	4- D.H	4- D.H.A	

S.P.C : sources probables de contamination

D.H : déchets humains

D.H.A : déchets humains et animaux

D.B.B.C : déchets de bétail ou de basse-cour

5. Classement des plages :

Au regard des résultats des paramètres bactériologiques analysés (CT, CF et SF) et aux limites de qualité fixées par la directive 75/160 CEE [48,92,102], relative à la qualité des eaux de baignades, nous avons pu établir un classement des cinq plages étudiées (Tableau 27).

Les plages : *Saint-Cloud 01 et Belvedere* sont classées en catégorie C (eaux momentanément polluées). Les autres plages: *Joinville, Saint-Cloud 02, et Chappuis* sont classées en catégorie D (eaux de mauvaise qualité). Donc, toutes les plages étudiées ne sont pas conformes aux normes européennes ; elles devraient être interdites à la baignade.

6. Bactéries pathogènes :

Les résultats de la recherche des bactéries pathogènes sont rapportés dans le tableau 28.

L'absence de ces microorganismes pathogènes dans l'eau pourrait être expliquée par :

- leur absence effective dans l'eau ;
- la présence de quantités importantes de bactéries fécales qui ont tendance à les supplanter.

Par ailleurs, la détection occasionnelle de différentes espèces de *Staphylococcus* est due aux caractéristiques de ce genre bactérien très répandu dans la nature. En effet, les staphylocoques arrivent à proliférer grâce à leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau [02].

En plus de *S.aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyrticus*, nous avons pu isolé d'autres espèces, nouvelles en pathologie humaine : *S.haemolyticus*, *S.hominis*, *S.capitis*, *S.xylosus*, et qui sont isolées chez l'homme à une fréquence moindre [83].

Aeromonas hydrophila a été trouvée dans les conditions mentionnées dans la partie bibliographique : à un pH=8,01 (compris entre 5,2 et 9,8) et au mois d'août (pendant la période qui s'étend de mai à novembre) [49].

Pseudomonas cepacia est une espèce phytopathogène [61]. Elle représente actuellement l'une des espèces de *Pseudomonas* les plus souvent impliquées dans les infections ou les contaminations hospitalières nosocomiales. Il a été montré que son principal vecteur est l'eau à usage hospitalier sous toutes ses formes, y compris l'eau de distribution publique [150]. Cette bactérie est susceptible de se comporter comme pathogène opportuniste en provoquant des infections très graves : septicémies, infections urinaires, conjonctivites, surinfection de plaie, suppurations diverses. Mais elle semble avoir un faible pouvoir invasif et une virulence limitée chez l'homme sain [151].

7. Levures et champignons :

La microflore fongique est importante dans toutes les plages et surtout au niveau du site *Saint-Cloud 02* (Tableau 29).

Nous avons pu isoler et identifier *Candida albicans* au niveau de tous les sites sauf au niveau de *Joinville*.

En outre, nous avons pu isoler et identifier différentes espèces de champignons appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Microsporum* et *Chrysosporium* (Planches 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08)

Tableau (27) : Classement des plages étudiées selon les paramètres analysés

	<i>Catégorie C</i>	<i>Catégorie D</i>
<i>Joinville</i>		Le pourcentage de dépassement au nombre impératif est de 37.5% (>33%)
<i>Saint-Cloud 01</i>	La fréquence de dépassement des nombres impératifs pour CF et CT est de 25% (>5% et <33.3%)	
<i>Saint-Cloud 02</i>		Le pourcentage de dépassement au nombre impératif est de 87.5% (>33%)
<i>Chappuis</i>		Le pourcentage de dépassement au nombre impératif est de 75% (>33%)
<i>Belvedere</i>	La fréquence de dépassement des nombres impératifs pour CF et CT est de 25% (>5% et <33.3%)	

Tableau (28) : Résultats de la recherche des germes pathogènes au niveau des différents sites

	<i>Joinoville</i>	<i>Saint-Cloud 01</i>	<i>Saint-Cloud 02</i>	<i>Chappuis</i>	<i>Belvedere</i>
18.02.03	<i>E.coli</i>		<i>E.coli</i>	<i>Shigella soneii</i>	<i>V.parahaemolyticus</i>
15.03.03	<i>E.coli</i>		<i>Vibrio cholerae</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
28.04.03	<i>E.coli</i> <i>S. epidermidis</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> <i>Pseudomonas spp</i> <i>S. saprophyticus</i>
02.06.03					<i>E.coli</i>
09.08.03	<i>Vibrio cholerae</i>		<i>Vibrio cholerae</i> <i>V. parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio cholerae</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>V. parahaemolyticus</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>
14.09.03	<i>Salmonella spp</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> <i>Salmonella arizonae</i>		<i>E.coli</i>
02.11.03			<i>Staphylococcus aureus</i>		
08.02.04	<i>E.coli</i>		<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E.coli</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. epidermidis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

Tableau (29) : Résultats de la recherche des levures et des champignons au niveau des différents sites

	<i>Joinoville</i>	<i>Saint-Cloud 01</i>	<i>Saint-Cloud 02</i>	<i>Chappuis</i>	<i>Belvedere</i>
28.04.03	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
02.06.03	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Chrysosporium</i> <i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	
09.08.03		<i>Aspergillus niger</i>			
14.09.03		<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichophyton erinacei</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Microsporum canis</i>
02.11.03	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Trichophyton violaceum</i> <i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus niger</i>
08.02.04					<i>Candida albicans</i>

III. Isolement et identification des souches bactériennes :

Nous avons réussi à isoler et purifier 40 souches appartenant aux différentes espèces des bactéries recherchées.

1. Examen macroscopique :

L'isolement se fait à partir des colonies suspectes. Alors que l'examen macroscopique est réalisé à partir des colonies du 2^{ème} repiquage sur les différents milieux spécifiques aux bactéries recherchées.

Nous nous sommes intéressés uniquement aux colonies répondant aux caractéristiques décrites dans la partie matériels et méthodes concernant les différentes espèces mentionnées.

2. Examen microscopique :

L'observation microscopique des bacilles révèle la présence de cellules en forme de bâtonnets ou des bâtonnets plus au moins allongés (coccobacilles), de taille variable, des cellules isolées en chaînettes plus au moins longues.

L'examen microscopique montre des cocci de forme sphérique parfois ovoïde, de diamètre variable ; la disposition des cellules est soit en amas, en paires, en chaînettes, etc...

3. Identification biochimique des souches isolées :

Les résultats des tests d'identification biochimiques sont rapportées dans les tableaux 30 et 31 pour les bactéries bacilles Gram (-), et dans les tableaux 32 et 33 pour les bactéries cocci Gram (+).

Ces résultats ont permis de les rapprocher aux genres et espèces selon les tableaux d'identification 09, 10 et 11.

3.1. Les souches appartenant à l'espèce *Escherichia coli* :

Parmi les 40 souches isolées, 22 souches sont attribuées à l'espèce *E.coli* avec un degré de rapprochement variable dont :

- 7 souches sont apparentées à 100% avec l'espèce *E.coli*.
- 10 souches sont rapprochées à cette espèce avec un degré de parenté de 95%.
- 4 souches se rapprochent d' *E.coli* avec un degré de parenté de 90%.
- Une seule souche est rapprochée à *E.coli* avec un degré de parenté de 85%.

3.2. Les souches appartenant au genre *Shigella* :

Une seule souche a été attribuée au genre *Shigella*, précisément à l'espèce *Shigella sonnei*, avec un degré de rapprochement de 85%.

3.3. Les souches appartenant au genre *Salmonella* :

Trois souches ont été attribuées au genre *Salmonella*. Deux souches sont rapprochées à l'espèce *Salmonella spp* avec un degré de parenté de 80% pour la souche *Sal 1.1* et 90% pour la

souche *Sal 1.2*. La 3^{ème} souche a été rapprochée à l'espèce *Salmonella arizonae*. L'identification s'est faite par la galerie API 20E.

3.4. Les souches appartenant à l'espèce *Yersinia enterocolitica* :

Nous avons rapproché deux souches à cette espèce. La souche *Y.e 5.2* est rapprochée à cette espèce avec un degré de parenté de 80%. Alors que le degré d'apparenté de la souche *Y.e 5.1* est de 85%.

3.5. Les souches appartenant au genre *Vibrio* :

Nous avons attribué 9 souches au genre *Vibrio*.

● les souches rapprochées à l'espèce *Vibrio cholerae* :

4 souches ont été rapprochées à l'espèce *V.cholerae*. La souche *V.c 3.1* est rapprochée à l'espèce type avec un degré de parenté de 95%. La souche *V.c 1* est rapprochée avec un degré de parenté de 90%. Les deux autres souches ont un degré de rapprochement de 85%.

● les souches rapprochées à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus* :

5 souches sont rapprochées à l'espèce *V. parahaemolyticus*. Deux souches sont rapprochées à cette espèce avec un degré de parenté de 90% ; deux autres souches sont rapprochées avec un degré de parenté de 80%. La souche *V.p 4* est rapprochée à l'espèce type avec un degré de parenté de 85%.

3.6. Les souches appartenant à l'espèce *Aeromonas hydrophila* :

Une seule souche a été rapprochée à l'espèce *A.hydrophila* avec un degré de parenté de 80%.

3.7. Les souches appartenant au genre *Pseudomonas* :

Nous avons attribué à ce genre deux souches. L'une est rapprochée à l'espèce *Pseudomonas cepacia* avec un degré de parenté de 90%. L'autre est rapprochée à l'espèce *Pseudomonas spp* avec un degré de parenté similaire.

3.8. Les souches appartenant au genre *Staphylococcus* :

Nous avons pu identifier 19 souches appartenant au genre *Staphylococcus*.

● Les souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus aureus* :

4 souches sont rapprochées à l'espèce *S.aureus*. La souche *St 02* est apparenté à 100% avec *S.aureus*. Deux souches sont rapprochées à *S.aureus* avec un degré de parenté de 90,90% et une seule souche a été rapprochée avec un degré de parenté de 81,81%.

● **Les souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus epidermidis* :**

Deux souches seulement sont rapprochées à l'espèce *S.epidermidis*. La souche *St 06* est rapprochée à cette espèce avec un degré de parenté de 90,90%, alors que la souche *St 17* est rapprochée avec un degré de parenté de 72,72%.

● **Les souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus saprophyticus* :**

Nous avons attribué 3 souches à l'espèce *S.saprophyticus*. La souche *St 15* est apparentée à 100% avec cette espèce. Les deux autres souches sont rapprochées avec un degré de parenté de 90,90%.

● **Les souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus haemolyticus* :**

Nous avons attribué seulement deux souches à l'espèce *S.haemolyticus*. La souche *St 09* est rapprochée à cette espèce avec un degré de parenté de 81,81%, alors que la souche *St 07* est rapprochée avec un degré de parenté de 90,90%.

● **Les souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus hominis* :**

6 souches sont attribuées à l'espèce *S.hominis*. La souche *St 13* est apparentée à 100% avec cette espèce. 4 souches sont rapprochées avec un degré de parenté de 90,90% et une seule souche a été rapprochée avec un degré de parenté de 81,81%.

● **Les souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus capitis* :**

La souche *St 03* est la seule qui a été rapprochée à l'espèce *S.capitis*, avec un degré de parenté de 81,81%.

● **Les souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus xylosus* :**

La souche *St 19* est a été rapprochée à l'espèce *S.xylosus*, avec un degré de parenté de 90,90%.

Tableau (30) : Résultats des tests biochimiques des bactéries bacilles Gram négatif isolées

Date de prélèvement	N° de souche	Caractères biochimiques																			
		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	URE	TDA	IND	VP	RM	MAN	Mobilité	LAC	GLU	SAC	gaz	H ₂ S	OX	NR	Catalase
18.02.03	01	API 20 E :5144572																		+	+
	02	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+
	03	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
	04	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
	05	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	06	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+
15.03.03	07	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	08	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	
	09	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
	10	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	
	11	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
28.04.03	12	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
	13	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	
	14	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	15	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	16	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	17	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
	18	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
19	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+		
02.06.03	20	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	
09.08.03	21	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
	22	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	
	23	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	
	24	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	
	25	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
	26	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
	27	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	
	28	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	
14.09.03	29	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	
	30	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	
	31	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	
	32	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
	33	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
	34	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
	35	API 20 E : 7716773																		+	+
08.02.04	36	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	
	37	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	
	38	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	
	39	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
	40	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	

Tableau (31) : Résultats d'identification des bactéries bacilles Gram négatif isolées

Date de prélèvement	N° de souche	Espèce identifiée	Répartition des espèces isolées dans les différents sites de prélèvement				
			Joinville	Saint-Cloud 01	Saint-Cloud 02	Chappuis	Belvedere
18.02.03	01	<i>Escherichia coli</i>	E 1.1				
	02	<i>Escherichia coli</i>	E 1.2				
	03	<i>Escherichia coli</i>			E 3.1		
	04	<i>Escherichia coli</i>	E 1.3				
	05	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>					V.p 5.1
	06	<i>Shigella sonnei</i>				Shi 4	
15.03.03	07	<i>Escherichia coli</i>				E 4.1	
	08	<i>Escherichia coli</i>					E 5.1
	09	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>					V.p 5.2
	10	<i>Escherichia coli</i>	E 1.4				
	11	<i>Vibrio cholerae</i>			V.c 3.1		
28.04.03	12	<i>Pseudomonas spp</i>					P 5
	13	<i>Escherichia coli</i>	E 1.5				
	14	<i>Escherichia coli</i>		E 2.1			
	15	<i>Escherichia coli</i>		E 2.2			
	16	<i>Escherichia coli</i>			E 3.2		
	17	<i>Escherichia coli</i>				E 4.2	
	18	<i>Escherichia coli</i>		E 2.3			
02.06.03	20	<i>Escherichia coli</i>					E 5.3
09.08.03	21	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>				V.p 4	
	22	<i>Aeromonas hydrophila</i>					A.h 5
	23	<i>Vibrio cholerae</i>			V.c 3.2		
	24	<i>Vibrio cholerae</i>				V.c 4	
	25	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>					V.p 5.3
	26	<i>Vibrio cholerae</i>	V.c 1				
	27	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>			V.p 3		
	28	<i>Pseudomonas cepacia</i>				P 4	
14.09.03	29	<i>Escherichia coli</i>					E 5.4
	30	<i>Salmonella spp</i>	Sal 1.1				
	31	<i>Salmonella spp</i>	Sal 1.2				
	32	<i>Escherichia coli</i>		E 2.3			
	33	<i>Escherichia coli</i>			E 3.3		
	34	<i>Escherichia coli</i>					E 5.5
08.02.04	35	<i>Salmonella arizonae</i>			Sal 3		
	36	<i>Escherichia coli</i>			E 3.4		
	37	<i>Yersinia enterocolitica</i>					Y.e 5.1
	38	<i>Yersinia enterocolitica</i>					Y.e 5.2
	39	<i>Escherichia coli</i>	E 1.6				
	40	<i>Escherichia coli</i>				E 4.3	

X i,j: « i » indique le n° de site et « j » indique le n° de la souche dans le même site.

Tableau (32) : Résultats des tests d'identification des staphylocoques isolés

Date de prélèvement	N° de souche	CATALASE	GLU	LAC	MAN	NIT	VP	SAC	ADH	URE	MAN(anérobie)	Test à la bacitracine	COAGULASE
15.03.03	<i>St 01</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	R	-
	<i>St 02</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	+
	<i>St 03</i>	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	/	-
28.04.03	<i>St 04</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	R	-
	<i>St 05</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	R	-
	<i>St 06</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	R	-
	<i>St 07</i>	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	R	-
02.06.03	<i>St 08</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	/	-
	<i>St 09</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	/	-
02.11.03	<i>St 10</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	/	+
08.02.04	<i>St 11</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	/	+
	<i>St 12</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	R	+
	<i>St 13</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	/	-
	<i>St 14</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	R	-
	<i>St 15</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	R	-
	<i>St 16</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	R	-
	<i>St 17</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	/	-
	<i>St 18</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	R	-
	<i>St 19</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	/	-

Remarque :

Le test à la bacitracine a été réalisé pour les souches confondues entre les staphylocoques et les streptocoques.

Tableau (33) : Résultats d'identification des staphylocoques isolés

Date de prélèvement	N° de souche	Espèce identifiée	Répartition des espèces isolées dans les différents sites de prélèvement				
			<i>Joinville</i>	<i>Saint-Cloud 01</i>	<i>Saint-Cloud 02</i>	<i>Chappuis</i>	<i>Belvedere</i>
15.03.03	<i>St 01</i>	<i>S. hominis</i>			<i>St 3.1</i>		
	<i>St 02</i>	<i>S. aureus</i>					<i>St 5.1</i>
	<i>St 03</i>	<i>S. capitis</i>	<i>St 1.1</i>				
28.04.03	<i>St 04</i>	<i>S. saprophyticus</i>					<i>St 5.2</i>
	<i>St 05</i>	<i>S. haemolyticus</i>					<i>St 5.3</i>
	<i>St 06</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>St 1.2</i>				
	<i>St 07</i>	<i>S. haemolyticus</i>					<i>St 5.4</i>
02.06.03	<i>St 08</i>	<i>S. hominis</i>		<i>St 2.1</i>			
	<i>St 09</i>	<i>S. hominis</i>		<i>St 2.2</i>			
02.11.03	<i>St 10</i>	<i>S. aureus</i>			<i>St 3.2</i>		
08.02.04	<i>St 11</i>	<i>S. aureus</i>			<i>St 3.3</i>		
	<i>St 12</i>	<i>S. aureus</i>			<i>St 3.4</i>		
	<i>St 13</i>	<i>S. hominis</i>				<i>St 4.1</i>	
	<i>St 14</i>	<i>S. hominis</i>				<i>St 4.2</i>	
	<i>St 15</i>	<i>S. saprophyticus</i>				<i>St 4.3</i>	
	<i>St 16</i>	<i>S. hominis</i>		<i>St 2.3</i>			
	<i>St 17</i>	<i>S. epidermidis</i>				<i>St 4.4</i>	
	<i>St 18</i>	<i>S. saprophyticus</i>				<i>St 4.5</i>	
	<i>St 19</i>	<i>S. xylosus</i>			<i>St 3.5</i>		

IV. Identification des levures et des champignons isolés :

1. Identification des levures :

Les résultats des tests d'identification des souches de *Candida* suspectes sont résumés dans le tableau 34.

Tableau (34) : Résultats des tests d'identification des *Candida*

Date de prélèvement	N° de la souche	Gram	Test de filamentation	Fermentation des sucres			Nitrate réductase	Uréase	Espèce identifiée
				Lactose	Glucose	Saccharose			
02.11.03	C 3	Cellules ovalaires ou rondes fortement Gram (+)	+	-	+	+	-	-	<i>Candida albicans</i>
	C 4		+	-	+	+	-	-	
	C 2		+	-	+	+	-	-	
08.02.04	C 5		+	-	+	+	-	-	

2. Identification des champignons :

L'identification des souches fongiques isolées a été faite sur la base de l'aspect macroscopique des colonies (la face et le revers). Cette identification reste approximative vue la nécessité d'un examen soigneux d'autres critères comme la vitesse de croissance et l'examen microscopique.

Les caractères macroscopiques des différentes espèces isolées sont résumées dans le tableau 35.

Tableau (35) : Aspect macroscopique de quelques espèces fongiques [87]

Espèces	Aspect macroscopique recto des colonies	Aspect macroscopique verso des colonies
<i>Aspergillus niger</i>	mycélium aérien blanc à jaune citron, se ponctuant rapidement de noir (têtes).	incolore à jaune pâle.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	velouté, tapis régulier, cotonneux, vert franc puis grisâtre avec l'âge. Quelques souches blanches.	incolore à jaune puis rouge foncé (en fait très variable).
<i>Aspergillus flavus</i>	poudreux irrégulier vert-jaune à bronze-vert olive	incolore à jaunâtre puis brun à rouge foncé.
<i>Chrysosporium</i>	cotonneux ou granuleux de toutes couleurs.	blanc à brun.
<i>Microsporum canis</i>	grandes colonies étoilées de couleur blanc puis chamois au centre, aspect soyeux et brillant, rayons fins et longs.	Jaune orangé vif.
<i>Trichophyton violaceum</i>	glabres, planes devenant plissées ou cérébriformes ensuite, violet clair à foncé (rarement blanc).	violet clair à foncé (rarement blanc).
<i>Tichophyton erinacei</i>	rayonnées, poudreuses à finement granuleuse (toile d'araignée en sucre glace) de couleur blanc pur.	jaune vif à brun.



face



revers

Planche (02) : Aspergillus niger



face



revers

Planche (03) : Aspergillus flavus



face



revers

Planche (04) : Aspergillus fumigatus



face



revers

Planche (05) : Trichophyton erinacei



face



revers

Planche (06) : Trichophyton violaceum

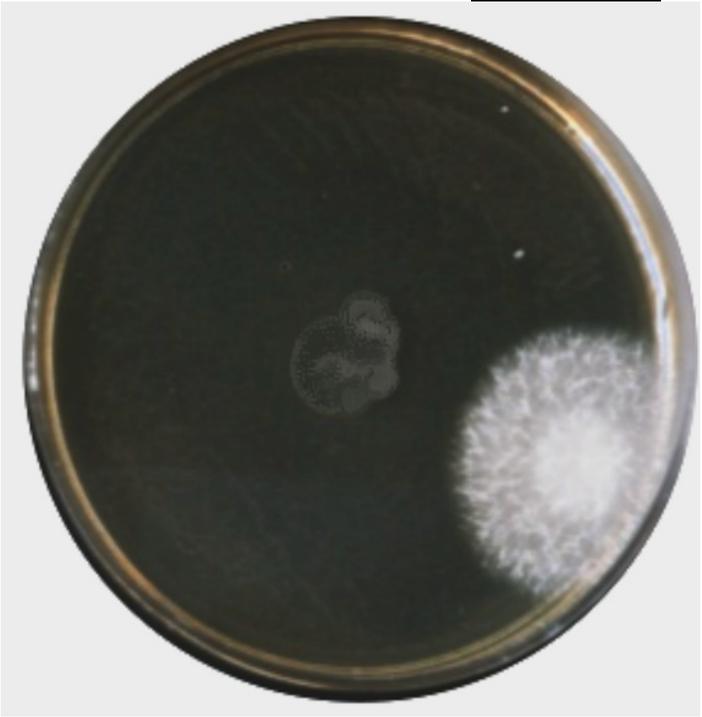


face

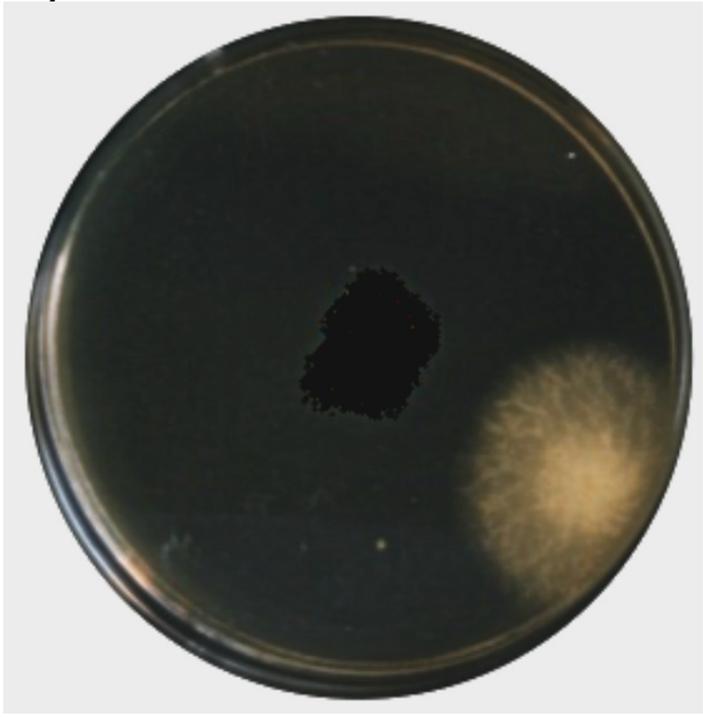


revers

Planche (07) : Microsporium canis



face



revers

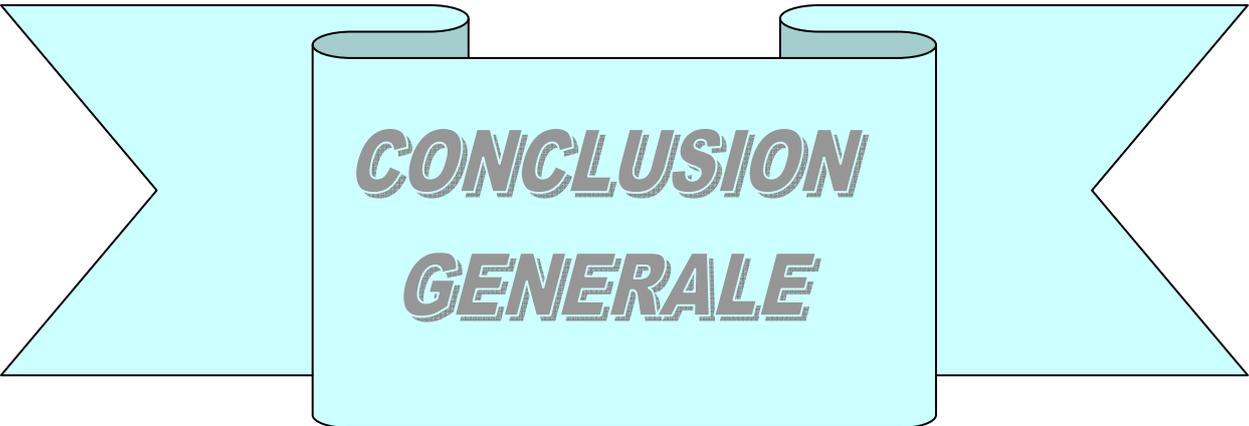
Planche (08) : Chrysosporium

Résultats et discussion 02

```
%%[ ProductName: Distiller ]%%  
%%[ Page: 1 ]%%  
%%[ Page: 2 ]%%  
%%[ Page: 3 ]%%  
%%[ Page: 4 ]%%  
%%[ Page: 5 ]%%  
%%[ Page: 6 ]%%  
%%[ Page: 7 ]%%  
%%[ Page: 8 ]%%  
%%[ Page: 9 ]%%  
%%[ Page: 10 ]%%  
%%[ Page: 11 ]%%  
%%[ Page: 12 ]%%  
%%[ Page: 13 ]%%  
%%[ Page: 14 ]%%  
%%[ Page: 15 ]%%  
%%[ Page: 16 ]%%  
%%[ Page: 17 ]%%  
%%[ Page: 18 ]%%  
%%[ Page: 19 ]%%  
%%[ Page: 20 ]%%  
%%[ Error: ierror; OffendingCommand: imageDistiller; ErrorInfo: DCTDecodeFilter  
Source error or end in scan 0 8x8 block 7896 ]%%
```

Stack:
-dict-

```
%%[ Flushing: rest of job (to end-of-file) will be ignored ]%%  
%%[ Warning: PostScript error. No PDF file produced. ] %%
```



CONCLUSION

GENERALE

Conclusion

Les résultats de l'analyse du paramètre de pH montrent des valeurs de pH alcalin, néanmoins répondant aux normes. Les fluctuations de pH pourraient être expliquées par l'effet de certains facteurs : les apports en eaux usées domestiques, les eaux pluviales et particulièrement les effluents industriels.

L'analyse bactériologique des prélèvements d'eau de mer des plages étudiées nous ont permis de conclure que :

- Les taux des germes totaux sont élevés, ils sont influencés par la pluviométrie et la fréquentation par les baigneurs.
- La le rapport CF/SF indique une contamination fécale à la fois d'origine humaine et animale pour le site *Saint-Claud 02* et une contamination d'origine humaine pour les autres sites.
- La présence des *Clostridium* sulfito-réducteurs témoigne une contamination fécale ancienne.
- La qualité de l'eau dans ces plages est mauvaise.
- Les plages *Saint-Claud 01* et *Belvedere* sont classées en catégorie **C** (eaux momentanément polluées) alors que les plages *Joinville*, *Saint-Claud 02*, et *Chappuis* sont classées en catégorie **D** (eaux de mauvaise qualité).
- Ces plages ne sont pas conformes aux normes européennes ; elles pourraient être interdites à la baignade.

La recherche des germes pathogènes a montré une faible fréquence d'isolement des bactéries ciblées. Ceci pourrait être due à :

- leur absence effective.
- la prédominance des germes fécaux qui ont tendance à les supplanter.
- l'effet de stress qui permet aux bactéries d'être viables mais les rend non cultivables.

Les souches isolées sont rapprochés aux espèces types avec un degré de parenté allant de 72,72% à 100%.

Les espèces bactériennes isolées sont : *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *S.arizonae*, *Shigella soneii*, *Yersinia enterolitica*, *Vibrio cholerae*, *V.parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *S.saprophyticus* et quelques espèces autres que *S.aureus*.

La flore fongique isolée est importante mais peu diversifiée. Cependant, on a pas pu identifier que quelques espèces, en se basant sur l'aspect macroscopique des colonies. Les espèces isolées sont : *Aspergillus niger*, *A.flavus*, *A.fumigatus*, *Trichophyton violaceum*, *T.erinacei*, *Chrysosporium* et *Microsporium canis*. Ces espèces peuvent être responsables des dermatites.

Par ailleurs, *Candida albicans* a été isolée au niveau de tous le sites à l'exception de *Joinville*.

L'étude de la sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques a montré des profils variables. Au terme de cette étude, diverses constatations émergent :

- La résistance à un ou plusieurs antibiotiques est considérable (95% des souches) ; elle implique tous les antibiotiques testés.
- Les souches sensibles à tous les antibiotiques sont en nombre négligeable.
- La gentamycine a une activité inhibitrice élevée et montre une efficacité presque totale.
- Une résistance majoritaire aux β -lactamines utilisés pour les bactéries Gram (-) et totale à ceux utilisés pour les staphylocoques.
- Les différents modèles de multirésistance montre que la multirésistance à plusieurs familles d'antibiotiques domine la résistance à un seul ou une famille d'antibiotique ce qui atteste de l'acquisition de plasmides de résistance.
- L'émergence de résistance et les transferts génétiques entre les espèces rejetées dans l'eau ou entre ces espèces et d'autres bactéries autochtones résistantes pourrait être favorisée par l'existence habituelle de teneurs élevées en matières organiques et en bactéries dans l'environnement aquatique
- Les eaux de surface favorisent une pression de sélection très importante ce qui supposerait l'existence de facteurs de survie ou d'évolution favorable chez les bactéries porteuses de plasmides.

Pour le bénéfice de la science, la sécurité de nos plages et le bien être de nos baigneurs, il serait souhaitable que certaines démarches s'instaurent :

- Elargir l'éventail des recherches en fixant trois stations (points de prélèvement) par plage et prélever 2 à 3 échantillons par station ce qui permettra de suivre la répartition de la flore contaminante.
- Noter à chacun des points, le pH, la température et la turbidité, tout en respectant les conditions de prélèvement.
- Le perfectionnement des techniques microbiologiques ouvrira d'autres horizons. En plus de l'analyse en continu des germes tests, la recherche des bactéries d'intérêt sanitaire au moyen des anticorps monoclonaux et de l'immunofluorescence.
- L'utilisation de la technique des bactériophages, qui est d'une grande simplicité, d'un prix de revient bas et rapide dans l'obtention des résultats.
- La recherche voire le dénombrement des virus qui seraient dix fois résistants dans les eaux qu'*E.coli*.
- L'identification des levures et moisissures isolées des eaux de mer pouvant être à l'origine de dermatoses.
- Compléter par une étude physico-chimique qui révélerait la présence de métaux lourds et de substances toxiques déversées par les usines.
- Installation des stations d'épuration.

Résumé

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer la pollution microbiologique des plages de la ville de Annaba : *Joinoville, Saint-Claud 01, Saint-Claud 02, Chappuis* et *Belvedere*.

L'analyse effectuée s'est portée principalement sur la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, et les germes non spécifiques de contamination fécale qui sont les germes totaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs.

La recherche des pathogènes a été focalisée sur quelques genres bactériens. Une recherche complémentaire des levures et des champignons a été réalisée.

L'antibiogramme permet d'évaluer le degré de résistance des bactéries isolées.

Les résultats de l'analyse bactériologique montrent que les plages étudiées ne sont pas conformes aux normes européennes concernant les eaux de baignade.

Ces plages ont été classées en :

- Eaux momentanément polluées : *Saint-Cloud 01* et *Belvedere*.
- Eaux de mauvaise qualité : *Joinoville, Saint-Cloud 02*, et *Chappuis*.

Par ailleurs, les tests d'identification, auxquels l'ensemble des souches isolées étaient soumises, ont permis d'identifier 40 souches rapprochées aux différents genres : *Escherichia, Salmonella, Shigella, Yersinia, Vibrio, Aeromonas* et *Staphylococcus*.

Parmi les levures isolées, seule *Candida albicans* a été identifiée. Les différentes souches fongiques isolées sont identifiées appartenant aux genres : *Aspergillus, Trichophyton, Chrysosporium* et *Microsporium*.

Les résultats de l'antibiogramme montrent que les bactéries présentent des profils variables.

En général, les bactéries testées montrent une très forte sensibilité à la gentamycine et une résistance majoritaire pour les beta-lactamines utilisés. Elles présentent des résistances acquises concernant un ou plusieurs antibiotiques habituellement actifs.

De là, le traitement des infections causées par ces bactéries résistantes pourrait être très difficile.

Mots clés : pollution microbienne marine, maladies à transmission hydrique, indicateurs de contamination fécale, bactéries pathogènes, résistance aux antibiotiques.

Summary

This study has been achieved in the goal to value the microbiological pollution of Annaba beaches : *Joinoville, Saint-Cloud 01, Saint-Cloud 02, Chappuis and Belvedere*.

The done analysis carried himself mainly on the quantification of the indicatory bacteria of fecal contamination witch are: total coliforms, fecal coliforms and fecal streptococci, and germs no specific of fecal contamination that is the total germs and the sulfite-reducing *Clostridium*.

The research of pathogens was focalized on some bacterial kinds. A complementary research of yeasts and mushrooms has been achieved.

The antibiogramme permits to value the resistance degree of isolated bacteria.

Results of the bacteriological analysis show that the studied beaches are not conform to the European norms concerning bathing waters.

These beaches have been classified :

- Momentarily polluted waters : *Saint-Cloud 01* and *Belvedere*.
- Waters of bad quality : *Joinoville, Saint-Cloud 02, and Chappuis*.

Otherwise, tests of identification, to which the isolated stumps whole was submitted, permitted to identify 40 stumps brought closer to the different kinds : *Escherichia, Salmonella, Shigella, Yersinia, Vibrio, Aeromonas* and *Staphylococcus*.

Among the isolated yeasts, alone *Candida albicans* has been identified. The different mushrooms stumps isolated are identified belonging to kinds : *Aspergillus, Trichophiton, Chrysosporium* and *Microsporum*.

Results of the antibiogramme show that bacteria present variable profiles.

In general, the tested bacteria show a very strong sensitivity to the gentamycine and a majority resistance for the β -lactamines used. They present acquired resistances concerning one or several usually active antibiotics.

From there, the treatment of infections caused by these resistant bacteria could be very difficult.

Key words : marine microbial pollution, water borne diseases, indicatory of fecal contamination, pathogen bacteria, resistance to antibiotics.

ملخص

هذه الدراسة أجريت بهدف تقدير درجة التلوث الميكروبيولوجي لعدة شواطئ من ساحل مدينة عنابة و الآتي ذكرها
Joinoville, Saint-Cloud 01, Saint Cloud 02, Chappuis, Belvedere

التحليل تمحورت أساسا حول تعداد البكتيريا الدالة على التلوث الغانطي مثل القلونييات العامة, القلونييات الغانطية, المكورات السبحية, وكذلك عن الأحياء الدقيقة الغير خاصة بالتلوث الغانطي وهي الجراثيم الكلية و الكلوستريدييات المرجعة للكبريت.

تمحور البحث الأحياء الدقيقة الممرضة حول بعض الأنواع فقط إضافة إلى البحث عن الخمائر و الفطريات. إن فحص المضادات الحيوية يسمح بتقدير نسبة مقاومة البكتيريا المعزولة .

النتائج المتحصل عليها بينت أن الشواطئ التي خضعت للدراسة ليست مطابقة للمعايير الأوروبية الخاصة بمياه السباحة, حيث تنقسم إلى:

- شواطئ ملوثة مؤقتا : *Belvedere و Saint-Cloud 01*
- شواطئ رديئة النوعية: *Chappuis و Saint Cloud 02, Joinoville*

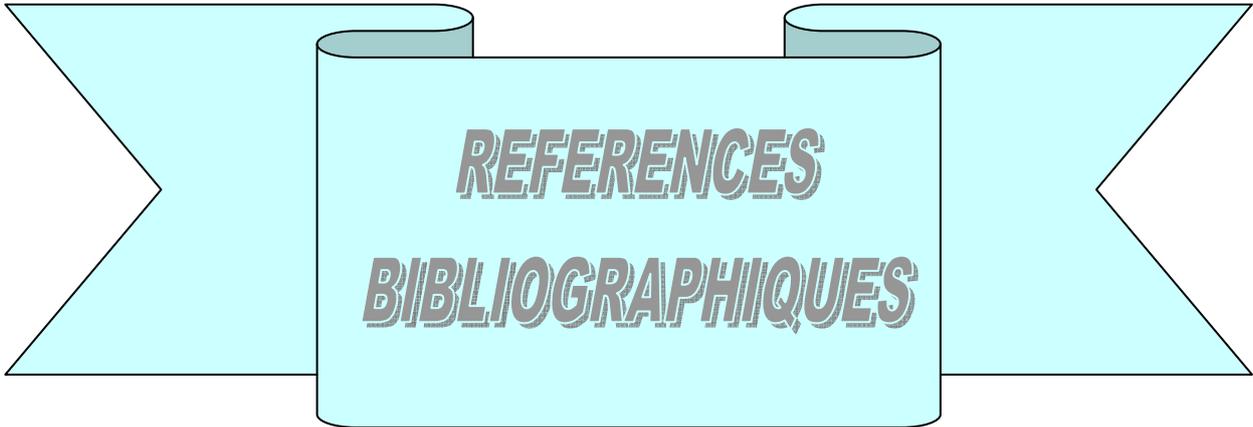
الاختبارات البيوكيميائية التي أجريت على البكتيريا المعزولة سمحت بالتعرف على أربعين سلالة تقترب من الأجناس التالية: *Escherichia, Salmonella, Shigella, Yersinia, Vibrio, Aeromonas, Staphylococcus*

من ضمن الخمائر المعزولة تعرفنا على خميرة *Candida albicans*, أما السلالات الفطرية المعزولة فهي تنتمي إلى الأجناس: *Microsporium و Aspergillus, Trichophyton, Chrysosporium*.

نتائج فحص المضادات الحيوية بينت أن البكتيريا تبدي أنماطا متنوعة. بصفة عامة البكتيريا المختبرة أظهرت حساسية عالية لـ *gentamycine* ومقاومة طاغية للـ *beta-lactamines* المستعملة, كما دلت الدراسة على إن البكتيريا تتمتع بمقاومة مكتسبة لواحد أو عدة مضادات حيوية فعالة.

من هنا فإن معالجة الأمراض التي تسببها هذه البكتيريا المقاومة سيكون صعبا.

الكلمات الدالة: التلوث الجرثومي لمياه البحر, الأمراض المتنقلة عن طريق المياه, مؤشرات التلوث الغانطي, البكتيريا الممرضة, مقاومة المضادات الحيوية.



Références bibliographiques

- [01]- Prescott., Harley., Klein. (1999).
Microbiologie.
De Bæck. Université, 981p.
- [02]- Ait hamlet, S. (1998).
Contribution à l'étude de la qualité de huites oueds de la Wilaya d'El tarf ; Aspects microbiologique et écologique.
Thèse de magister en microbiologie appliquée, Université Badji Mokhtar- Annaba,150p.
- [03]- Leclerc, H., Festy, B., Lazar, P. (1982).
Connaissances actuelles de la pathologie hydrique.
Epidémiologie et santé publique, Masson, Paris, 30: 363-385.
- [04]- Rodier, J., Bazin, C., Brontin, J. P., Chambon, P., Champsaur, H., Rodier, L. (1996).
L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer.
DUNOD, 8^{eme} édition, Paris,1135p.
- [05]- Vaillant, J. R. (1973).
Protection de la qualité des eaux et maîtrise de la pollution : contrôle de déversement d'eaux polluées.
Eyrolles, Paris, 419p.
- [06]- Guiraud, J. P. (1998).
Microbiologie alimentaire.
DUNOD, Paris, 652p.
- [07]- La pollution de l'eau.
www.lennetech.com/fran%c3%A7ais/faq-pollutio-eau.
- [08]- Abchir, Y.
Pollution biologique des eaux : infections d'origine hydrique.
www.fsr.ac.ma/ufrhiep/CSUE/csu1.
- [09]- La pollution marine, les particularités du milieu marin.
www.multimania.com/coll3/sixieme/terre/contocseau.
- [10]- Ghizellaoui, S. (1994).
Evaluation de la qualité des ressources en eau alimentant la ville de Constantine, prévision de la demande en eau à l'horizon de l'an 2010.
Thèse de magister en chimie analytique et traitement des eaux. pp. 13-24.
- [11]- Scriban, R. (1993).
Biotechnologie.
Technique et Documentation, Lavoisier, 4^{eme} édition, Paris, 904p.
- [12]- Pollution par les rejets d'effluents urbains.
www.polmar.com/guidelamer/pollution.

- [13]- Bugnicourt, M. (1995).
Dictionnaire de microbiologie générale.
Marketing, Paris, 911p.
- [14]- Ramade, F. (1998).
Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau.
édiscience international, Paris, 786p.
- [15]- Effluents des établissements hospitaliers : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues.
ruisseau.oieau.fr/pdf/Hopitaux.
- [16]- Duvigneaud, P. (1974).
La synthèse écologique : population, communauté, écosystème, biosphère, noosphère.
Doin, Paris, 296p.
- [17]- Kneese, A.V. (1967).
Economie et gestion de la qualité des eaux.
Dunod, Paris, 260p.
- [18]- Gomella, C., Guerree, H. (1978).
Le traitement des eaux publiques industrielles et privées.
Eyrolles, Paris, 262p.
- [19]- Anonyme. (2002).
Caractéristiques environnementales et fonctionnelles du littoral.
Diagnostic environnemental- Mission Littoral.
DIREN/INEA, pp.13-60.
- [20]- Anonyme. (2003).
Des prescriptions de protection de l'eau et des milieux aquatiques.
Journal officiel de la république algérienne, **43**: p13.
- [21]- Pollutions de l'eau.
www.sos-planete-eau.org/documenter/fiche-inf.
- [22]- Anonyme. (1999).
Le milieu marin et littoral méditerranéen : état et pressions.
L'agence européenne pour l'environnement.
AEE, Copenhague, Danemark, 42p.
- [23]- Haslay, C., Leclerc, H. (1993).
Microbiologie des eaux d'alimentation.
Technique & Documentation, Lavoisier, 495p.
- [24]- Geldreich, E. E. (1978).
Bacterial populations and indicator concepts in feces, sewage, storm water and solid wastes.
In: Indicators of viruses in water and food (Berg, G), *Ann Arbor, Mich, USA*, pp.51-97.
- [25]- Boutin, P et al. (1979).
Charge microbienne des effluents urbains bruts et traits par voie biologique.
TSM l'eau **74**: 62-78.

- [26]- Kott, Y. (1978).
Ozonised secondary effluents of agriculture use, Final report.
Counc. Res. Develop, Haïfa, Israël.
- [27]- Leclerc, H., Oger, C. (1974).
Les eaux usées des hôpitaux et leur importance épidémiologique.
Rev. Epidém. Méd. Soc. Santé Publ, 22 : 185-198.
- [28]- Hugues, B et al. (1976).
Aspect qualitatif et quantitatif de la recherche de «*Salmonella*» dans les eaux usées urbaines.
J. Franç. Hydrol, 7: 163-170.
- [29]- Kampelmacher, E.H., Noorle-Janson, L.M. (1977).
Reduction of « *Salmonella, Escherichia coli* »- coliforms and fecal « Streptococci » by chlorination of sewage treatment plant effluents.
Wat. Res, 11: 545-550.
- [30]- Engelbrecht et al. (1974).
New microbial indicators of wastewater chlorination efficiency.
Envir. Protect. Technol. Series, USEPA. 670p.
- [31]- Lund, E. (1975).
Public health aspects of wastewater treatment.
In: Metting radiation for a clean environment, *Internat. Atomic Energy Agency, Viennes, Autriche*, pp.45-60.
- [32]- Schwatzbrod, J. (1985).
Bactériologie des milieux aquatiques. Aspects écologiques et sanitaires.
In : Point sur l'épuration et le traitement des effluents (Martin, G., Coordon),
Tec. & Doc. Lavoisier, Paris, France, pp. 47-113.
- [33]- Hugues, B et al. (1981).
Nouvelle utilisation de la méthode du nombre le plus probable en virologie : Application à la mise en évidence et à la quantification des virus dans le milieu hydrique.
Th. Doct. Etat. Metz. France.
- [34]- Joret, J. C et al. (1981).
Désinfection des eaux usées par l'ozone : Elimination des bactéries fécales et des virus.
5^{eme} Congr. Mondial O₃, Berlin, Allemagne.
- [35]- Akin, E. W et al. (1977).
Health hazards associated with wastewater effluents and sludge: Microbiological considerations.
Proc. Conf. Land. Application of municipal wastewaters and sludges, pp. 9-26.
- [36]- Scarpino, P.V. (1978).
Bacteriophage indicators. In: Indicators of viruses in water and food (Berg, G), *Ann Arbor Publish., Ann Arbor, Mich, USA.*

- [37]- Arrignon, J. (1976).
Aménagement écologique et piscicole des eaux douces.
Gauthier-Villars, Paris, 340p.
- [38]- de Pontanel, H. G., Guidicelli, C. P. (1993).
Protection de la santé : hygiène et environnement.
Frison-Roche, Paris, 429p.
- [39]- Degremont. (1989).
Mémento technique de l'eau, tome I.
Degremont, Paris, 592p.
- [40]- Aubert, M. (1973).
Equilibre biologique et pouvoir auto-épurateur de la mer.
In . *La mer Méditerranée, Paris : CIHEAM, 19* : 117-123. ill., tabl. (Options Méditerranéennes)
- [41]- Leclerc, H.
Le tube digestif, l'eau et les aliments.
[edicion-micro.usal.es/web/educativo/m-especial/29 atexto3](http://edicion-micro.usal.es/web/educativo/m-especial/29_atexto3).
- [42]- Cherif, H., Silimi, A., Ghoul, M. (2001).
La résistance aux antibiotiques des *Salmonella* dans les eaux de rivière de Sétif.
Science et Technologie, 16: 55-62.
- [43]- Servais, P., Castignolles, N., Petit, F., George, I., Ficht, A. (1999).
Contaminations bactériennes et virale, 18p.
- [44]- Lesne, J. (1998).
Hygiène publique, microbiologie et gestion de l'eau.
Ecole nationale de la santé publique, Rennes, France, 7p.
- [45]- George, I., Servais, P. (2002).
Sources et dynamique des coliformes dans le bassin de la Seine. Ecologie des Systèmes Aquatiques.
Université Libre de Bruxelles, Belgique, 46p.
- [46]- Kreisei, W. (1990).
Water quality and health.
Wat. Sci. Tech, Kyoto, 23: 201-209.
- [47]- Payment, P., Hartman, P. (1998).
Les contaminations de l'eau et leurs effets sur la santé.
Revue des sciences de l'eau, Numéro spécial, pp.199-210.
- [48]- Qualité des eaux de baignade. Dossier de presse. (2003).
Direction générale de la santé.
www.ifremer.fr/envlit/documentation/ dossiers/microbio/micro-c21.
- [49]- Anonyme. (1992).
Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada.
© *Ministère des Approvisionnements et Services Canada, 59p.*

- [50]- Anonyme. (1994).
La pollution microbiologique des plages.
L'eau, l'industrie, les nuisances, **177**: p71.
- [51]- Corbett, S.P. (1993).
The health effects of swimming at Sydney Beaches.
American journal of public health, **83 (12)**: 1701-1706.
- [52]- Alexander, L.M., Heaven, A., Tennant, A., Morris, R. (1992).
Symptomatology of children in contact with sea water contaminated with sewage.
Journal of epidemiology and community health, **46**: 340-344.
- [53]- Fleisher, J.M., Kay, D., Jones, F., Salmon, R.F., Wyer, M.D., Godfree, A.F. (1996).
Marine waters contaminated with domestic sewage: nonenteric illnesses associated with bather exposure in the United Kingdom.
American journal of public health, **86 (9)**: 1228-1234.
- [54]- Prüss, A. (1998).
Review of epidemiological studies on health effects from exposure to recreational water.
International Journal of Epidemiology, **27**:1-9.
- [55]- Huss, H. H. (1995).
Assurance de la qualité des produits de la mer.
FAO Document technique sur les pêches. No. 334, Rome, 186p.
- [56]- Berche, P., Gaillard, J. L., Simonet, M. (1991).
Bactériologie : Les bactéries des infections humaines.
Médecine- Sciences Flammarion, 3^{ème} édition, France, pp.77-601.
- [57]- Bactériologie. (2003).
Service de Bactériologie.DCEM1, 122p.
- [58]- Fasquelle, R., Nénot, A., Christol, D., Demauche, R., Nicolle, P. (1957).
Précis de bactériologie médicale.
2^{ème} édition, France, pp.395-568.
- [59]- Gastro-entérites à *E.coli*.
www.chez.com/guatemalt/ESCHE.
- [60]- Entérobactéries.
anne.decoستر.free.fr/bgn/enterob.
- [61]- Avril, J. L., Denis, F., Dabernat, H., Monteil, H. (2000).
Bactériologie clinique.
Ellipses, 3^{ème} édition, France, pp.6-417.
- [62]- Anonyme. (2004).
Qualité microbiologique de l'eau potable. Bactéries pathogènes d'origine hydrique : microorganismes préoccupants courants et émergents,
Le comité fédéral- provincial- territorial sur l'eau potable, 41p.

- [63]- Garcia, M.I., Le Bouguéneq, C. (1997).
Enteric infections due to *Escherichia coli*.
Institut Pasteur, Paris, France, pp.38-43.
- [64]- www.vulgaris-medical.net/textp/pseudomo.
- [65]- Les maladies infectieuses.
www.pasteur.fr/externe.
- [66]- Berche, P. (1999).
Choléra et environnement.
Méd. Mal. Infec, © Elsevier, Paris, **29** : 301-307.
- [67]- *Vibrionaceae* et *Aeromonaceae*.
www.techmicrobio.net/systematique/Gramnegatif/Vibrio-Aeromonas/Vibrio-Aeromonas.
- [68]- *Vibrio cholerae*.
science-citoyen.u-strasbg.fr/dossiers/risques/html/partie3/liste-risq/bact%8Eries/Vibrio.
- [69]- *Vibrio cholerae*.
www.microbes-edu.org/professionel/diag/Vibrio.
- [70]- www.hc.gc.ca/pphb-dgspsp/msds-ftss/msds195f.
- [71]- Starvic, S., Buchanan, D. (1995).
Isolement et dénombrement de *Vibrio vulnificus* dans les poissons et les fruits de mer.
www.jem.org/content/vol199/issurs/index.
- [72]- Chelboeuf, G.G.
A propos de la première infection à *Vibrio vulnificus* sur le littoral de la Manche.9p.
www.collegebvh.org/fmc/vibrio.php3.
- [73]- Enzéby, J. P. (2002).
Aeromonas hydrophila.
Dictionnaire de bactériologie vétérinaire, 6p.
- [74]- www.biomath.jussieu.fr/bacterio/betalact.
- [75]- Avril, J.L. (1991).
Dictionnaire pratique de bactériologie.
Ellipses, p86.
- [76]- Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., Vargues, R. (1987).
Bactériologie médicale : techniques usuelles.
SIMEP, pp.16-151.
- [77]- Rolson, K. V. I., Bodey, G. P. (1992).
Pseudomonas aeruginosa infection in cancer patients.
Cancer investigation, **10(1)**: 43-59.
- [78]- www.vulgaris-medical.net/textp/pseudomo.

- [79]- Christin, C. (2001).
Les infections reliées aux piscines: un problème important de santé publique.
Vecteur et environnement, **34 (4)**: 58-61.
- [80]- Ould Brahim Elkory, M. (1998).
Bacille pyocyanique : identification et sensibilité aux agents antibactériens.
Thèse de Magister, Université Badji Mokhtar-Annaba, 115p.
- [81]- Le Minor, L., Véron, M. (1989).
Bactériologie médicale.
Flammarion, 2^{ème} édition, pp.107-598.
- [82]- Rahal, K et col, (1983).
Pseudomonas aeruginosa : résistance aux antibiotiques et épidémiologie.
OPU, N° 1456, pp. 9-13.
- [83]- www.anne.decocter.free.fr/staph/staph.
- [84]- Maktari, Z. (1982).
Microbiologie de l'œil.
OPU, 2^{ème} édition, 116p.
- [85]- Pillet, C. (1987).
Bactériologie médicale et vétérinaire.
Doin, 2^{ème} édition, 372p.
- [86]- Blok, L., Cereceda, M., Gastellu- Etchegorry, M., Henkens, M., Rigal, J., deSmet, M., Grouzard, V. (2004).
Guide clinique et thérapeutique pour les programmes curatifs des hôpitaux et des dispensaires à l'usage des prescripteurs.
© *Médecins Sans Frontières*, 350p.
- [87]- Leyral, G., Joffin, J. N. (1998).
Microbiologie technique.
Centre régional de documentation pédagogique (CRPD) d'Aquitaine, 2^{ème} édition, pp.249-297.
- [88]- Delarras, C. (1998).
Microbiologie. 90 heures de Travaux pratiques.
© *Gaëtan Morin, France*, pp.40-275.
- [89]- Solet-Drass, M. (2002).
Le contrôle sanitaire des eaux de baignade.
L'OREOLE N°39, 2p.
- [90]- Champiat, D., Larpent, J. P. (1994).
Biologie des eaux. Méthodes et techniques.
Masson, Paris, pp.184-189.
- [91]- L'enquête bactériologique.
www.oieau.fr/refea/analyseEau/enquete-bacterio-presGen.

- [92]- Impact de la pollution sur le milieu marin.
www.ifremer.fr/dell.Eauxmarines.
- [93]- Pollution par les microorganismes. (2002).
www.cciw.ca/atlas-gwq/polltion-f.
- [94]- Anonyme. (2004).
Les eaux destinées à la consommation humaine, le contrôle sanitaire des eaux de baignade.
L'état dans les pyrénées-orientales. **12** :2p.
www.logement.equipement.gouv.fr.
- [95]- Larpent, J. P., Gourgaud, M. L. (1997).
Mémento de microbiologie.
techniques et documentations, 3^{eme} édition, Paris, 265p.
- [96]- Craun, G.F., Berger, P.S., Calderon, R.L. (1997).
Coliform bacteria and waterborne disease outbreaks.
Journal AWWA, 89(3): 96-104.
- [97]- Cheung, W.H.S., Chang, K.C.K., Hung, R.P.S., Kleevens, J.W.L. (1990).
Health effects of beach water pollution in Hong Kong.
Epidemiol. Infect. 105 : 139-162.
- [98]- OMS. (1994).
Directives de qualité pour l'eau de boisson, 2^{eme} édition, V.I : Recommendations, pp.8-195.
- [99]- Geldreich, E. E., Kenner, B. A. (1969).
Concepts of fecal Streptococci in stream pollution. In: Influence of temperature on bacterial development in waters. Fransolet, G., Villers, G., Massechelein, W.J. (1985).
- [100]- Alkan, U. (1999).
The fate of Enteric Bacteria in relation to suspended particules in sea water.
© *J.CIWEM, 13*: 16-23.
- [101]- Valentain, A., Tremblay, T., Gagnon, F., Cartier, J. F. (2000).
Evaluation de la validité des indicateurs de contamination fécale des mollusques bivalves et des eaux coquillières de la rive nord de l'estuaire maritime du Saint-Laurent.
Régie régionale de la santé et des services sociaux de la Côte-Nord, Direction de la santé publique, 90p.
- [102]- Contrôle des eaux.
www.e-sante.fr/magazine/article.asp?idArticle=5870&idRubrique=4
- [103]- Qualité des eaux marines. Aménagement du territoire et environnement: politiques et indicateurs, pp.189-191.
www.ospar.org.
- [104]- Dellaras, C. (2000).
Microbiologie de l'environnement avec législation. Travaux pratiques commentés.
© *Gaëtan Morin, France, pp.38-203.*

- [105]- Larpent, J. L., coordonnateur. (1997).
Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire.
Technique & Documentation, pp.256-672.
- [106]- Gauthier, E. (1993).
Les antibiotiques: l'envers du miracle.
Agera, **01(2)**: 4p.
- [107]- La résistance aux antibiotiques.
fr.encyclopedia.yahoo.com/articles/ne/ne-0046-po.
- [108]- Harold, C. N. (1992).
The crisis in antibiotic resistance.
Science, **257**: 1064-1073.
- [109]- Courvalin, P. (1997).
La résistance aux antibiotiques est devenue préoccupante.
La Lettre de l'Institut Pasteur, **19**: 4-13.
- [110]- Aubry-Damon, H. (2002).
Que sait-on de la résistance aux antibiotiques des infections bactériennes en ville?
INVS, Département des Maladies Infectieuses, Paris.
www.grog.org/documents/jour-2002/aubry-damon.
- [111]- La résistance aux antibiotiques.
www.nrp49.ch/pages/index.cfm?srv=cmf&rub=1120&1d=&1320.
- [112]- Monnet, D.L., Emborg, H.D., Anderson, S.R., Schöller, C., Sorensen, T.L., Bager, F. (1999).
Surveillance de la résistance antimicrobienne au Danemark, 5p.
www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Productions/santeanimale/surveillance/antibioresistance.
- [113]- Antibiorésistance.
www.anmv.afssa.fr/antibioresistance/Default.
- [114]- Gaudichon, C., Argot, C., Geyer, S., Israël, S., Loiseau, B. (2002).
L'antibiorésistance, c'est les autres. 6p.
- [115]- www.pasteur.fr/actu/press/dossiers/malinfectieuses/histoire.
- [116]- Résistance aux antibiotiques.
www.anne.decoستر.free.fr/atb/resab.
- [117]- Anonyme . (2001).
Etude de l'activité des antibiotiques sur les germes isolés au service de bactériologie du laboratoire universitaire de Butare de 1991 à 2000. A propos de 8047 souches.
www.Santetropicale.com/rwanda/antibio.
- [118]- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., Ouarkorich, M. N. (2001).
Résistance bactérienne aux antibiotiques.
Médecine du Maghreb, **91** : 13-14.

- [119]- Anonyme. (1993).
La résistance des bactéries : la santé publique menacée.
La Lettre de l'Institut Pasteur, **2**: 5-10.
- [120]- Andremont, A. (2001).
Combattre la résistance aux antibiotiques.
Biofutur, **217**: 41-43.
- [121]- Résistance aux antibiotiques.
www.anne.decoستر.free.fr/atb/atb.
- [122]- La résistance antimicrobienne : ses conséquences sur le traitement des infections courantes de l'enfant. (1996).
Pediatrics & Child Health, **01(1)** : 57-62.
www.cps.ca/français/enonces/ID/id96-02.
- [123]- www.giphar.com/article185.
- [124]- Résistance bactérienne.
www.microbes-edu.org/etudiant/antibio3.
- [125]- La pollution industrielle : conséquences pour l'environnement marin.
www.3.uqar.quebec.ca/jpellerin/semé/08-pollution-industrielle/pollution-antibio-aquacul.
- [126]- www.ifremer.fr/delao/français/valorisation/quadrige/donnees/index.
- [127]- Rompré, A., Laurent, P., Servais, P. (2002).
Détection et énumération des coliformes dans l'eau potable : une revue des méthodes existantes.
Vecteur et environnement, **35 (3)**: 58-65.
- [128]- Marchal, N., Bourdon, J. L., Richard, C. (1982).
Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.
Biologie appliquée.
Doin, Paris, pp.50-385.
- [129]- Guillaume, P.Y. (2004).
Les milieux de culture en microbiologie.
www.2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux
- [130]- Leclerc, H. (1979).
Les bioindicateurs bactériens de santé publique en milieu aquatique. In : Dynamique de population et qualité de l'eau. *Bordas, Paris*, pp.17-50.
- [131]- Guiraud, J., Galzey, P. (1980).
Analyses microbiologiques dans les industries alimentaires.
de lusine nouvelle, Paris, pp.216-236.
- [132]- Singleton, P. (1999).
Bactériologie (cours 2^{ème} cycle).
Dunod, 4^{ème} édition, Paris, pp.330-351.

- [133]- [tic.cegep-chicoutimi.qc.ca/depttab/martine/milieux %20de%20 culture.ppt](http://tic.cegep-chicoutimi.qc.ca/depttab/martine/milieux%20de%20culture.ppt).
- [134]- Diagnostics Pasteur. (1987).
Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur : microbiologie, immunologie.
3^{ème} édition, pp.13-383.
- [135]- *Vibrionaceae* et *Aeromonaceae*.
www.techmicrobio.net/systematique/Gramnegatif/Vibrio-Aeromonas/Vibrio-Aeromonas.
- [136]- *Candida albicans*.
www.Coproweb.free.fr/mycoweb/texte/144.
- [137]- Antibiogramme en diffusion. Recommandations techniques et Guide d'interprétation.
Communiqué 1998 du comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie.
Sanofi Diagnostics Pasteur, 12p.
- [138]- Burnichon, N., Anthony, T. (2003).
L'antibiogramme: la détermination des sensibilités aux antibiotiques.
DES Bactériologie, 29p.
- [139]- Euzéby, J.P. (2001).
Evaluation in vitro de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
Dictionnaire de bactériologie.17p.
- [140]- Cohen, Y. (1997).
Abrégés Pharmacologie.
Masson : Paris Milan Barcelone, 4^{ème} édition, pp. 363-402.
- [141]- Antibiothérapie.
www.lyon-sud.univ-lyon1.fr/bacterio/cours/*Base1.1.
- [142]- www.pharmacie-neos.be/pharmacologie-infection-cancer.
- [143]- www.microbes-edu.org/etudiant/antibio1.
- [144]- Les antibiotiques.
Clermont.fr/etabliss/dpambert/eleves/medicaments/antibiotiques.
- [145]- Classification des antibiotiques.
www.odonte.com/articles/pharmaco/classificationantibio.
- [146]- Les différentes classes d'antibiotiques.
www.123bionet/cours/antibio/sulfamides.
- [147]- Soussy, C. J. (1998).
Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie : Communiqué 1998,
23p.
- [148]- O'Neill, H.J., McKim, M., Allen, J., Choate, J. (1994).
Surveillance de la qualité des eaux de surface : Guide à l'intention des particuliers, des étudiants et des collectivités des provinces canadiennes de l'Atlantique.
Cat. MAS, 37 :109p.

- [149]- Cheung, W.H.S., Chang, K.C.K., Hung, R.P.S. (1991).
Variations in microbial indicator densities in beach waters and health-related assessment of bathing water quality.
Epidemiol. Infect., **106**: 329-344.
- [150]- Avril, J. L et Col. (1988).
Bactériologie clinique.
Ellipses, pp.272-292.
- [151]- Kernbaum, S. (1990).
Eléments de pathologie infectieuse.
Malonie s.a, 2^{eme} édition, Paris, pp.95-104.
- [152]- Micheline Roussel-Devallez. CHRU-Lille.
Comment je lit un antibiogramme : la lecture interprétative.
www.infectiologie.com/public/enseignement/DU/du-lyon.

Echelle 1/25000

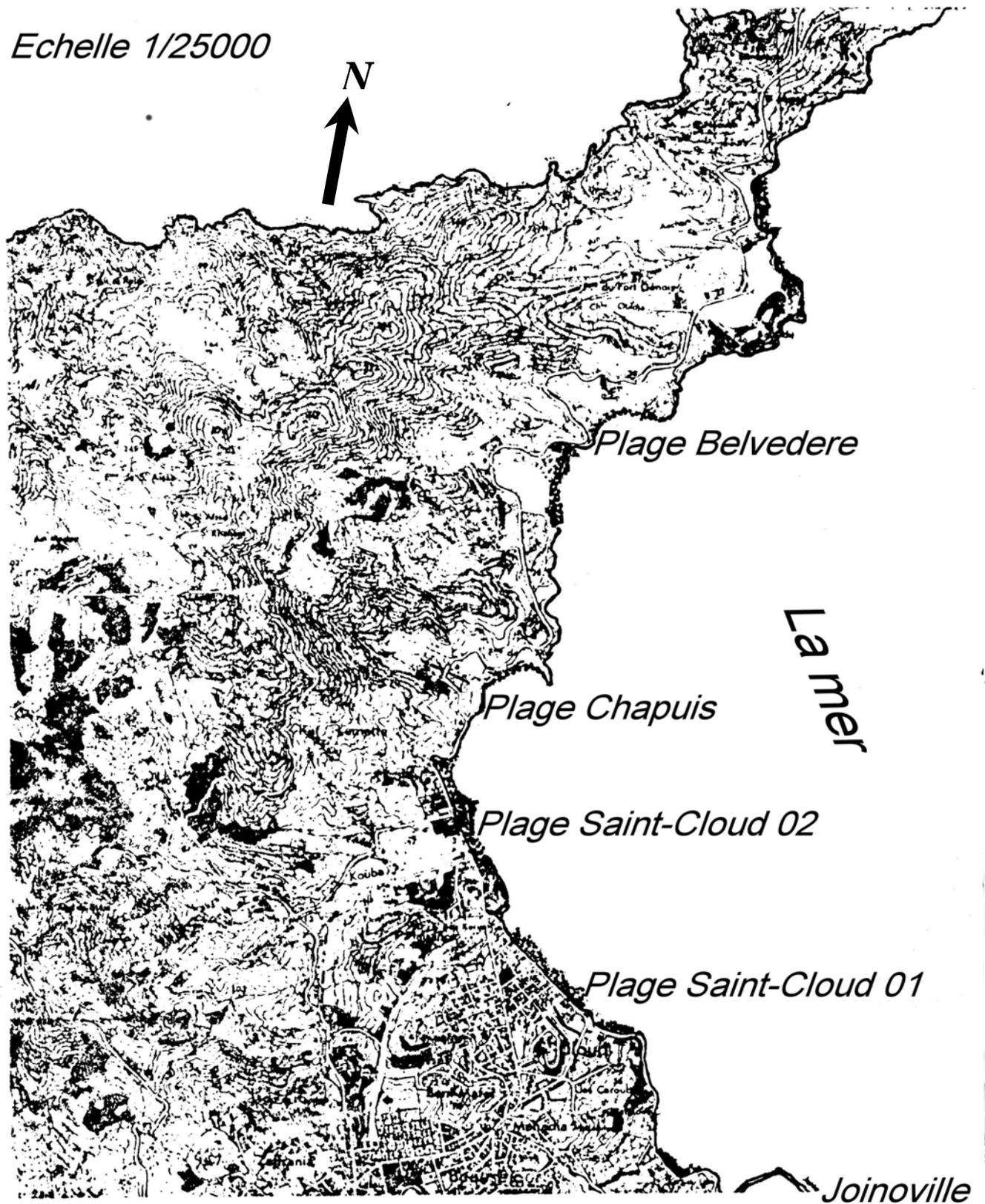
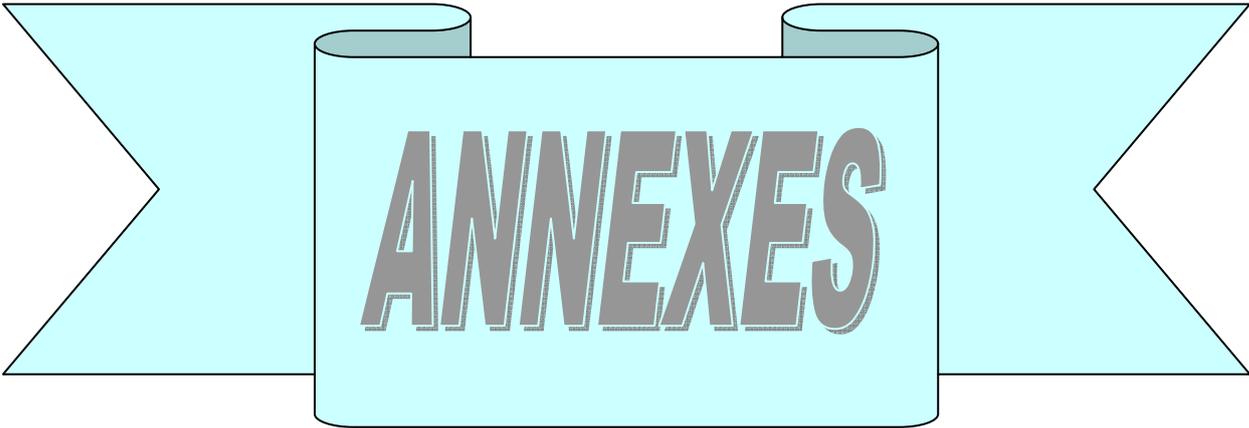


Figure (03): Localisation géographique des sites de prélèvements sur la cote de la ville d' Annaba



Annexe N° 01 : Milieux de culture utilisés

[M1] : Gélose tryptone-glucose –extrait de levure (T.G.E.A) :

- Tryptone 6g
 - Extrait de levure 3g
 - Agar 15g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: $7\pm 0,2$ autoclavage 20 min à 120°C

[M2] : Bouillon lactosé au bromocrésol pourpre simple concentration (B.C.P.L S/C) :

- Peptone 5g
 - Extrait de levure 2g
 - Lactose 5g
 - Pourpre de bromocrésol 0,025g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: $6,9\pm 0,2$ autoclavage 20 min à 115°C

[M3] : Bouillon lactosé au bromocrésol pourpre double concentration (B.C.P.L D/C) :

- Peptone 10g
 - Extrait de viande 4g
 - Lactose 10g
 - Pourpre de bromocrésol 0,05g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: $6,9\pm 0,2$ autoclavage 20 min à 115°C

[M4] : Milieu de Schubert (milieu indole-mannitol) :

- Tryptophane 0,2g
 - Acide glutamique 0,2g
 - Sulfate de magnésium 0,7g
 - Citrate de sodium 0,5g
 - Sulfate d'ammonium 0,4g
 - Chlorure de sodium 2g
 - Peptone 10g
 - Mannitol 7,5g
 - Phosphate disodique 4g
 - Phosphate monopotassique 0,6g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,6 autoclavage 10 min à 115°C

[M5] : Milieu de Rothe S/C :

- Peptone 20g
- Glucose 5g

- Chlorure de sodium 5g
 - Monohydrogénophosphate de potassium(K_2HPO_4) 2,7g
 - Dihydrogénophosphate de potassium($KH_2 PO_4$) 2,7g
 - Azide de sodium(NaN_3) 0,2g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 6,8±2 autoclavage 20 min à 120°C

[M6] : Milieu de Rothe D/C :

- Peptone 40g
 - Glucose 10g
 - Chlorure de sodium 10g
 - Monohydrogénophosphate de potassium(K_2HPO_4) 5,4g
 - Dihydrogénophosphate de potassium($KH_2 PO_4$) 5,4g
 - Azide de sodium(NaN_3) 0,4g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 6,8±2 autoclavage 20 min à 120°C

[M7] : Milieu de Litsky /bouillon à l'éthyle violet et l'azide de sodium (E.V.A) :

- Peptone 20g
 - Glucose 5g
 - Chlorure de sodium 5g
 - Monohydrogénophosphate de potassium(K_2HPO_4) 2,7g
 - Dihydrogénophosphate de potassium($KH_2 PO_4$) 2,7g
 - Azide de sodium(NaN_3) 0,3g
 - Solution d'éthyl violet 5ml
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 6,8 autoclavage 20 min à 120°C

[M8] : Gélose viande-foie (V.F) :

****gélose de base :***

- Base viande-foie 30g
 - Glucose 2g
 - Amidon 2g
 - Agar 11g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,6 autoclavage 10 min à 120°C

****gélose complète :***

même formule que le milieu de base auquel sont ajoutés :

- Sulfite de sodium à 5% 50ml
 - Alun de fer ammoniacal à 5% 10ml
- pH: 7,2±0,2

[M9] : Gélose lactosée au bromocrésol pourpre (B.C.P) :

- Peptone de viande	5g
- Extrait de viande	3g
- Lactose	10g
- Pourpre de bromocrésol	0,025g
- Agar	15g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7±0,1 autoclavage 15 min à 120°C

[M10] : Milieu de Hajna-Kligler (K.I.A) /milieu lactose-glucose-H₂S :

- Extrait ce viande de bœuf	3g
- Extrait de levure	3g
- Peptone pancréatique de caséine	20g
- Chlorure de sodium	5g
- Lactose	10g
- Glucose	1g
- Sulfate ferreux ammoniacal	0,5g
- Thiosulfate de sodium (Na ₂ S ₂ O ₃)	0,5g
- Rouge de phénol	0,025g
- Agar	12g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,4 autoclavage 20 min à 115°C

[M11] : Milieu trois sucres –fer : triple sugar iron –agar (T.S.I) :

- Extrait de boeuf	3g
- Extrait de levure	3g
- Peptone	15g
- Protéose peptone	5g
- Lactose	10g
- Saccharose	10g
- Glucose	1g
- Chlorure de sodium	5g
- Sulfate de fer II (FeSO ₄)	0,2g
- Thiosulfate de sodium	0,3g
- Rouge de phénol	0,024g
- Agar	12g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,4±0,2 autoclavage 15 min à 120°C

[M12] : Milieu au citrate de Simmons :

- Citrate de sodium	1g
- Chlorure de sodium	5g
- Sulfate de magnésium	0,2g
- Monohydrogénophosphate de potassium	1g
- Dihydrogénophosphate d'ammonium	1g

- Bleu de bromothymol 0,08g
 - Agar 13g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 6,8±0,2 autoclavage 20 min à 120°C

[M13] : Milieu mannitol-mobilité :

- Peptone tryptique de viande 20g
 - Mannitol 2g
 - Rouge de phénol à 1% 4g
 - Agar 4g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,6±0,2 autoclavage 30 min à 110°C

[M14] : Eau peptonée exempte d'indole :

- Peptone bactériologique 10g
 - Chlorure de sodium 5g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,2±0,2 autoclavage 15 min à 121°C

[M15] : Milieu de Clark et Lubs :

- Peptone 5g
 - Phosphate dipotassique (K₂HPO₄) 5g
 - Glucose 5g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,5±0,2 autoclavage 30 min à 110°C

[M16] : Milieu de Ferguson /milieu urée-indole :

- L-tryptophane 3g
 - Monohydrogénophosphate de potassium 1g
 - Dihydrogénophosphate de potassium 1g
 - Urée 20g
 - Chlorure de sodium 5g
 - Alcool à 95% 10ml
 - Rouge de phénol à 1% 0,025g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7 stérilisation par filtration

[M17] : Milieu Möller pour la recherche de la lysine décarboxylase (L.D.C) :

- Peptone pepsique de viande 5g
- Extrait de viande 5g
- Bromocrésol pourpre 0,01g
- Rouge de crésol 0,005g

- Glucose	0,5g
- Pyridoxal	0,005g
- L-lysine	10g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,3 autoclavage 15 min à 121°C

[M18] : Milieu Möller pour la recherche de l'ornithine décarboxylase (O.D.C) :

- Peptone pepsique de viande	5g
- Extrait de viande	5g
- Bromocrésol pourpre	0,01g
- Rouge de crésol	0,005g
- Glucose	0,5g
- Pyridoxal	0,005g
- L-ornithine	10g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,3 autoclavage 15 min à 121°C

[M19] : Bouillon nitraté :

- Extrait de viande	3g
- Peptone	5g
- Nitrate de potassium (KNO ₃)	1g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,2±0,2 autoclavage 15 min à 121°C

[M20] : Bouillon au sélénite /bouillon de Leifson (S.F.B) :

- Peptone	5g
- Lactose	4g
- Phosphate disodique	10g
- Sélénite acide de sodium	4g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,2±0,2 chauffage au maximum à 60°C pendant 10 min

[M21] : Gélose d'Hektoen :

- Protéose peptone	12g
- Extrait de levure	3g
- Chlorure de sodium	5g
- Thiosulfate de sodium	5g
- Sels biliaires	9g
- Citrate de fer ammoniacal	1,5g
- Salicine	2g
- Lactose	12g
- Saccharose	12g
- Fuschine acide	0,1g

- Bleu de bromothymol 0,065g
 - Agar 14g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,5 bouillir pendant 1min

[M22] : Gélose *Salmonella-Shigella* (S-S) :

- Extrait de viande de boeuf 5g
 - Bio-polytone 5g
 - Sels biliaires 8,5g
 - Lactose 10g
 - Citrate de sodium 8,5g
 - Thiosulfate de sodium 8,5g
 - Citrate ferrique 1g
 - Vert brillant 0,00033g
 - Rouge neutre 0,025g
 - Agar 13,5g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7 stérilisation 30 min à 100°C

[M23] : Eau peptonée alcaline (E.P.A) :

- Peptone 30g
 - Chlorure de sodium 30g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 8,6 autoclavage 20 min à 121°C

[M24] : Gélose nutritive (G.N) :

- Peptone pepsique de viande 5g
 - Extrait de viande 1g
 - Extrait de levure 2g
 - Chlorure de sodium 5g
 - Agar 15g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,4±0,2 autoclavage 15 min à 121°C

[M25] : Gélose hyperalcaline :

La composition est la même que celle de la gélose nutritive ordinaire, seulement dans ce cas, elle est ajustée à pH: 9.

[M26] : Bouillon de Giolitti Cantoni :

- Tryptone 10g
- Extrait de viande 5g
- Extrait de levure 5g

- Chlorure de lithium	5g
- Mannitol	20g
- Tween 80	1g
- Chlorure de sodium	5g
- Glycine ou glycolle	1,2g
- Pyruvate de sodium	3g
- Eau distillée	1000ml

pH: 6,8±0,2 autoclavage 20 min à 115°C

[M27] : Milieu de Chapman :

- Peptone	10g
- Extrait de viande	1g
- Chlorure de sodium	75g
- Mannitol	10g
- Rouge de phénol	0,025g
- Agar	15g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,6 autoclavage 20 min à 121°C

[M28] : Bouillon cœur-cerveau (B.H.I.B) :

- Peptone pepsique de viande	10g
- Extrait de cervelle	12,5g
- Extrait de cœur	5g
- Glucose	2g
- Chlorure de sodium	5g
- Hydrogénophosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	2,5g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,4±0,2 autoclavage 15 min à 121°C

[M29] : Milieu de Mueller-Hinton (M.H) :

- Infusion de viande de bœuf	300g
- Hydrolysate acide de caséine	17,5g
- Amidon de maïs	1,5g
- Agar	17g
- Eau distillée	1000ml

pH: 7,3±0,1 autoclavage 15 min à 121°C

[M30] : Milieu Möller pour la recherche de l'arginine dihydrolase (A.D.H) :

- Peptone pepsique de viande	5g
- Extrait de viande	5g
- Bromocrésol pourpre	0,01g
- Rouge de crésol	0,005g
- Glucose	0,5g
- Pyridoxal	0,005g

- L-arginine 10g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,3 autoclavage 15 min à 121°C

[M31] : Gélose au cétrimide :

- Peptone 20g
 - Chlorure de sodium 3g
 - Sulfate de potassium 10g
 - Monohydrogénophosphate de potassium 0,3g
 - Cétrimide (bromure de tétradonium) 0,2g
 - Acide nalidixique 0,015g
 - Agar 12g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,1 autoclavage 20 min à 121°C

[M32] : Milieu de King A :

- Peptone tryptique de gélatine (peptone A) 20g
 - Glycérol 10g
 - Sulfate de potassium anhydre 10g
 - Chlorure de magnésium anhydre 1,4g
 - Agar 15g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,2 autoclavage 20 min à 121°C

[M33] : Milieu de King B :

- Polypeptone (peptone B) 20g
 - Glycérol 10g
 - Phosphate bipotassique anhydre 1,5g
 - Sulfate de magnésium 1,5g
 - Agar 15g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 7,2 autoclavage 20 min à 121°C

[M34] : Gélose Sabouraud plus chloramphénicol :

- Peptone pepsique de viande 10g
 - Glucose 20g
 - Chloramphénicol 0,5g
 - Agar 15g
 - Eau distillée 1000ml
- pH: 6-6,3 autoclavage 20 min à 121°C

Annexe N° 02 : Réactifs utilisés

Réactif de la recherche de l'oxydase :

Disques imprégnés d'une solution à 1% de chlorhydrate de tétraméthylparaphénylènediamine.

Réactif de Kovacs :

- | | |
|---------------------------------|-------|
| - P-diméthyl aminobenzaldéhyde | 7 g |
| - Alcool amylique | 75 ml |
| - Acide chlorhydrique concentré | 20 ml |

Réactif du rouge de méthyle :

- | | |
|--------------------|--------|
| - Rouge de méthyle | 0,5 g |
| - Alcool à 80° | 100 ml |

Réactifs de Voges-Proskauer (VP) :

VP I :

- | | |
|--------------------------|--------|
| - Hydroxyde de potassium | 40 g |
| - Eau | 100 ml |

VP II :

- | | |
|---------------------|--------|
| - α naphthol | 6 g |
| - Ethanol | 100 ml |

Réactif de la recherche de la tryptophane désaminase (TDA) :

- | | |
|-------------------------|--------|
| - Perchlorure de fer | 3,4 g |
| - Eau distillée stérile | 100 ml |

Réactifs pour la recherche de la nitrate réductase (NR) :

Réactif 01 :

- | | |
|----------------------|--------|
| - Acide sulfamilique | 0,8 g |
| - Acide acétique 5N | 100 ml |

Réactif 02 :

- | | |
|---------------------|--------|
| - Naphtylamine | 0,5 g |
| - Acide acétique 5N | 100 ml |

Solution de l'eau oxygénée à 10% :

- | | |
|------------------------|---------|
| - Eau oxygénée à 110 V | 0,5 ml |
| - Eau distillée | 14,5 ml |

Disques antibiotiques :

- SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR.
- bio Mérieux sa.
- BIO-RAD.

Annexe N° 03 : Table de référence pour la détermination du nombre le plus probable (N.P.P) de bactéries par 100 ml d'échantillon [04]

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