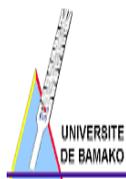


Ministère des enseignements secondaire

Université de Bamako

République du Mali

Un Peuple – Un But – Une Foi



UNIVERSITE DE BAMAKO

Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie



Année Universitaire 2007/2008

Thèse N°...../2007

THEME :

**ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES EAUX
DE BOISSONS VENDUES EN SACHET
DANS QUATRE COMMUNES D'ABIDJAN**

Thèse présentée et soutenue publiquement le 25/02 /2008

Par M^{lle} N'DIAYE ANNA

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat).

COMPOSITION DU JURY

Président : Professeur GAOUSSOU KANOUTE

Asseseurs : Professeur SOUNKALO DAO
Docteur SOULEYMANE DIALLO

Co-directeur : Professeur FLABOU BOUGOUDOGO

Directeur : Professeur DOSSO MIREILLE

Thèse soutenue par M^{lle} Anna N'DIAYE



DEDICACE ET REMERCIEMENTS

IN ALLAH I TRUST.

*A mon DIEU qui m'a assisté tout le long de ce travail.
Dieu tout puissant, toi qui de toute chose sais quand son heure, je te rends gloire et honneur pour l'aboutissement de mes études de pharmacie. Je te prie de me guider dans cette nouvelle étape de la vie qui va s'ouvrir à moi. Merci de me conduire, de me guider, de me protéger en tout temps, tout lieu et dans toute circonstance dans l'exercice de ma profession.*

A MON PERE

*FEU NDIAYE CHEICK, celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que : « la volonté fait toujours les grands Hommes... », celui qui a su toujours nous montrer le bon exemple à travers sa grande foi en Dieu, sa rigueur et son intégrité dans l'accomplissement du travail.
J'ai eu beaucoup de chance de t'avoir papa au début de ces études mais pas assez pour que tu sois là à la fin. Trouves dans ce travail le résultat de tous tes sacrifices et prières de Même que l'expression de toute ma reconnaissance et mon amour.*

A MA MERE

*FATOUMATA SANGARE, celle qui à attendu avec patience, compréhension et douceur les fruits de sa bonne éducation.
Mère, merci pour l'amour et les prières dont tu m'as toujours gratifié, pour les bénédictions qui m'ont permis de franchir et supporter toutes les difficultés rencontrées. J'aimerais ici te dire combien je t'aime et que Dieu te garde encore longtemps dans la santé.*

A FEU ASSITA FANNY

L'une des premières personnes à m'encourager sur ce choix. « Maman » notre objectif est atteint.

A SAMBA NDIAYE

En reconnaissance de ton soutien et de tous les sacrifices consentis le long de ma formation, j aimerais que tu trouves dans ce travail le couronnement de tous tes efforts. Samy, ce travail est aussi le tien.

A FATOUMATA DAO

Ton hospitalité, ta patience et ta compréhension ont largement contribué à la réalisation de cette thèse. Trouves dans ce travail chère grande sœur l'expression de ma profonde gratitude.

A PAPA MADANI BAH ET FAMILLE

Vos encouragements et votre soutien m'ont sans cesse poussé à me concentrer sur mes études. Merci pour votre contribution utile dans ma vie. Trouvez ici le couronnement de vos sacrifices.

A MES ONCLES ET TANTES

Votre soutien moral, et vos conseils avisés m'ont conduit au bout de ce travail. Que Dieu vous bénisses et vous gardes longtemps auprès de nous.

A MES FRERES ET SŒURS, COUSINS ET COUSINES

Je suis comblée de vous avoir. Nous devons cultiver l'entente et l'union afin de hisser très haut notre drapeau familial. Merci pour tous vos encouragements. Votre affection n'a point fait défaut.

A AMADOU COULIBALY ET FAMILLE

L'amour, la tendresse et l'attention dont vous avez fait preuve à mon égard me sont allés droit au cœur. Trouvez dans ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

A TOUS MES PROMOTIONNAIRES DE LA FACULTE DE PHARMACIE.

A MES AINES ET AMI(E)S

Karim, Mariane, Fatou, Naffi, Hamssatou, Adjo, Achille, William, Toure, Miguella, Awa, Kalifa, Toumani, Habib, Salima, Thierry, Assita, Antaro, Arnaud, Mariam, Aboly, Zoria, Basile. Merci pour tous ces moments passés ensemble et votre soutien. Que Dieu veuille sur vous.

A MES PETITES SŒURS CHERIES

Oumou, Kady, Nina, Rami, Rrokia, Mariam, Fanta, Rokia, Julienne, Naffi, Denise. Courage c'est bientôt le bout du tunnel. Soyez assurés de mon soutien et de ma disponibilité.

A MES PETITS FRERES ADORES

Lamine, Lacina, Oumar, courage mais surtout accrochez vous.

A LA FMPOS

Que dire de toi qui m'a accueilli toutes ces années, sinon un grand merci pour la formation reçue. Puisses Dieu te faire grandir et prospérer dans cette noble mission.

A TOUS CEUX QUI SE SONT SENTIS OMIS

REMERCIEMENTS

AU PROFESSEUR DOSSO MIREILLE

*Merci pour tous les enseignements, ma formation et pour tant de maternalisme.
J'ai été très honoré de travailler auprès de vous.*

Au PROFESSEUR FAYE KETTE

Merci pour votre participation utile et enrichissante à ce travail.

AU PROFESSEUR KAKOU NDOUBA

Merci pour toute cette compréhension et pour les échanges pendant la réalisation de ce travail.

AU DOCTEUR SERGE AOUSSI,

Merci papa pour ton encadrement et tes conseils.

AU DOCTEUR GBONON VALERI

Merci chère grande sœur pour ton aide et ta disponibilité

A MADEMOISELLE NIAMKEY

Merci ma puce pour sa disponibilité, son expérience et sa gentillesse.

**A TOUT LE PERSONNEL DE L'INSTITUT
PASTEUR DE COTE D'IVOIRE.**

A AMADOU COULIBALY

Merci chéri pour ta compréhension, ton soutien indéfectible, ta spontanéité et ton amour.

A IBRAHIM G. COULIBALY

Gooz, toi même tu sais. Merci pour ton soutien et ton affection. Peace !

AU DOCTEUR DAYE TALL

Merci tonton d'avoir guidé mes premiers pas et de m'enseigner très tôt la rigueur dans les pratiques pharmaceutiques

AU DOCTEUR KOITA

Merci pour ta spontanéité, ta générosité. ton amitié a toujours été sans faille et je la saie sincère. Que Dieu te comble de bonheur.

A TOUT CEUX QUI, D'UNE MANIERE OU D'UNE AUTRE ONT PRIS PART A CE TRAVAIL ET QUE JE NE PEUX CITER INDIVIDUELLEMENT.

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président de jury
Monsieur le Professeur GAOUSSOU KANOUTE

- Professeur titulaire de Chimie Analytique, d'électrochimie et d'analyse instrumentale à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie
- Directeur de Laboratoire National de la santé
- Chef DER des sciences Pharmaceutiques

Cher maître,

C'est un honneur pour nous, de vous avoir comme Président du Jury. La notoriété dont vous bénéficiez au sein du monde médical et de la faculté atteste que pendant de nombreuses années, vous avez toujours accompli votre devoir avec dévouement et amour pour le bien être et l'épanouissent de vos étudiants.

Nous, conservons un précieux souvenir de vos sages et affectueux conseils.

Dieu vous bénisse et vous accorde sa grâce !

A notre Maître et Directrice de Thèse

**Madame le Professeur DOSSO MIREILLE
BRETIN**

- Professeur titulaire de Bactériologie-Virologie de l'UFR des Sciences Médicales d'Abidjan
- Chef de service de Bactériologie-Virologie à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire
- Chef de service du Laboratoire Principal du CHU de Yopougon
- Directrice de la recherche au Ministère Chargé de la Lutte contre le SIDA.
- Présidente de l'observatoire de la Résistance des Micro-organismes aux anti-infectieux de Côte d'Ivoire (ORMICI)
- Directrice de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

Chère maître,

C'est un privilège et un grand honneur que vous nous avez fait en nous confiant ce travail. Nous avons été marqué par votre savoir scientifique, votre rigueur au travail et votre vision des choses, qui font de vous le maître idéal.

Vous êtes pour nous une bibliothèque précieuse.

Cher Maître nous sommes honorés et très reconnaissant de vous avoir comme Directrice de Thèse.

Que DIEU veille sur vous et vous inonde de ses bienfaits !

A notre Maître et Co-directeur de thèse

**Monsieur Le Professeur FLABOU
BOUGOUDOGO**

- Maître de conférences agrégé en Bactériologie- Virologie
- Ancien chef de la section Bactériologie -Virologie à l'Institut National de Recherche en santé publique
- Directeur général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP)
- Professeur de bacteriologie à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS)

Cher maître,

Nous ne saurions vous dire toutes les qualités humaines, professionnelles et morales que nous admirons en vous.

C'est une fierté pour nous d'être compté parmi vos élèves et espérant que ce travail sera à la hauteur de vos espérances, veuillez trouver ici, l'expression de notre profond respect.

Que Dieu vous accorde santé et longévité afin que nous puissions hériter de vos nombreuses vertus.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur SOUNKALO DAO

- Maître de conférence en infectiologie
- Praticien hospitalier au CHU du point G
- Spécialiste en maladies infectieuses
- Chercheur au programme de recherche
NIAID /NIH/FMPOS sur le SIDA et la tuberculose.

Cher Maître,

Nous n'avons pas eu le privilège de travailler à vos côtés mais à travers votre enseignement à la faculté, nous avons découvert un professeur très ouvert, aux immenses qualités humaines.

Nous vous remercions pour la spontanéité avec laquelle vous acceptez de juger notre travail malgré votre emploi du temps très chargé.

Dieu vous accorde sa grâce !

A notre Maître et Juge

Monsieur le Docteur DIALLO SOULEYMANE

- Pharmacien biologiste des services de santé des armées
- Assistant chef de clinique de Bactériologie- Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
- Colonel de l'Armée malienne
- Chef de service du Laboratoire du CHU Gabriel Touré

Cher Maître,

Nous avons apprécié votre esprit critique, votre objectivité et la spontanéité avec laquelle vous avez accepté d'être parmi nos juges. Vos critiques et vos suggestions ont largement contribué à renforcer la qualité de notre travail.

Recevez cher maître nos sincères remerciements et nos sentiments respectueux.

LEXIQUE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Agence Française de Normalisation

BGN : Bacille Gram Négatif

UFC : Unité Formant Colonie

IPCI : Institut Pasteur de Cote d'Ivoire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CA-SFM : Comite antibiogramme de la société française de microbiologie :

LDC : Lysine décarboxylase

UBC : Unité de Bactériologie Clinique

ODC : Ornithine décarboxylase

ERV : Enterococcus Résistant à la Vancomycine

TDA : Tryptophane Désaminase

ONPG : Ortho Nitro Phényl β -D- Galactosidase

H₂S : Hydrogène Sulfureux

LDA : Lysine Désaminase

LDC : Lysine Décarboxylase

OMS : Organisation mondiale de la santé

MH : Mueller Hinton

EMB : Eosine Bleu de méthylène

BEA : Bile Esculine Azide

RAP : Rappaport Vassiliadis

TK : Tellurite de potassium

BHS : Bouillon hyper salé

SIDA : Syndrome Immuno Déficience Acquise

SS : Salmonella- Shigella

INHP : Institut National d'Hygiène Publique

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : Directives de qualité des eaux de boisson concernant les substances chimiques.

TABLEAU II: Valeurs indicatives de quelques substances chimiques qui ont un impact sur la santé, proposés par les Directives de l’OMS.

TABLEAU III : Critères bactériologiques des eaux destinées à la consommation humaine.

TABLEAU IV: Normes de qualité bactériologique de l’eau conditionnée.

TABLEAU V : Valeurs guides des microorganismes.

TABLEAU VI : Les espèces répondant au nom de coliformes

TABLEAU VII: Principales maladies transmises par l’eau et leurs agents pathogènes

TABLEAU VIII : Exemples de maladies liées à quelques éléments chimiques

TABLEAU IX : Caractères culturels, biochimiques et antigéniques des Enterocoques

TABLEAU X : Valeurs idéales pour une eau biotique

TABLEAU XI : Caractères biochimiques de *E. coli*

TABLEAU XII : Caractères biochimiques des Salmonelles

TABLEAU XIII : Charges des antibiotiques testés et caractérisation des diamètres de la zone d’inhibition selon les normes du CASFM l’antibiogramme des *E.coli*

TABLEAU XIV : Charges des antibiotiques testés et caractérisation des diamètres de la zone d’inhibition selon les normes du CASFM l’antibiogramme des Salmonelles [24].

TABLEAU XV: Répartition en fonction du sexe des vendeurs

TABLEAU XVI: Répartition en fonction de l’implication du vendeur

TABLEAU XVII : Répartition des échantillons en fonction du mode d'ouverture des sachets pour le conditionnement.

TABLEAU XVIII : Répartition des échantillons en fonction du mode d'ensachage.

TABLEAU XIX : Répartition des échantillons en fonction de l'aspect de la surface de l'eau par type de sachet

TABLEAU XX : Répartition des échantillons en fonction de l'opacité par type de sachet d'eau

TABLEAU XXI : Répartition des échantillons en fonction de la saveur par type de sachet.

TABLEAU XXII : Répartition de germes isolés après culture.

TABLEAU XXIII : Répartition des échantillons en fonction du type de contamination

TABLEAU XXIV : Résultats de dénombrement

TABLEAU XXV : Profil de résistance des souches de *E.coli*

TABLEAU XXVI : Profil de résistance de la souche de *Salmonella Typhimurium*

TABLEAU XXVII : Répartition de la présence de germe par commune.

TABLEAU XXVIII : répartition des germes totaux isolés par type de sachet d'eau

TABLEAU XXIX : Répartition des échantillons en fonction de la contamination par type de sachet d'eau

TABLEAU XXX : Répartition des échantillons en fonction de la présence de germes d'origine fécale par type de sachet d'eau.

TABLEAU XXXI : Répartition des échantillons en fonction de la contamination et du mode d'ensachage

TABLEAU XXXII : Evolution de la contamination en fonction du pH.

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: Répartition des échantillons selon les tranches d'âges des vendeurs

FIGURE 2: Répartition des échantillons en fonction du mode de lavage des mains et Ustensiles avant ensachage

FIGURE 3 : Répartition des échantillons en fonction du nombre de personnes utilisées pour l'ensachage.

FIGURE 4 : Répartition des échantillons en fonction de l'utilisation des matériaux qui entrent dans le processus d'ensachage

FIGURE 5 : Répartition des échantillons en fonction du lieu de stockage avant la vente

FIGURE 6 : Répartition des échantillons par type en fonction du temps de stockage avant la vente.

FIGURE 7 : Répartition des échantillons en fonction de l'observation de la couleur par type de sachet.

FIGURE 8 : Répartition des échantillons en fonction de l'odeur de l'eau par type de sachet.

FIGURE 9: Répartition des échantillons en fonction du pH par type de sachet

FIGURE 10: Répartition des échantillons en fonction des résultats de culture par type de sachet

FIGURE 11: Répartition des échantillons en fonction de la contamination

FIGURE 12: Représentation de la contamination fécale par rapport à la contamination globale

FIGURE 13: Répartition des Enterococcus en fonction des espèces isolées

FIGURE 14: Répartition des échantillons contaminés par les Enterococcus, par commune en fonction des espèces d'entérocoques isolés

FIGURE 15: Répartition des germes d'origine fécale par commune

FIGURE 16: Représentation de la contamination fécale par type de sachet d'eau.

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Procédure d'identification de *E.coli*

Schéma 2 : Procédure d'identification de *Salmonella*

Schéma 3 : Procédure d'identification de *Enterococcus*

Schéma 4 : Procédure d'identification des autres bactéries

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	001
PARTIE I : GÉNÉRALITÉS.....	004
I- DEFINITIONS CONCERNANTS L'EAU.....	005
II- ROLE ET DEVENIR DE L'EAU DE BOISSON	006
III- LES EAUX DE BOISSON A ABBIDJAN.....	007
IV- REGLEMENTATION DU SECTEUR DE L'EAU DE BOISSON...	008
V- QUALITE BACTERIOLOGIQUE DE L'EAU DE BOISSON.....	015
VI- RISQUES SANITAIRES : MALADIES HYDRIQUES.....	023
VII- BACTERIES CIBLES LIEES L'EAU CONDITIONNEES	028
VIII- PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES.....	038
IX- PARAMETRES ORGANOLEPTIQUES.....	041
X- TECHNIQUES DE RECHERCHE DES GERMES CIBLES.....	043
PARTIE II : NOTRE ETUDE.....	054
I- MATERIEL.....	055
II- METHODE.....	060
PARTIE III : RESULTATS.....	080
I- RESULTATS GENERAUX.....	081
II- RESULTATS ANALYTIQUES.....	099
DISCUSSIONS.....	105
CONCLUSION.....	119
RECOMMANDATIONS.....	122
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	126
ANNEXES.....	136

INTRODUCTION

L'eau est la boisson de base de l'être humain. Elle lui est offerte par la nature. Elle est la boisson la plus à même d'hydrater correctement l'organisme. Le corps humain a besoin d'apport quotidien et généreux de liquide pour fonctionner correctement et éviter la déshydratation. Malheureusement, cette eau si chère à la vie n'est pas toujours propre à la consommation. De par sa qualité, elle peut nuire à la santé et même à la vie de l'homme [32].

La consommation d'une eau souillée contenant des microorganismes pathogènes, est à l'origine de nombreuses maladies. Elle constitue un véritable problème de santé publique. Dans les pays où les conditions sanitaires sont respectées, les organismes pathogènes sont le plus souvent à l'origine de gastro-entérites qui restent en général à des niveaux endémiques. Dans les pays où les conditions sanitaires sont douteuses, les maladies d'origines hydriques peuvent entraîner des épidémies nettement plus graves : dysenterie, fièvre typhoïde, choléra [36, 42].

Selon l'OMS, 80 % des maladies présentes à la surface de la terre sont d'origine hydrique, et l'eau de boisson est très souvent incriminée [41, 42, 49]. L'accès à une eau saine constitue, en effet, une condition indispensable à la santé, un droit élémentaire et une composante clé des politiques de protection sanitaire.

Ainsi, face à ce phénomène, plusieurs études ont été réalisées pour apprécier le risque sanitaire, la qualité et la potabilité des eaux de boisson en général et des eaux conditionnées en particulier.

En Côte d'Ivoire, des infections liées à la consommation des eaux de boisson ont été signalées, et le problème de la qualité sanitaire de l'eau de boisson vendue en sachet sur le marché est devenu une des priorités du gouvernement. Le but de cette étude, est d'évaluer la présence possible des microorganismes pouvant avoir des conséquences sur la santé publique et donner une idée de la

qualité hygiénique de l'eau de boisson en sachet vendue sur le marché ivoirien.
Pour atteindre ce but, nous nous sommes fixé plusieurs objectifs :

OBJECTIF GENERAL :

Evaluer la qualité sanitaire des eaux de boisson en sachet proposées sur les marchés de quatre communes de la ville d'Abidjan.

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- Identifier les bactéries indicatrices de contamination fécale.
- Estimer la charge bactérienne de ces bactéries.
- Evaluer le niveau de résistance des isolats obtenus.

Notre étude s'articulera autour de deux parties :

- une première, documentaire, consacrée aux généralités ;
- une seconde, expérimentale, rendra compte des résultats de notre travail.

Elle s'achèvera par une conclusion et des recommandations.

GENERALITES

I- DEFINITIONS

I-1-Définition de l'eau

L'eau est un liquide incolore, inodore, transparent et insipide, lorsqu'elle est pure. On dit qu'elle est source de vie, vu l'importance qu'elle occupe à l'instar des autres éléments indispensables à l'alimentation et aux besoins physiologiques de l'homme.

I-2 -Eau conditionnée

On appelle eau conditionnée, l'eau mise en sachet ou en bouteille c'est-à-dire conditionnée dans du matériau adéquat [10, 12].

I-3 Eau de boisson

L'eau de boisson est l'eau utilisée pour la consommation humaine. C'est l'eau destinée à être bue pour se désaltérer. Sa principale qualité est d'être potable, c'est-à-dire exempte de germes pathogènes et d'organismes parasites [14].

I-4 Eau potable

Une eau est dite potable, quand sa consommation par l'homme est sans danger. Elle doit être exempte de contaminants microbiologiques, et son niveau de contaminants chimiques ne doit pas être dommageable pour la santé. [7, 14]

Selon l'OMS, une eau dite potable est une eau que l'homme peut consommer tout le long de sa vie sans danger ou risque pour la santé. Cette eau en effet doit être agréable à boire et ne doit renfermer en quantité, ni substances chimiques, ni germes nocifs pour la santé. Elle ne doit contenir certaines substances chimiques qu'en quantité limitée. Il s'agit de substances indésirables

ou toxiques telles que les métaux lourds ou encore les hydrocarbures et les pesticides [41, 43, 49].

I-5 Les différents types d'eau potable

Pour la consommation humaine, il existe trois (3) types d'eau : l'eau de table, l'eau de source et les eaux minérales.

Les eaux de table sont les eaux de robinet mises en bouteilles. Elles subissent des traitements pour être conformes aux normes.

Les eaux de source sont issues de nappes souterraines non polluées, profondes ou protégées des rejets dus aux activités humaines.

Les eaux minérales sont des eaux de source ayant des propriétés particulières. Elles ont des teneurs en minéraux et oligo-éléments susceptibles de leur conférer des vertus préventives pour la santé. Elles ne peuvent être traitées car elles sont potables à l'origine [58].

II- ROLE ET DEVENIR DE L'EAU DE BOISSON

L'eau que nous consommons constitue les deux tiers des liquides de l'organisme chez l'adulte de 60kg où elle joue un rôle important. Le corps humain chez l'adulte contient quelques quarante cinq (45) litres d'eau. Cette eau, assure l'hydratation des cellules du corps et a un rôle de véhicule de certaines substances nutritives.

Un manque de liquide tend constamment à s'installer dans l'organisme. Chaque jour, notre organisme rejette de l'eau sous forme d'urine (95%), de sueur (99%), de vapeur d'eau par les poumons et de liquide dans les selles (80%), pour éliminer les toxines et régler la température.

III- LES EAUX DE BOISSON A ABIDJAN

Dans le district d'Abidjan, il existe plusieurs sources d'eau de boisson. Ces eaux sont accessibles aux populations en fonction de leur pouvoir d'achat. Certaines couches de la population s'abreuvent d'eau de distribution nationale. Cette eau provient de différents forages et/ou cours d'eau. Elle subit des traitements pour être conforme aux normes.

D'autres préfèrent les eaux minérales ; ces eaux de source ayant des propriétés particulières. Elles ont en effet des teneurs en minéraux et en oligo-éléments susceptibles de leur conférer des vertus. Elles ne sont pas traitées, car potables à l'origine.

Par ailleurs, dans certaines communes d'Abidjan comme Treichville et Marcory, on trouve des concessions où il existe des puits dont les eaux sont utilisées aussi bien comme eau de boisson que pour les activités ménagères. Les eaux de puits sont des eaux de sources issues de nappes d'eaux souterraines atteintes par l'homme en creusant des cavités circulaires profondes et étroites dans le sol. Les seuls traitements que subissent ces eaux sont l'aération, la décantation et la filtration.

Enfin, on rencontre partout sur les marchés, dans les rues, aux abords des écoles, etc., de l'eau vendue en sachets. Il existe des sachets d'eau conditionnés de façon industrielle et des sachets d'eau conditionnés artisanalement. Ces eaux proviennent pour la plupart de l'eau de distribution nationale et des eaux de puits [8, 58].

VI- REGLEMENTATION DU SECTEUR DE L'EAU DE BOISSON

1- A propos des directives de qualité concernant l'eau de boisson selon l'OMS

Les directives se définissent comme des recommandations qui contribuent à empêcher la contamination de l'eau de boisson. [42]

Ces directives s'adressent principalement aux responsables de la réglementation dans le domaine de l'eau et de la santé, aux décideurs et à leurs conseillers avec pour objectifs d'apporter un soutien à la mise au point de normes nationales. Elles sont aussi utilisées avec les documents qui leur sont associés comme sources d'informations sur la qualité et les stratégies de gestion efficaces de l'eau.

L'objectif principal des directives de qualité pour l'eau de boisson est de protéger la santé publique. Ces directives couvrent un grand nombre de constituants potentiels de l'eau de boisson afin de répondre aux besoins divers des pays du monde entier. En général, dans chaque cas particulier, un petit nombre seulement de constituants est source de préoccupation. Il est essentiel que l'organisme de réglementation national et les autorités locales de gestion de l'eau déterminent l'importance des différents constituants et prennent des mesures en conséquence. Les efforts et les investissements pourront alors être consacrés prioritairement aux constituants ayant un impact sur la santé publique [41, 42, 43, 44].

2- Intérêts et priorités des directives de qualité

Selon l'OMS, les directives sont établies pour les constituants de l'eau, potentiellement dangereux et fournissent une base pour l'évaluation de la qualité de l'eau. Les différents paramètres peuvent imposer des priorités diverses en

matière de gestion avec toujours pour objectif d'améliorer et de protéger la santé publique.

En général, l'ordre de priorité est le suivant :

- assurer un approvisionnement suffisant en eau microbiologiquement saine et préserver son acceptabilité de manière à décourager les consommateurs à recourir à une eau potentiellement moins saine sur le plan microbien ;
- gérer les principaux contaminants chimiques connus pour leurs effets préjudiciables sur la santé et prendre en compte d'autres contaminants chimiques.

3-Directives aujourd'hui [44]

La troisième édition des directives de l'OMS (2004) se rapportant à l'eau de boisson porte sur les maladies infectieuses (microbiennes), les produits chimiques dangereux, les risques radiologiques et les critères d'acceptabilité.

En ce qui concerne les dangers microbiens, il est conseillé de protéger les sources d'eau et de les traiter en fonction de leur qualité et de la désinfection. Une surveillance associant un contrôle sanitaire et un contrôle de l'eau doivent viser à détecter la présence de microorganismes d'origine fécale et à s'assurer que les objectifs sont atteints.

En ce qui concerne les produits chimiques dangereux, des études exhaustives menées produit par produit sont préparées et débouchent sur l'établissement de valeurs guides, indiquant les concentrations qui ne devraient pas présenter un risque, même dans les cas de consommation tout au long de la vie. Cette troisième édition comporte des améliorations importantes pour tenir compte des nouvelles informations et des progrès faits en matière d'évaluation et de gestion des risques liés aux produits chimiques et aux microbes (voir tableau I et II)

TABLEAU I : Directives de qualité des eaux de boisson concernant les substances chimiques [42]

Substances chimiques exclues de la détermination des valeurs guides	Raisons
Amitraz, monocrotophos	Se dégradent rapidement dans le milieu environnemental et ne peuvent donc se révéler à des concentrations mesurables dans l'eau de boisson.
Béryllium, Diazinon, Hexachlorocyclohexane	Apparition peu probable dans l'eau de boisson
Pyridate	Non persistant et rarement détectés dans les eaux de boisson
Substances chimiques pour lesquelles des valeurs guides non pas été établies	Raisons
Aluminium	L'incertitude qui entoure les données humaines bien que les informations concernant le règne animal soit un modèle, ne permet pas d'établir une valeur guide.
Ammoniac, Endosulfan	Apparaît dans les eaux de boisson à des concentrations inférieures à celles auxquelles les effets toxiques se manifestent.
Bromochloroacetate, Dichlorophenol 2,4	Les données disponibles sont inadéquates pour permettre la détermination de valeurs guides
Chlorite	Le taux détecté dans l'eau de boisson n'a pas d'influence sur la santé.
Dichloroetane 1,1	Les données disponibles sur la toxicité et la carcinogénèse sont très limitées
Diquat	Rarement détecté dans l'eau de boisson, mais il peut être utilisé comme un herbicide aquatique.

Source : Annexe 4 des directives révisées pour l'eau de boisson. 21 sept.2004

Les valeurs indicatives de quelques substances chimiques sont résumées dans le tableau II

TABLEAU II: Valeurs indicatives de quelques substances chimiques qui ont un impact sur la santé, proposés par les Directives de l’OMS [42, 44]

Substances chimiques	Valeurs guides (mg/l)
Aldicarb	0,01
Aldrin et Dieldrin	0,00003
Antimoine	0,02
Arsenic	0,01
Atrazine	0,002
Baryum	0,7
Benzène	0,01
Bromodichloromethane	0,06
Cadmium	0,003
Carbofurane	0,007
Tétrachlorure de carbone	0,004
Chlordane	0,0002
Cyanures	0,07
Dichloroacetate	0,05
Dichloroacetonitrile	0,02
Dichlorobenzène	1
Formaldéhyde	0,9
Manganèse	0,4
Lindane	0,002
Mercure	0,001
Nickel	0,02
Sélénium	0,01

Source : Annexe 4 des directives révisées pour l’eau de boisson. 21 sept.2004

4- Réglementation ivoirienne

En Cote d'Ivoire, les normes, directives et réglementations en vigueur, sont celles du 20 juin 2002 relatives à l'eau de boisson et à l'eau minérale naturelle issues de la réglementation française de 1989, des directives européennes de 1982 et de l'OMS de 1977.

L'eau source de vie est parfois source de nombreuses maladies lorsqu'elle ne respecte pas les normes requises. C'est la raison pour laquelle le décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 pour les eaux destinées à la consommation humaine, fixe les normes de qualités bactériologiques répertoriées dans le tableau III [29].

TABLEAU III : Critères bactériologiques des eaux destinées à la consommation humaine [39].

Eau de distribution nationale	
Germes	concentration
<i>Escherichia coli</i>	0/100ml
Entérocoques	0/100ml
Coliformes totaux	0/100ml

Source : Momoec n°27 (2004)

NB : Dans les installations importantes, lorsqu'un nombre suffisant d'échantillons est examiné, on ne doit pas trouver de coliformes dans 95% des échantillons prélevés sur une période de 12 mois.

5- Eau conditionnée en Côte d'Ivoire

En Côte d'Ivoire, l'eau conditionnée en sachet existe sous deux formes définies par leur mode de conditionnement. Ce sont :

- l'eau en sachet de type artisanal mise en sachet manuellement par des ménagères et de façon locale ;
- l'eau en sachet de type industriel mise en sachet de façon industrielle par des entreprises de vente d'eau.

5-1 A propos des eaux en sachets de type semi industriel et des eaux en bouteilles

En Côte d'Ivoire, en 2006 ce sont une vingtaine d'entreprises qui ont été autorisées par le ministère de la Santé et de l'Hygiène publique, en accord avec les ministères de l'Industrie et du Secteur privé et de l'Environnement à produire de l'eau potable et assurer le conditionnement en sachets et en bouteilles. C'est depuis le mois de juillet 2005 que ces ministères ont décidé de réglementer ce secteur qui était jusque-là informel [58].

5-2 Règlementation du secteur de l'eau conditionnée en Côte d'Ivoire

Désormais un sticker, comportant la carte de la Côte d'Ivoire et le numéro d'accréditation délivré aux entreprises, est apposé sur les sachets et les bouteilles d'eau. Pour avoir l'agrément les entreprises doivent remplir toutes les conditions d'hygiène requises après analyse et vérification à partir d'échantillons prélevés par l'Institut National d'Hygiène Publique (INHP) [29] [58].

6- Directives et normes de l'eau conditionnée

L'OMS fait des recommandations pour l'eau de boisson et l'eau minérale.

Elles relèvent concernant l'eau de boisson des directives de l'OMS pour la qualité de l'eau de boisson qui doit présenter :

- une bonne qualité de la source ;
- une bonne protection ;
- une bonne qualité sanitaire.

Concernant l'eau minérale, elles relèvent du *codex alimentarius* et sont caractérisées par :

- des teneurs en oligoéléments ou autres constituants constantes à la source ;
- une condition d'extraction garantissant la pureté originelle.

Les normes de qualité bactériologique concernant l'eau conditionnée en générale sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau IV : Normes de qualité bactériologique de l'eau conditionnée [39]

Eau conditionnée	
Germes	Concentrations
<i>Escherichia coli</i>	0/250ml
Entérocoques	0/250ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/250ml
Germes aérobies reviviscibles	22°C = 100/ml 37°C = 20/ml
Bactéries sulfito-réductrices (y compris les spores)	0/50ml

Source : Momoec n°27(2004)

V- QUALITE BACTERIOLOGIQUE DE L'EAU DE BOISSON

1-Définition

Etymologiquement, le mot qualité est emprunté au latin philosophique *qualitas* qui signifie manière d'être, attribut propre de l'être et en particulier aspect sensible et non mesurable des choses. (Robert, 1973)

C'est la manière d'être plus ou moins caractéristique (en parlant des choses). Ce qui fait qu'une chose est plus ou moins recommandable, par rapport à l'usage ou au goût humain, qu'une autre de même espèce. C'est un degré plus ou moins élevé d'une échelle de valeur pratique.

La qualité bactériologique de l'eau est évaluée lors des contrôles analytiques réglementaires, par la recherche de bactéries, principalement des germes témoins de contamination fécale. La présence de ces bactéries dans l'eau peut avoir pour origine une pollution de la source, un dysfonctionnement du traitement de potabilisation ou un entretien insuffisant des équipements de distribution.

2- Effet sur la santé

Les conséquences dépendent de plusieurs facteurs :

- l'état général du consommateur ;
- la virulence des microorganismes ;
- la dose ingérée.

Les troubles sont principalement des troubles gastro-intestinaux, diarrhées, vomissements. Pour autant, les risques microbiologiques ne doivent pas être sous-estimés [12].

3- Limite de la qualité à respecter

L'eau ne doit pas contenir de microorganismes pathogènes ni de germes témoins de contamination fécale.

Tableau V : Valeurs guides des microorganismes [44]

MICRO-ORGANISMES	VALEURS GUIDES
Toutes les eaux destinées à la consommation	
<i>E. coli</i> ou bactéries coliformes thermotolérantes	Non détectables dans un échantillon de 100ml
Eaux traitées, à l'entrée du réseau de distribution	
<i>E. coli</i> ou bactéries coliformes thermotolérantes	Non détectables dans un échantillon de 100ml
Coliformes totaux	Non détectables dans un échantillon de 100ml
Eaux traitées, dans le réseau de distribution	
<i>E. coli</i> ou bactéries coliformes thermotolérantes	Non détectables dans un échantillon de 100ml
Coliformes totaux	Non détectables dans un échantillon de 100ml. Dans les installations importantes, on ne doit trouver de coliformes dans 95% des échantillons prélevés sur une période de 12 mois.

4- Contaminants bactériologiques

Les contaminants bactériologiques sont nombreux et l'indicateur de pollution idéal doit présenter un certain nombre d'exigences à savoir : l'innocuité, une spécificité, la sensibilité, une certaine résistance et une facilité de détection. Ainsi les contaminants les plus proches, c'est-à-dire ceux qui vérifient en partie les exigences se présentent en trois groupes :

- les coliformes parmi lesquelles *Escherichia coli* est un indicateur ;
- les Streptocoques fécaux avec *Enterococcus faecalis*;
- les espèces anaérobies telles que *Clostridium perfringens*

4-1- Les coliformes

Les coliformes fécaux sont des indicateurs classiques faciles à déceler et à dénombrer.

Ce sont : *Escherichia coli*, *Citrobacter sp*, *Enterobacter sp*, *Serratia sp*.

Certains germes d'origine fécale répondent à la définition de coliformes totaux. Ceux-ci sont présents dans le sol, dans les fèces et les eaux non polluées. Germe à Gram négatif, les coliformes totaux se caractérisent par leur aptitude à fermenter le lactose à 35°C voir 37°C en produisant de l'acide, du gaz et un aldéhyde dans un délai de 24-48 heures.

Les coliformes thermotolérants constituent un sous groupe de coliformes totaux dont ils partagent les caractéristiques à la différence qu'ils supportent la température de 44-45°C. Ils peuvent pousser et produire du tryptophane.

Seul *E. coli* est capable de fermenter le lactose à 44-45°C [6, 9, 21].

La présence dans l'eau de boisson de ces coliformes révèle :

- soit un traitement inefficace ;
- soit une contamination postérieure au traitement à savoir un manque d'hygiène.

La détermination de quelques caractéristiques écologiques et biochimiques communes à *E.coli* et à certaines espèces bactériennes a permis de définir le groupe appelé coliformes. La présence de coliformes dans les aliments et dans l'eau revêt la même signification que *E coli*. En effet, les coliformes thermo tolérants sont considérés comme des témoins d'une contamination fécale récente de l'aliment, surtout lorsque celui-ci est frais. Les coliformes peuvent être accompagnés par des pathogènes du genre *Salmonella* ou *Shigella* capables d'entraîner des troubles digestifs graves.

La présence de *E. coli* est directement liée à une contamination fécale mais ne permet ni de dater, ni d'évaluer l'importance de la contamination.

Le tableau VI ci-dessous répertorie les espèces répondant au nom de coliformes [39, 44, 45, 51].

Tableau VI : Les espèces répondant au nom de coliformes [21].

Origine fécale connue	Aquatique ou Tellurique	Probablement non fécale
<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella terrigena</i>	<i>Klebsiella trevisanii</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>E. agglomerans</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>E. intermedium</i>	<i>E.gergoviae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Serratia plymuthia</i>	<i>E. sakazakii</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Serratia fonticola</i>	<i>Hafnia alvei</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Rahnella aquatile</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Citrobacter diversus</i>		<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Citrobacter amaelonatae</i>		<i>Serratia odorifera</i>

4-2- Streptocoques fécaux

Ils sont spécifiques de la flore intestinale de l'homme et des animaux et sont considérés comme des indicateurs secondaires.

Ils appartiennent aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus*. Ils se caractérisent par certaines propriétés biochimiques communes et une large tolérance à des conditions de croissance défavorables. Ils sont résistants du fait de leur constitution. Dans le genre Entérocoque, on peut citer : *Enterococcus avium*, *E. casseflavus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarium*, *E. malodoratus*.

Chez les Streptocoques, les espèces *S. bovis* et *S. equinus* appartiennent aux Streptocoques du groupe D. Ce sont des cocci Gram positif mesurant 0,7 à 1 µm de diamètre. Ils se présentent sous forme de chaînette de cocci associés. Contrairement à *E. coli*, les Entérocoques permettent de dater et de situer l'origine de la contamination. Ils sont utilisés pour préciser la signification des résultats douteux et de recherche de coliformes [6, 19, 39].

4-3 Clostridies sulfito-réductrices

Ce sont des micro-organismes anaérobies produisant des spores dont le plus caractéristique est *Clostridium perfringens*. Il est présent dans les fèces mais en plus petit nombre que *E. coli*. Ce sont des bactéries à Gram positif mesurant 4 à 6 µm de long et 1 à 2 µm de large. Ils sont peu sensibles aux désinfectants. La présence de *C. perfringens* dans une eau de boisson est synonyme d'une défaillance du processus de traitement ou une contamination intermittente à distance et ancienne [22, 26, 47].

4-4 - Autres contaminants bactériologiques

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

C'est un organisme pathogène de circonstance. Il a pour cible, les personnes immunodéprimées, les personnes du troisième âge et les très jeunes. Il peut exister dans l'eau de boisson, en présence ou en l'absence de coliformes. Les *Pseudomonas spp.* ont un intérêt particulier dans le contrôle de qualité des eaux de boisson conditionnées, et dans le domaine de l'hygiène hospitalière pour la surveillance de l'approvisionnement en eau des hôpitaux.

Selon l'AFNOR, l'eau conditionnée ne doit contenir aucun *Pseudomonas aeruginosa* dans 100 ml [50, 52, 55].

➤ *Legionella*

Ce sont des bactéries ubiquistes, particulièrement abondantes dans les eaux riches en fer et réchauffées (40-45°C), dans les environnements chauds, alternativement secs et humides. Une quarantaine d'espèces ont été décrites depuis la découverte du germe en 1977. Ce sont les sérotypes 1 et 6 de l'espèce de *Legionella pneumophila* qui sont incriminés souvent dans les cas de Légionellose [20].

5- Agents biologiques pathogènes pour l'homme

Les agents biologiques pathogènes pour l'homme peuvent être d'origine bactériologique, parasitaire ou virale.

5-1- Bactéries

Les bactéries pathogènes tiennent une place prépondérante dans les infections d'origine hydrique. Leur pathogénicité est relative d'un individu à un

autre et d'un germe à un autre. Ce sont : les salmonelles, les shigelles, les vibrions, les staphylocoques, les *Pseudomonas* etc.... [50, 55].

5-1-1 Bactéries qui survivent dans l'eau

Vibrio cholerae est la bactérie la plus connue, responsable de nombreuses épidémies mortelles de choléra. Elle se développe surtout dans les eaux stagnantes et dans les estuaires. La maladie n'a pas été éradiquée et demeure une cause de mortalité fréquente dans les pays pauvres. Il existe quelques cas sporadiques dans les pays développés, notamment aux Etats-Unis, à la suite de la consommation de crabes et de crevettes pas assez cuits. *Vibrio cholerae* est très sensible à la désinfection [35].

Salmonella est responsable de la typhoïde, première cause de mortalité d'origine hydrique jusqu'à la seconde guerre mondiale. La bactérie est très sensible à la désinfection [42].

Escherichia coli est une bactérie de l'intestin, surtout dans le bétail, indicateur de contamination fécale dans l'eau. *E. coli* n'est pas directement pathogène car elle supprime des bactéries nuisibles dans l'intestin, tout comme la campylobactérie présente dans les intestins et par conséquent les fientes d'oiseaux. Cependant, *E.coli* est productrice de la vérotoxine qui provoque des diarrhées hémorragiques [5, 9].

5-1-2 Bactéries pathogènes qui se développent dans l'eau

Pseudomonas spp. est très fréquente dans les eaux usées et les eaux pluviales. La bactérie est très résistante aux antibiotiques.

Aeromonas spp. est naturellement présente dans l'eau claire. Elle se développe dans les eaux usées et chaudes.

Legionella spp. compte 42 espèces dont *Legionella pneumophila* responsable de la maladie du légionnaire (légionellose). Ces bactéries sont sensibles à la chaleur et la maladie est liée à l'inhalation de microgouttelettes [20, 21, 55].

5-2 Parasites ou protozoaires

Ce sont des parasites dits opportunistes car ils se développent sur un hôte. Les plus connus sont les *Giardia* et le *Cryptosporidium* découverts en 1955. Ces parasites sont rejetés par les animaux et les hommes. *Cryptosporidium* est résistant aux désinfectants. La dose infectieuse n'est pas connue avec précision mais pourrait démarrer avec un seul microorganisme.

Certains parasites comme les douves appartenant aux genres *Fasciola* et *Dicrocoelium* peuvent polluer l'eau de boisson. La maturation des oeufs du genre *Fasciola* nécessite des températures de 22 à 25°C [7, 20].

5-3 Virus

Parmi les virus présent dans l'eau, on compte le virus de l'hépatite A, le virus de l'hépatite E plutôt confiné dans les milieux tropicaux, le virus commun des gastroentérites, les *Adénovirus*, les *Réovirus*. On compte plus de 140 virus identifiés dont la plupart se retrouvent dans les selles. Le seuil de déclenchement des maladies est mal connu mais paraît très bas. Leur résistance aux traitements de désinfection est variable [23].

Les principales maladies transmises par l'eau et leurs agents pathogènes sont répertoriées dans le tableau VII. p 24.

VI- RISQUES SANITAIRES LIES A L' EAU : MALADIES HYDRIQUES

1- Définition

Les maladies hydriques sont des maladies causées par l'eau contaminée par des déchets humains, animaux ou chimiques. Autrement dit, c'est n'importe quelle maladie causée par la consommation d'eau contaminée par les fèces animales ou humaines qui contiennent des microorganismes pathogènes [21, 23].

2- Généralités

L'eau ressource naturelle, indispensable à la vie est aussi devenue de manière directe ou indirecte, la première cause de mortalité et de maladie au monde. L'inéluctable raréfaction et l'inégalité de la répartition des ressources en eau conduisent en effet à une inquiétante dégradation de la qualité de l'eau, qui a de lourdes conséquences en matière de santé.

Ainsi dans les pays en développement, 80% des maladies sont dues à l'eau et un africain sur deux souffre d'une maladie hydrique [40].

Selon l'OMS, chaque année 30 millions de personnes meurent des suites d'une épidémie ou d'une contagion due à la pollution des eaux et 2 millions de personnes dont la plupart des enfants meurent de maladies diarrhéiques.

Les maladies hydriques comprennent entre autres : le choléra, la fièvre typhoïde, la poliomyélite, la méningite, les hépatites A et E, la diarrhée. Ces maladies sont dues à la mauvaise qualité de l'eau et la plupart peuvent être évitées si l'eau est traitée avant d'être utilisée.

3- Maladies hydriques opportunistes

Il existe quatre catégories de maladies opportunistes liées à l'eau. Ce sont les maladies diarrhéiques, celles dues aux organismes aquatiques, celles dues aux vecteurs liés à l'eau et celles dues à une pénurie d'eau.

Les maladies diarrhéiques sont des maladies dont la manifestation première est la diarrhée. Elles sont causées par des germes pathogènes qui sont pour la plupart présents dans les eaux de boisson contaminées. Chaque jour, les maladies diarrhéiques causent la mort de 6000 personnes et les principales victimes sont les enfants de moins de cinq ans. En Chine, en Inde et en Indonésie, deux fois plus de personnes meurent de maladies diarrhéiques que du SIDA. Ces mortalités sont dues au facteur de risque eau, assainissement et hygiène.

Les maladies d'origine aquatiques sont des maladies causées par des organismes aquatiques qui passent une partie de leur vie dans l'eau et une autre en tant que parasites. Ces maladies comprennent la dracunculose, la paragonimiose, la clonorchiose et la schistosomiase. Ces maladies sont causées par toute une variété de Plathelminthes et Némathelminthes qui infectent les humains. Ces maladies ne sont pas généralement mortelles mais empêchent les personnes atteintes de vivre normalement et diminuent leurs capacités de travail. En Afrique sub-saharienne 80% des cas de schistosomiase sont transmis. Des études montrent que la maladie a pu être réduite de 77% dans certaines régions, grâce à une meilleure fourniture d'accès à l'eau potable et l'assainissement [59].

Les maladies dues aux vecteurs liés à l'eau sont des maladies transmises par les vecteurs tels que les moustiques et les mouches tsé-tsé qui se reproduisent ou vivent dans ou près des eaux polluées et non polluées.

Des millions de personnes souffrent d'infections transmises par ces vecteurs, telles que la malaria, la fièvre jaune, la dengue, la maladie du sommeil et la

filariose. Plus d'un million de personnes meurent chaque année de la malaria dont environ 90% en Afrique sub-saharienne.

Les maladies dues à une pénurie d'eau sont des maladies qui se développent dans des régions où l'eau est rare et les systèmes d'assainissement faibles, telles que le trachome et la tuberculose. Ces maladies s'étendent dans le monde entier. Elles peuvent être contrôlées facilement grâce à une meilleure hygiène, mais des approvisionnements adéquats en eau potable doivent être disponibles [59].

TABLEAU VII: Principales maladies transmises par l'eau et leurs agents pathogènes [32]

MALADIES	AGENTS
<p style="text-align: center;"><u>Origine bactérienne</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Fièvres typhoïde et paratyphoïde • Dysenterie bacillaire • Choléra • Gastroentérite aiguës et diarrhée 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Salmonella Typhi</i> - <i>Salmonella Paratyphi A et B</i> - <i>Shigella spp.</i> - <i>Vibrio cholerae</i> - <i>Escherichia coli</i> enterotoxinogène - <i>Campylobacter jejuni / coli</i> - <i>Yersinia enterocolytica</i> - <i>Salmonella spp.</i> - <i>Shigella spp.</i>
<p style="text-align: center;"><u>Origine virale</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Hépatites A et E - Poliomyélite- Gastroentérite aiguë et diarrhée 	<ul style="list-style-type: none"> - Virus Hépatites A et E- <i>Poliovirus</i>- Virus de Norwalk - <i>Rotavirus</i>, <i>Astrovirus</i>- <i>Calciavirus</i>, <i>Coronavirus</i>- <i>Enterovirus</i>, <i>Adenovirus</i>- <i>Reovirus</i>.
<p style="text-align: center;"><u>Origine parasitaire</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Dysenterie amibienne - Gastroentérite 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Entamoeba histolytica</i> - <i>Giardia intestinalis</i> - <i>Cryptosporidium</i>, <i>Isospora belli</i>

4- Maladies hydriques liées aux éléments chimiques

Ce sont des maladies d'origine chimique dues à un dépassement de la quantité ou de la valeur admise pour certains éléments.

L'eau contient de nombreux oligo-éléments qui sont bénéfiques à faible concentration comme le fer ou le fluor, mais toxiques à plus forte dose pour l'homme. Par contre certains éléments tels que l'arsenic, le cyanure ou le plomb sont dangereux même à faible dose (Tableau VIII).

Tableau VIII: Exemples de maladies liées à quelques éléments chimiques [1, 59].

Eléments chimiques	Maladies
Arsenic	Arsenicisme
Fluor	Fluorose
Nitrate	Méthémoglobinémie
Plomb	Saturnisme
Toxines de cyanobactéries	Impacts sur le foie, le cerveau suivant le type de toxine produite

VII- BACTERIES CIBLES LIEES A L'EAU CONDITIONNEE EN SACHET.

1- *Escherichia coli*

Escherichia coli (colibacille) est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole.

1-1-Historique

E. coli a été découverte pour la première fois dans les selles de nouveau-né par le pédiatre allemand, Theodor Escherich en 1885. Elle fut d'abord appelée « *Bacterium coli* commune ». Plus tard en 1920, pour éviter la confusion avec d'autres organismes, Castellani et Chalmers ont proposé le genre *Escherichia* dont l'espèce type est *Escherichia coli*. C'est grâce aux travaux de Kauffmann en 1943 que le rôle de *E. coli* dans les diarrhées des nourrissons a été élucidé.

1-2-Caractères généraux de la souche

Comme les autres microorganismes qui composent cette famille, *Escherichia coli* présente les caractères suivants : Gram négatif (BGN), petite taille (2 à 3 μm de long et 0,3 μm de large), mobile, aéro-anaérobie facultative, oxydase négative, nitrate positif, fermente le glucose et le lactose, indole positif. *E. coli* ne réduit pas l'urée. Il présente une culture aisée sur milieu gélose ordinaire et sur milieu particulier de type EMB. Il présente un reflet métallique caractéristique.

1-3-Taxonomie [21, 53].

Famille : *Enterobacteriaceae*

Tribu des *Escherichia*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *coli*

On distingue sept pathovars dont quatre sont essentiellement d'origine alimentaire. La classification est basée sur plusieurs facteurs dont : la virulence, les signes apparents, les affections, l'épidémiologie et les antigènes de structure.

Ce sont :

- *E.coli* entéro-pathogène (ECEP)
- *E. coli* entérotoxinogène (ECET)
- *E. coli* entéroinvasif (ECEI)
- *E.coli* entérohémorragique (ECEH) /(VTEC)

Les trois derniers sont assez récents. Ce sont :

- *E. coli* entéro-adhérents (ECEA)
- *E. coli* entéro-agrégatif (ECEAg)
- *E. coli* producteur de facteur nécrosant (ECN) ou (NTEC)

1-4- Habitat de *Escherichia coli*

Escherichia coli appartient à la flore intestinale normale chez l'homme et les animaux à sang chaud (Doyle *et al*, 1994). Elle représente d'ailleurs l'espèce prédominante de cette flore qui joue un rôle physiologique important pour l'équilibre intestinal.

E. coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il est abondant dans les fèces humaines et animales. Il représente 80% de la flore bactérienne aérobie de l'intestin à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries).

E. coli existe au niveau d'autres muqueuses comme les muqueuses génitales chez la femme.

On le trouve également dans les eaux d'égouts, les effluents traités, ainsi que dans toutes les eaux naturelles et les sols qui ont subi une contamination récente.

1-5- Pouvoir pathogène de *Escherichia coli*

E. coli est l'espèce la plus fréquemment isolée dans les laboratoires de bactériologie, responsable notamment de l'infection urinaire chez la femme. Elle est membre normal de la flore digestive mais certaines souches sont pathogènes dans les selles de nouveau-nés.

Elle est responsable d'infections de deux types : opportuniste et spécifique.

Les infections opportunistes sont très fréquentes. Elles touchent principalement l'arbre urinaire, les voies génitales et biliaires. Ces infections peuvent se compliquer de septicémies.

Les Infection urinaires : *E. coli* est responsable de la majorité des infections urinaires, du fait de la proximité entre le tube digestif et l'urètre chez la femme. L'infection urinaire est caractérisée par des brûlures urinaires et une diurèse importante. Ces infections sont basses, plus rarement hautes. Dans ce cas *E. coli* est porteuse d'hémolysines et de pili (poils permettant l'adhésion à la muqueuse). Chez l'enfant, l'infection est souvent liée à une malformation congénitale de l'arbre urinaire. Chez le nouveau-né le point de départ est génital chez la mère.

Infections digestives : *E. coli* est à l'origine de péritonite et de cholécystite

Septicémie : *E. coli* est responsable de septicémie chez le neutropénique car le tube digestif est plus perméable et les défenses immunitaires diminuées.

Infections génitales : *E. coli* est responsable infections génitales tant chez l'homme que chez la femme.

Infections méningées : *E. coli* KI est responsable d'infections du nouveau-né à point de départ génital chez la mère.

L'autre volet des manifestations pathologiques est constitué par des infections du tractus digestif dues à des souches particulières. La possible implication de l'espèce dans les diarrhées a été évoquée d'abord par Laruelle en 1889 et ensuite par Goldschmidt en 1933.

ECEP : *E. coli* entéropathogène est responsable de gastroentérites infantiles et de diarrhées chez les jeunes enfants par épidémie. Le sérotypage est inutile car exceptionnel.

ECEI : *E. coli* entéroinvasif a la propriété de pénétrer dans les cellules et de provoquer des syndromes dysentériques proches des Shigella.

ECET : *E. coli* entérotoxigène donne la diarrhée du voyageur et du nourrisson. Elle sécrète des toxines de deux types : ST (thermostables) et LT (thermolabiles) et possède en outre le facteur d'adhésion à la muqueuse intestinale.

Certains de ces facteurs sont bien caractérisés : CFA I, II, (Colonizing Factor Antigen) et Pili type 1. Ces souches sont responsables de syndromes cholériques.

ECEH : caractérisée par l'Ag 0157 et H7. Elle provoque des diarrhées hémolytiques et urémiques (insuffisance rénale). Ces souches produisent une toxine particulière qui a une action sur les endothéliums des capillaires et sur les globules rouges.

ECEA : *E. coli* entéro-adhérent provoque une diarrhée du nourrisson dans les pays en voie de développement.

VTEC : *E. coli* vérotoxiques. La fréquence des épidémies suscitée par cet organisme s'est considérablement accrue à partir de 1982 de telle sorte que l'OMS le classe parmi les bactéries à l'origine de maladies émergentes ces

dernières années. Le principal mode de transmission est l'ingestion d'aliments contaminés dans 45% des cas.

AaggE. coli : *E. coli* entéro-aggrégative

2- Salmonella

Le genre *Salmonella* constitue un très grand groupe bactérien, comportant plus de 2000 espèces. Il représente le genre le plus complexe et le plus vaste de la famille des *Entérobacteriaceae*.

2-1- Historique

1820 : Bretonneau montre la contagiosité de la fièvre typhoïde qu'il appelait dothiéntérite

1880 : Découverte de l'agent de la fièvre typhoïde par Eberth

1884 : Culture de la bactérie par Gaffky

1896 : Mise en évidence des différents types de sérovars par Widal.

2-2- Caractères généraux et identification biochimique

Les Salmonelles sont des bactéries Gram négatif, en bâtonnet, péritriches, aéro-anaérobies facultatives, fermentant le glucose. Ces bactéries sont uréase négative, produisent du H₂S et peuvent décarboxyler certains acides aminés. Les Salmonelles réalisent une croissance aisée sur milieu ordinaire à 37°C mais donnent des colonies caractéristiques sur milieu sélectif et spécifique de type SS (Salmonelle-Shigelle) ou Hektoen.

Comme pour toute *Enterobacteriaceae*, l'identification doit d'abord être biochimique, ce qui conduit pour les *Salmonella* au diagnostic de genre et de sous genre, puis sérologique, ce qui amène pour les *Salmonella* au diagnostic d'espèce [1, 2].

La galerie minimale d'orientation comporte classiquement trois (3) tubes : milieu Urée -indole, milieu Kligler et milieu Manitol mobilité.

A l'exception du sérotype aviaire *S.gallinarum-pullorum*, les *Salmonella* sont en général mobiles.

- *S. Typhi* est agazogène, citrate de Simmons négative, faiblement mobile à l'isolement et sur milieu de hajna, et elle produit une pointe de H₂S très évocatrice en 24 heures
- *S. Paratyphi* A est le plus souvent H₂S, LDC et Citrate de Simmons négatif
- *S. Paratyphi* C est H₂S positif, contrairement aux souches diphasiques de *S. Choleraesuis* qui sont H₂S négatif, alors que les souches monophasiques de cette dernière espèce, variété Kunzendorf sont H₂S positif.

Du point de vue antigénique, *S. paratyphi* C est très proche de *S. choleraesuis* : Ag O ; 6,7 Ag H ; C : 15 mais peut posséder l'Ag Vi.

2-3- Taxonomie et nomenclature

Le genre *Salmonella* est divisé en sous genres. Le sous genre I étant isolé le plus souvent chez l'homme et les animaux à sang chaud.

Les sous genres II, III (ou *Arizona*), IV et V (exceptionnels) sont rencontrés principalement chez les animaux à sang froid.

L'espèce *Salmonella enterica* appartient à la famille des Entérobactéries. Elle se subdivise en 6 sous espèces dont *S. enterica subsp. enterica* seule est pathogène pour l'homme.

Il existe plus de 2000 sérotypes sur la base des caractères antigéniques somatiques Ag O et flagellaire Ag H.

Parmi les sérotypes historiques, on peut citer : *S. Typhi* dont le vrai nom est *S. Enterica* sérotype *Typhi*, *S. Typhimurium*, *S. Choleraesuis*, *S. Enteridis*, *S. Infantis*, *S. Para A*.

Les sérotypes les plus récents sont : *S. Dublin*, *S. Panama*, *S. Wien*, *S. Hadar*, *S. Wirchow*, *S. Heidelberg*, *S. Derby*.

2-4- Pouvoir pathogène et habitat

Du point de vue médical, il convient de distinguer deux grands groupes à l'intérieur des *Salmonella*.

- **Les Salmonelles majeures** sont agents des fièvres typhoïde et paratyphoïde. Ce sont *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, et *S. paratyphi C* (*S. hirsfeldii*). On peut observer des septicémies à point de départ lymphatique intestinal. Elles présentent une incubation longue d'environ 15 jours.

Etat du malade : fièvre continue avec anorexie, douleurs abdominales, diarrhées (jus de melon) ou constipation, pouls dissocié, hépatosplénomégalie possible.

Aggravation : délire, prostration (Typhos), hémorragies intestinales avec perforation, collapsus cardiovasculaire.

Le réservoir ici est strictement humain à savoir les selles des malades, des convalescents ou des porteurs sains.

La contamination est directe manuportée, surtout indirecte par l'eau, les coquillages, les légumes...

- **Les Salmonelles dites mineures**. La contamination de l'homme est directe, manuportée et le plus souvent alimentaire. Elles sont causées par ingestion d'aliments contaminés donc responsables d'intoxications alimentaires, de gastro-

entérites ou d'infections septicémiques de type opportuniste. La période d'incubation est courte (10 à 48 heures).

Les signes cliniques sont : diarrhée, vomissement, douleur abdominale, fièvre pouvant être élevée. La guérison est spontanée et peut souvent survenir au bout de deux (2) à cinq (5) jours. Les Salmonelles mineures sont ubiquitaires. La contamination de l'homme est directe, manuportée et le plus souvent alimentaire.

3-Entérocoques

3-1-Historique

C'est en 1906 que *Enterococcus faecalis* fut isolé par Andrews et Horder. Anciennement classés dans le genre *Streptococcus*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* ont été déclarés génétiquement différents des streptocoques par les chercheurs Schleifer et Kilpper-Balz en 1984. C'est ainsi qu'ils furent rassemblés dans le genre *Enterococcus* qui comporte 15 espèces de nos jours.

3-2- Caractères généraux et identification biochimique

Les entérocoques, comme les streptocoques D, possèdent l'antigène D et hydrolysent l'esculine. La différence phénotypique entre les deux genres est que contrairement aux streptocoques, les entérocoques se développent dans un milieu hypersalé (6,5% de NaCl).

Enterococcus faecalis est un coccus Gram positif, disposé en diplocoque ou en courtes chaînettes souvent ovoïdes. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs et croissent facilement, même en milieu hostile. On peut ainsi les cultiver à 45°C, en milieu salin ou à pH alcalin, et dans des milieux riches en bile. Ils hydrolysent l'esculine. Ils sont immobiles et présentent une absence d'oxydase et une catalase négative.

E. faecalis donne des cultures positives sur milieu ordinaire, sur gélose au sang frais et sur milieu particulier tel que le BEA (Bile Esculine Azide).

Seul *E. faecalis* donne des colonies noires caractéristiques sur milieu au Tellurite de potassium (Gélose TK).

Tableau IX: Caractères cultureux, biochimiques et antigéniques des Enterocoques [30][31]

Germes	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. raffinosus</i>	<i>E. galinarum</i>
Antigène D	+	+	+	+	+	+	+
Esculine	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 6,5%	+	+	+	+	+	+	+
Résistance au tellurite	+	-	-	-	-	-	-
Manitol	+	+	-	?	?	?	?
Raffinose	-	-	-	?	?	?	?
Sorbitol	+	-	-	?	?	?	?
Xylose	-	-	?	+	+	-	+
Arabinose	-	+	?	+	+	+	+
Pyruvate	+	-	?	variable	-	+	-
Mobilité	-	-	?	+			
Culture à 45°C	+	+	+	+	+	+	+
Pigment	-	-	?	+			

3-3- Taxonomie.

Le genre *Enterococcus* comprend de nos jours 15 espèces parmi lesquelles *E. faecalis* et *E. faecium* représentent 90%. En 1989, BOUVET les classa en trois genres :

- le genre *Streptococcus*
- le genre *Enterococcus*
- le genre *Lactococcus*

Enterococcus faecalis appartient donc à la famille des Streptococcus et au genre *Enterococcus*.

3-4- Habitat

Les entérocoques sont de commensaux habituels des flores bucco-pharyngées et intestinales de l'homme et des animaux.

E. faecalis est une bactérie ubiquitaire, une bactérie très résistante, saprophyte de l'eau, du sol et de l'air.

Chez l'homme, elle est normalement présente dans la partie haute du tube digestif en faible quantité, et en quantité très importante dans le colon de tout sujet adulte (10^5 Unités Formant Colonies par gramme de selles).

Il est possible de la retrouver dans d'autres sites tels que les cavités buccale et vaginale.

3-5- Pouvoir pathogène

Les *Enterococcus* sont seuls ou en association au troisième rang des agents responsables d'infections nosocomiales.

Enterococcus faecalis est une bactérie responsable de nombreuses pathologies opportunistes.

Elle est responsable de près de 90% de cas d'infection urinaire et de prostatites aiguës ou chroniques. Ce sont souvent des acquisitions nosocomiales tant chez l'enfant que chez l'adulte.

Elle a une implication dans les endocardites bactériennes qui représentent 12 à 17 % des cas.

Enfin, elle est présente dans des infections graves telles que les septicémies, les infections biliaires, ORL et 6% des infections néonatales [28].

VIII- PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

Les paramètres physico-chimiques recherchés sont ceux susceptibles d'influencer la qualité organoleptique tels que :

- la température
- le pH

Le pH constitue la concentration en ion H_3O^+ , exprimée en co-logarithme décimal à température fixe dans l'eau..

$$pH = - \log [H_3O^+]$$

D'autres marqueurs de pollution chimique peuvent être recherchés. Ce sont par exemple :

- les nitrites (NO_2)
- les nitrates (NO_3)
- l'azote gazeux (N_2)
- les métaux lourds (ex : plomb, Cadmium)
- la bioélectronique ou qualité biotique

1- Nitrates, nitrites et azote gazeux

Les fortes concentrations de nitrate et d'autres composés azotés présents dans l'eau potable sont sources de risques non négligeables pour la santé. Les nitrates sont impliqués dans les causes d « syndrome du bébé bleu » ou apparition de cyanose liée à la formation de méthémoglobine. Cette intoxication, provoquée par l'absorption de petites doses de nitrate est en réalité due aux nitrites formés par réduction des nitrates sous l'influence d'une action bactérienne. En effet, dans l'estomac de l'enfant de bas âge, le liquide gastrique, insuffisamment acide, permet le développement de germes réducteurs. Les nitrites ainsi formés passent dans la circulation générale et sont responsables de la formation de méthémoglobine. Le pouvoir d'absorption de l'oxygène par le sang est ainsi progressivement diminué et se traduit par des phénomènes d'asphyxie interne.

L'acidité plus élevée du suc gastrique chez l'enfant et l'adulte évite cette réduction.

2- Métaux lourds

2-1- Pourquoi doser les métaux lourds ?

Les métaux lourds sont problématiques en raison de leurs caractères persistants et de leur toxicité (notamment pour le système nerveux). C'est pour cette raison que les règlements les concernant imposent des seuils très bas.

Les métaux lourds sont d'origines diverses :

- roches du sol (arsenic, plomb...)
- pollution atmosphérique (plomb, cadmium...)
- engrais (cadmium, plomb, arsenic...)
- boues urbaines (mercure, plomb, cadmium...)

2-2- Métaux lourds et toxicité

Arsenic : à l'état pur, l'arsenic n'est pas toxique mais il s'oxyde facilement à l'air pour former l'anhydride arsénieux qui lui est très toxique pour le système nerveux. Il est présent dans les pigments de peinture, de porcelaine et est utilisé pour le tannage des peaux.

Plomb : le plomb et ses dérivés sont des toxiques majeurs et des polluants importants de l'environnement. Le plomb est à l'origine d'une pathologie appelée saturnisme. Il est présent dans les batteries et accumulateurs, les alliages pour soudure, les colorants jaunes (peinture), les carburants...

L'eau de boisson peut contenir du plomb lorsque les canalisations sont constituées de ce métal.

Mercure : le mercure est un puissant toxique pour le système nerveux. On le retrouve dans les piles, les enseignes lumineuses...

Il est présent dans la croûte terrestre et océanique.

Cadnium : le cadnium est un sous produit de la métallurgie du zinc et du plomb. Il rentre dans la fabrication des batteries, accumulateurs, et dans le revêtement anti-corrosion des métaux. C'est un toxique redoutable pour le système nerveux.

3- Bioélectronique

La bioélectronique est la science qui étudie les mesures de trois critères d'une eau de qualité biotique c'est-à-dire favorable à la vie, dans les meilleures conditions donc à l'état de santé parfaite. Ce sont le pH, le rH et le rô.

Le pH définit le caractère acido-basique, pour parler du potentiel d'hydrogène ou la concentration en protons ainsi que la fonction magnétique. L'échelle de pH va de 0 à 14 avec une neutralité à 7 (idéal 6,5)

Le rH, concerne le potentiel d'oxydo- réduction, la concentration en électron, la fonction électronique. L'échelle de rH va de 0 à 42 avec une neutralité à 28 (idéal 22).

NB: La mesure du rH est très délicate.

Le rô mesure la résistance ou son inverse la conductivité (concentration en électrolytes, pression osmotique, fonction électrique). L'échelle de rô est très étendue; de quelques dizaines d'ohms à 200.000 ohms pour une eau très pure.

Les valeurs idéales d'une eau biotique sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau X : Valeurs idéales pour une eau biotique [22, 32].

pH	6,8 à 7,2 légèrement acide
rH	Autour de 22
rô	Supérieure à 6000 Ω /cm soit inférieure de 100mg

IX- PARAMETRES ORGANOLEPTIQUES

L'examen organoleptique de l'eau porte sur :

- la couleur
- la limpidité
- l'aspect et l'intensité d'une turbidité éventuelle
- l'aspect et la qualité d'un sédiment éventuel.
- l'odeur
- la saveur

La couleur permet d'estimer visiblement le ton, l'intensité et l'éventuelle évolution temporelle de la coloration. Une eau potable ne doit pas présenter de couleur particulière (incolore).

L'aspect de la surface permet d'observer un film d'hydrocarbure, des matières flottantes, la formation de mousse, etc...

La limpidité d'une eau est caractérisée par sa parfaite transparence et l'absence de particules en suspension.

La turbidité est causée par des matières minérales ou organiques très fines en suspension. On l'évalue comme la limpidité. Une eau présentant la moindre turbidité ne peut évidemment pas être qualifiée de limpide. Ces deux caractéristiques s'excluent mutuellement.

Les éventuelles sédiments ou matières en suspension sont visibles à l'œil nu. Ce sont par exemple les particules de matières organiques ou de limons, ainsi que celles qui sédimentent au fond du récipient.

L'odeur sera décrite par son type et son intensité. Par exemple l'odeur putride, de terre, l'odeur de nature chimique rappelant le chlore, l'H₂S (œuf pourri), les hydrocarbures, etc.

Une eau potable ne doit pas présenter d'odeur particulière (inodore).

La saveur sera évaluée par le type et l'intensité du goût comme le ferait un dégustateur. Une eau potable ne doit pas présenter de goût particulier.

X- TECHNIQUES DE RECHERCHE DES GERMES CIBLES

1- Méthodes classiques de recherche microbiologique

1-1- Définition et historique de la microbiologie

La microbiologie est la science qui étudie les microorganismes. Les microorganismes constituent un groupe très diversifié, existant à l'état de cellules isolées ou en groupe. Ils sont de petites tailles.

Dès l'Antiquité, on postulait sur l'existence d'agents transmissibles, invisibles à l'œil nu. C'est ainsi qu'en 1546 Jérôme Fracastor impute la transmission des maladies à des germes vivants qu'il appelait « *seminaria*. »

En 1677, le microscopiste hollandais Antoine van Leeuwenhoek découvre les bactéries. Louis Pasteur démontre que les maladies sont la conséquence de la présence des microorganismes dans les années 1877-1895.

Ainsi, se suivent les découvertes jusqu'à 1997, année à laquelle la microbiologie entre dans l'ère de la génomique avec le séquençage complet du premier génome bactérien d'*Escherichia coli*.

1-2- Méthode en microbiologie

La recherche en microbiologie part des cultures jusqu'à l'identification de germes isolés.

1-2-1- Culture des microorganismes

La culture des microorganismes se fait sur des milieux de culture, et elle demande une certaine richesse de ces milieux de culture qui doivent répondre à leurs besoins. Les microorganismes ont besoin de : une source d'énergie, une source de carbone, une source d'azote, des macro éléments, des micro éléments,

des facteurs de croissance, du dioxygène ou de son absence ,de facteurs physico-chimiques.

Les cultures nécessitent des périodes d'incubation qui vont de quelques minutes à plusieurs heures pour croître. La croissance bactérienne est la capacité des bactéries à augmenter leur nombre. Cette capacité est fonction du type de bactéries (thermophiles, psychrotrophes mésophiles, etc...)

Quand des bactéries sont mises à incuber dans un milieu liquide adéquat, elles continuent généralement à se multiplier de façon exponentielle jusqu'à ce qu'un facteur nécessaire à leur croissance approche de l'épuisement et devienne limitant ou que des produits métabolites inhibiteurs (acides organiques, alcools, ammoniac, etc.) s'accumulent exagérément.

1-2-2- Diversité des milieux de culture en microbiologie

On distingue deux types de milieux de culture.

Les milieux synthétiques sont des milieux dont on peut donner la composition complète. Ce sont des milieux utilisés en recherche fondamentale.

Les milieux empiriques dont on ne connaît que partiellement la composition.

Parmi ces deux types de milieux, il existe des milieux sélectifs qui vont permettre de sélectionner le type de bactéries qui pourront se multiplier.

Les milieux de culture peuvent contenir des extraits de levure (cellules de levures déshydratées et lysées) qui fournissent une source d'acides aminés, de vitamines et d'azote. Les extraits de malt apportent une source de carbone, des peptones source d'azote organique qui intéressent les individus hétérotrophes.

Ces milieux sont soit liquides soit solides. On utilise fréquemment la gélose ou l'agar-agar, un polymère de sucre tiré d'une algue rouge présentant la propriété de former avec l'eau, un gel solide si la température est inférieure à 60°C.

1-2-3- Identification des bactéries

L'identification des bactéries se fait selon une clé dichotomique. Elle part de la mise en évidence des caractères importants les plus apparents aux plus cachés qui permettront de ranger le germe isolé dans une famille déterminée.

- **Critères morphologiques**

L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte effectué par un laboratoire de diagnostic pour identifier une bactérie. L'observation de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire du diagnostic. A l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie. Ce sont : la forme du relief, la taille, la couleur, l'aspect (collant, filamenteux...), l'odeur, la transparence, l'allure des contours.

- **Critères biochimiques**

On identifie aussi les bactéries en observant si elles utilisent tel ou tel substrat. On les met donc en contact dans un milieu de culture avec un glucide ou un peptide ou d'autres substrats plus compliqués.

On peut relever l'utilisation de ce substrat par un virage d'un indicateur de pH car un glucide utilisé donne un produit acide, un peptide donne un produit basique, etc...

Chaque famille de bactérie a des caractères propres. On peut donc les rassembler facilement avec des caractéristiques de base comme l'utilisation du glucose avec ou sans oxygène, la réduction des nitrates, etc. Enfin, on dispose de galeries d'identification biochimique qui sont vendues par des sociétés spécialisées. Ces tests sont assez longs et durent de un à deux jours.

- **Critères génétiques**

Ces critères sont relativement récents en microbiologie. On peut citer des techniques de génie génétique comme :

- la PCR pour cibler un gène présent uniquement chez une famille ou un genre bactérien par rehybridation spécifique de courtes séquences d'ADN (oligonucléotides amorces) synthétiques précises.

- les puces à ADN qui utilisent le même principe mais ont une précision allant jusqu'à la souche même.

2-Antibiogramme

Un des buts essentiels de la réalisation d'un antibiogramme est l'aide à la décision thérapeutique. Il sert également à :

- l'identification des bactéries par la mise en évidence des résistances naturelles ;
- la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne.

Il doit être pratiqué en raison de la qualité, de la densité de l'espèce ou des espèces isolées, soit de l'état clinique du patient ou du siège de l'infection sur les espèces susceptibles d'engendrer un processus infectieux (arrêté du 30 juillet 1997-J.O. du 12 août 1997 fixant la nomenclature des actes de biologie médicale.)

On étudie l'effet des antibiotiques *in vitro* le plus souvent et dans des conditions normalisées de culture. Ainsi, il faut déterminer des corrélations afin de présumer de l'efficacité *in vivo* de l'antibiotique et donc de la réussite (ou de l'échec) du traitement sur la base de données biologiques *in vitro* [24, 25].

2-1- Définitions

2-1-1 Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques qui ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les microorganismes. Ils sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules. Ces molécules peuvent avoir une action drastique, c'est-à-dire bactéricide ou fongicide, leur efficacité peut être également limitée à empêcher le développement des micro-organismes (on parle alors d'action bactériostatique ou fongistatique) [17, 24].

2-1-2 Antibiogramme

Un **antibiogramme** est une technique visant à évaluer la CMI d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Pétri. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante [2][25].

2-2- Du prélèvement à l'antibiogramme

On recueille les bactéries dans :

- le sang d'où elles sont ensuite mises en culture (hémoculture ;
- les urines ;
- les selles, les excréments ;

- les crachats, les lavages broncho-alvéolaires (on lave à l'eau les bronches pendant une fibroscopie et on analyse ce liquide de lavage) ;
- le liquide céphalo-rachidien, dans lequel baigne le cerveau, le tronc cérébral, le cervelet, la moelle épinière ;
- l'eau de boisson.

Les bactéries mises en culture, sont ensuite identifiées. C'est le biologiste qui décide s'il est nécessaire de réaliser un antibiogramme [18, 24].

2-3- Réalisation pratique de l'antibiogramme

Les bactéries peuvent être mises en contact avec l'antibiotiques choisis par le biologiste selon différents procédés. Le choix entre la méthode par diffusion en milieux gélosés (disques) et les méthodes dites automatisées doit se faire en fonction de critères comme le nombre d'antibiogramme à effectuer, l'espèce à étudier, le délai de la réponse et le coût de l'investissement. Ces méthodes ont des performances comparables. Elles ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients.

2-4- Lecture des résultats

Elle consiste à mesurer les diamètres des auréoles (zones d'inhibition de croissance de la souche microbienne). Pour chaque souche microbienne, la sensibilité ou la résistance à un antibiotique est différente. Elle fait appel aux notions de concentration critique inférieure (c) et de concentration critique supérieure (C).

c : dose minimale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir sans dangers et qui fait effet sur la souche bactérienne.

C : dose maximale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir sans dangers et qui fait effet sur la souche bactérienne.

2-5 -Notion de résistance

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle soit acquise. La résistance naturelle d'une espèce ou d'un genre est une caractéristique propre, concernant l'ensemble des souches de l'espèce ou du genre. Elle est portée par un chromosome donc toujours transmissible à la descendance ; transmission verticale. C'est un caractère permettant de définir le phénotype sauvage ou sensible de l'espèce et aussi une aide à l'identification d'une espèce.

La résistance acquise pour sa part ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante, variable dans le temps, de souches d'une espèce. Elle résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de plasmide ou transposons (résistance extra chromosomique) transmissible horizontalement, parfois entre espèces différentes.

La résistance croisée s'exprime elle au sein d'une même classe d'antibiotique et sont dues au même mécanisme de résistance.

2-6- Détermination des catégories

Il existe trois catégories pour l'interprétation des testes de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

- **Les souches catégorisées S**, sont celles pour lesquelles la probabilité du succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voies systématiques avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP).
- **Les souches catégorisées R** sont celle pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.
- **Les souches catégorisées I** sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus in vitro ne sont pas prédictif d'un succès thérapeutique.

En effet les souches ;

- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression in vitro est faible, avec pour conséquence leur classement dans la catégorie S. Cependant, in vivo, une partie de ces souches apparaît résistante au traitement.

- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisante pour favoriser l'apparition d'une résistance in vivo en cour de traitement.

- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisamment

faible pour espérer un effet thérapeutique dans certaines conditions (fortes concentration locales ou posologies accrues). La catégorie intermédiaire est aussi une zone tampon qui tient compte des incertitudes techniques et biologiques.

2-7 Relations avec la CMI

La CMI est la concentration minimale inhibitrice. C'est la plus petite concentration d'antibiotique qui empêche toute croissance visible chez la bactérie.

Au regard donc des concentrations et des diamètres critiques, sont considérés comme : Sensible (S) les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égale au diamètre critique D.

- Résistant (R), les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieur à la concentration critique haute C correspondant à un diamètre inférieur ou diamètre critique.

- De sensibilité intermédiaire (I), souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et le diamètre correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques.

Catégories	CMI (mg/L)	Diamètres (mm)
Sensible	$CMI \leq c$	Diamètre $\geq D$
Résistant	$CMI > c$	Diamètre $< d$
Intermédiaire	$c < CMI \leq C$	$d \leq \text{Diamètre} < D$

La **pharmacocinétique** indique que chez quelqu'un correctement traité par un antibiotique, la concentration d'antibiotique dans l'organisme est supposée osciller entre la concentration critique inférieure et supérieure..

Pour chaque couple bactérie-antibiotique, on détermine une concentration minima inhibitrice (ou concentration minimale inhibitrice, ou CMI). La CMI est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible. En comparant la CMI aux concentrations critiques, on détermine la sensibilité ou la résistance de la bactérie à l'antibiotique.

- la bactérie est sensible à l'antibiotique quand la CMI est inférieure à la concentration critique inférieure. Concrètement, ceci signifie qu'il suffit d'une faible concentration d'antibiotique pour tuer les bactéries et que cette dose nécessaire est encore plus faible que la plus faible des doses qu'on peut administrer chez l'homme. Donc en clair, si on traite quelqu'un avec l'antibiotique, la concentration de celui-ci dans l'organisme sera toujours suffisante pour tuer les bactéries.

- la bactérie est résistante à l'antibiotique quand la CMI est supérieure à la concentration critique supérieure. Concrètement, la dose nécessaire pour tuer les bactéries est bien trop élevée pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires importants. Cet antibiotique ne peut pas être utilisé pour traiter une infection.

- la bactérie est intermédiaire à l'antibiotique quand la CMI est comprise entre les deux concentrations critiques. En pratique, ça correspond à une situation où la concentration est tantôt suffisante pour tuer les bactéries, tantôt insuffisante.

Il faut considérer que la bactérie sera résistante *in vivo* et il ne faut pas utiliser cet antibiotique.

2-8- Lecture critique de l'antibiogramme

Un antibiogramme doit s'interpréter dans la mesure où les résultats *in vitro* ne sont pas toujours reproductibles *in vivo*. Par exemple, si un *Staphylococcus aureus* (Staphylocoque doré) est résistant à l'oxacilline (anciennement méticilline), il faut le considérer résistant à toutes les bêta-lactamines (toutes les pénicillines et toutes les céphalosporines deviennent inutilisables). On appelle une telle bactérie un SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline,

2-9- Utilisation de l'antibiogramme au quotidien

L'antibiogramme est un outil validé par un biologiste médical qui permet à un médecin de choisir le bon antibiotique, ou l'association d'antibiotiques permettant de traiter efficacement un patient. Cependant, la plupart du temps, il n'est pas nécessaire car beaucoup d'infections sont traitées efficacement de façon probabiliste. On fait une hypothèse sur l'antibiotique et la bactérie à traiter en fonction du lieu de l'infection (amygdale, abdomen, poumon...) car ce sont souvent les mêmes espèces qu'on trouve au même endroit. Un antibiogramme est fait dans le cas d'infections graves (choc septiques, infections nosocomiales...) où lorsque les antibiotiques choisis en probabiliste ne fonctionnent pas.

NOTRE ETUDE

I. MATERIEL

I-1- Type et lieu d'étude

Il s'agit d'une étude transversale qui a porté d'une part sur la recherche possible de microorganisme pouvant avoir des conséquences sur la santé publique à l'aide de bactéries du genre *Escherichia coli*, du genre *Enterococcus*, du genre *Salmonella* et autres, des eaux de boisson en sachet disponibles dans quatre (4) communes de la ville d'Abidjan, et d'autre part de l'étude du niveau de résistance aux antibiotiques des souches isolées.

L'étude bactériologique s'est effectuée à l'Unité de Bactériologie Clinique (UBC) du département de Bactériologie-Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

I-2 Durée d'étude

Cette étude s'est déroulée sur 15 mois ; de janvier 2006 à avril 2007.

I-3- Population d'étude

Notre matériel d'étude était constitué de sachets d'eau de type artisanal et de type semi industriel. La collecte des sachets d'eaux de boisson s'est effectuée par achat aux abords des marchés des différentes communes tirées au sort.

I-3-1 Critères d'inclusion

Les sachets d'eau de type artisanal ou semi industriel présentant un bon état de conservation jugé par l'intégrité du sachet, l'hygiène du récipient de conservation et une fraîcheur d'environ 4°C étaient éligibles pour l'étude.

I-3-2 Critères de non inclusion

Les sachets d'eau endommagés, exposés à l'air libre, ou conservés dans des récipients à hygiène douteuse (mauvaise présentation) ou livrés par des vendeurs ambulants ont été exclus de cette étude.

I-3-3 Echantillonnage

La taille de l'échantillon a été calculée selon la méthode de l'estimation avec la prévalence (p). L'intervalle de confiance retenu est de 95% avec une précision (d) de 5%.

$$n = \varepsilon^2 pq / d^2$$

p : proportion ou prévalence

q = 1-p

$\varepsilon = 1,96$ (écart réduit) pour $\alpha = 5\%$

d : précision comprise entre 1 et 10% (on considère **d=5%**)

En considérant que la proportion de bactéries à l'intérieur des sachets est inconnue, il apparaît donc nécessaire de prendre **p=50% et donc q=50%**. Après calcul, **n = 384**.

En acceptant "un drop out" (sachets abîmés ou cassés) de 20 % dans chaque groupe, il paraît donc licite d'inclure 76 sachets en plus, soit un total de 460 sachets d'eau pour l'étude.

I-4- Matériel de travail

Ce matériel était constitué d'appareils tels que :

- étuves pour la stérilisation en chaleur sèche (four) et humide (autoclave)
- hotte à flux laminaire
- incubateur réglable à 37°C et 44°C (Memmert®)
- microscope optique binoculaire à fond noir et à lumière claire
- un pH-mètre (Corning pH-meter 440)
- un thermomètre à mercure

de consommables et petits matériel :

- pipettes Pasteurs
- anse de platine
- boîte de Pétri
- éprouvettes
- étiquettes adhésives
- flacon de 200 à 250ml
- tubes Falcon de 50ml
- micro tubes de 2ml
- lames porte objet
- lamelles couvre objet
- disques d'antibiotique
- tube à hémolyse
- étalon de Mac Farland
- compresses stériles
- eau distillée stérile

I-5 Milieux de culture

L'estimation des risques sanitaires des eaux de boisson en sachet est revenue au cours de cette étude à rechercher différents germes tels que *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterococcus*. Pour cela, plusieurs milieux de culture ont été utilisés. Ce sont des milieux d'enrichissement, d'isolement et d'identification.

I-5-1 Les milieux d'enrichissement

Ce sont des milieux liquides suffisamment riches qui permettent la culture d'un type de microorganismes. Notre étude a nécessité l'utilisation de Rappaport Vassiliadis (RAP), un bouillon sélectif de pré enrichissement et d'enrichissement pour la recherche de *Salmonella*.

1-5-2 Les milieux d'isolement

Ces milieux solides permettent la culture, la multiplication et l'isolement de microorganismes spécifiques recherchés.

➤ Gélose Eosine Bleu de méthylène (EMB)

C'est un milieu d'isolement des bacilles Gram négatif. Il est très utilisé pour l'isolement des coliformes.

➤ Gélose Salmonella- Shigella (SS)

C'est un milieu sélectif permettant l'isolement d'Entérobactéries pathogènes. Il est très utilisé pour la recherche de *Salmonella* dans les selles et les denrées alimentaires.

➤ Gélose Bile Esculine Agar (BEA)

C'est un milieu d'isolement sélectif pour *Enterococcus*.

I-5-3 Les milieux d'identification

Ce sont des milieux qui permettent l'étude de certains caractères biochimiques spécifiques aux microorganismes recherchés. Une gélose au

Téllurite de potassium, un Bouillon Hyper Salé (BHS) pour *Enterococcus* et une petite galerie d'identification des Entérobactéries ont été utilisés au cours de cette étude.

➤ **La gélose au Téllurite de Potassium (TK)**

C'est un milieu d'identification d'*Enterococcus faecalis*.

➤ **Bouillon Hyper Salé (BHS)**

C'est un milieu utilisé dans le cadre d'un diagnostic différentiel entre Streptocoques du groupe D et *Enterococcus*.

➤ **La petite galerie d'identification des Entérobactéries**

- Le milieu Urée-indole
- Le milieu Kligler Hajna
- Le milieu Lysine de fer
- Le milieu au Citrate de Simmons

➤ **La gélose Mueller Hinton (MH)**

C'est une gélose qui permet de tester la sensibilité des germes aux antibiotiques.

➤ **Gamme des sucres pour identification d'*Enterococcus***

Elle permet de faire le diagnostic différentiel des espèces d'*Enterococcus*. Elle comprend différents sucres à savoir : le mannitol, le raffinose, l'arabinose, le xylose, le pyruvate et le sorbitol.

II – METHODOLOGIE

II-1- Recueil des données

Deux fiches d'enquête ont été utilisées, dont l'une destinée au vendeur et l'autre destinée à recueillir des informations sur les sachets d'eau.(voir annexes)

II-2- Transport après prélèvement

Les sachets d'eau ont été étiquetés puis transportés à 4°C vers le laboratoire. Les étiquettes portaient les mentions suivantes :

- numéro de l'échantillon
- type d'eau avec numéro de la commune, et du point de prélèvement ;
- dates et heures du prélèvement.

II-3- Préparation de l'échantillon au laboratoire

La préparation de l'échantillon aux analyses au laboratoire a comporté les étapes suivantes :

- Rincer le sachet d'eau sous un jet d'eau pour le débarrasser des éventuelles impuretés.
- Sécher avec un papier buvard
- Agiter énergiquement pour bien homogénéiser le contenu
- Ouvrir le sachet d'eau à l'aide d'une anse de platine chauffée au bec bunzen
- Réaliser (5) cinq aliquots sous une hotte à flux laminaire à partir d'un même sachet d'eau.

*tube 1 : 5ml dans un tube à hémolyse stérile pour ensemencement sur gélose EMB

*tube 2 : 5ml dans un tube à hémolyse stérile pour ensemencement sur gélose BEA

*tube 3 : 50ml dans un tube Falcon de même capacité pour conservation

*tube 4 : 25ml dans un flacon de Sorel pour et enrichissement au
Rappaport Vassiliadis

*tube 5 : 100ml dans un flacon pour l'analyse organoleptique et
physico-chimique.

II-4- Evaluations organoleptiques de l'eau

Au laboratoire, 50ml d'eau de l'aliquot 5 sont mis dans un becher pour
rechercher les caractéristiques suivantes :

- couleur
- aspect de la surface
- limpidité- turbidité
- sédiments en suspension
- odeur et saveur

La couleur a été appréciée en utilisant comme référent, la couleur d'une eau
distillée.

La modification de l'aspect de la surface de l'eau a été recherchée en observant la
surface de l'eau au repos dans un Erlen et déposé sur une surface plane.

La limpidité, la turbidité et la présence de sédiment ont été évalués en utilisant une
eau distillée stérile comme référent dans un Erlen placé devant une source de
lumière et sur une surface plane.

L'odeur et la saveur ont été évaluées en milieu aéré sans sources d'odeur
particulière par dégustation à plusieurs reprises.

II-5- Etude physico-chimique

II-5-1-Détermination du pH

Principe

Le pH constitue la concentration en ion H_3O^+ , exprimé en co-logarithme décimal à température fixe dans l'eau. C'est le co-logarithme du proton solvaté.

$$pH = - \log [H_3O]$$

Sa détermination par électrode spécifique est basée sur la différence de potentiel existant entre les électrodes, une de verre et une de référence.

Cette différence de potentiel est liée à la présence d'ion hydroxinium H_3O^+ .

Technique

Mesurer le pH d'une solution est revenu à :

- Calibrage du pH-mètre avec les solutions d'étalonnage.
- Mettre un volume d'eau à analyser dans une éprouvette,
- Plonger l'extrémité du pH-mètre (électrodes) dans le volume d'eau à analyser,
- Procéder à la lecture directement sur l'affichage digital de l'appareil.
- Rincer l'électrode à l'eau distillée et l'essorer avec une compresse après chaque mesure.

Les résultats ont été exprimés en unité de pH.

II-5-2-Détermination de la température

Le principe de la détermination de la température repose sur la dilatation des liquides. Un thermomètre à mercure a été utilisé pour sa réalisation.

La température de l'eau a été déterminée en plongeant un thermomètre à mercure dans 50ml d'eau échantillon et attendre deux (2) minutes que le mercure se stabilise au niveau d'une graduation du thermomètre pour faire la lecture.

II-6- Etude bactériologique

II-6-1 Recherche d'*Escherichia coli*

La recherche de *E. coli* dans les eaux de boisson s'est effectuée selon un protocole en trois étapes qui sont : la détection, le dénombrement, et l'identification.

- **La détection**

Une gélose EMB a été ensemencée par inondation à partir de l'aliquot 1 de 5ml d'eau échantillon et incubé à 44 °C pendant 24 à 48 heures.

- **Le dénombrement**

Il a consisté à faire un décompte des colonies sur le milieu de culture et à rapporter le chiffre obtenu au volume d'eau analysée selon les étapes suivantes :

- Placer la boîte de Pétri côté gélose contre une source de lumière
- Compter les éventuelles colonies suspectes sur la gélose EMB
- Rapporter le nombre obtenu au volume d'eau analysé

Exemple : 5ml d'eau analysée

Après 24h, on obtient x colonies sur la gélose

Dénombrement = $x/5$ colonies par ml

- **L'identification** :

Elle a consisté en la description de l'aspect des colonies, à la recherche de cytochrome oxydase C et à la recherche des caractères biochimiques.

- ✓ **Aspect des colonies** : les colonies suspectes et caractéristiques de *E.coli* sur gélose EMB sont de petites colonies de type S présentant un reflet métallique.
- ✓ **Recherche de cytochrome oxydase C** : *Escherichia coli* est une Entérobactérie, donc ne possède pas de cytochrome oxydase C.

Le test d'oxydase s'est effectué suivant les étapes suivantes :

- Repiquer les colonies suspectes de la gélose EMB sur gélose blanche de type ordinaire (GO)

- Mettre une goutte de solution de 1% de Diméthyl-para-phénylène-diamine sur du papier buvard

- Prendre à l'aide d'une pipette pasteur une colonie pure du germe à étudier sur GO et la déposer dans la goutte de solution sur le papier buvard

- Attendre 30 seconde et faire la lecture.

L'apparition d'une coloration violacée puis noire signe la présence de cytochrome oxydase C.

- Réaliser un contrôle de qualité du réactif avec les témoins positif (*Pseudomonas aeruginosa*) et négatif (*Staphylococcus aureus*).

✓ **La recherche des caractères biochimiques** a été effectuée à partir du portoir réduit de Le Minor (milieu Kligler Hajna, Lysine de Fer, Citrate de Simmons), le test d'Urée –indole.

° Le milieu Urée-indole a été utilisé pour la recherche de l'Indole, de l' Uréase et de la TDA. Son ensemencement s'est fait par mise en suspension d'une colonie pure dans un volume coulé dans un tube. Après ensemencement et incubation, le rouge basique est synonyme d'Uréase (+) et l'orange ou jaune synonyme d'Uréase (-). Après addition de réactif de Kovacs, l'anneau rouge est synonyme d'Indole (+) et l'anneau jaune Indole (-). Après addition du perchlorure de fer, la coloration marron est synonyme de TDA (+) et la coloration jaune, TDA (-).

° Le milieu Kligler Hajna est un milieu complexe qui a permis la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Sa surface a été ensemencée abondamment par stries serrées, son culot par simple piqûre à l'aide de la même pipette boutonnée puis dévisser partiellement la capsule afin de permettre les échanges gazeux. Il a ensuite été porté à incubation à l'étuve 24h à 37°C. Les caractères recherchés étaient : l'utilisation de glucose, l'utilisation du lactose, la production du H₂S, de gaz et de la LDC. Ainsi l'observation :

- d'un culot jaune, pente jaune a symbolisé la présence de bactéries de type fermentatif du glucose et de lactose ;
- d'un culot jaune, pente rouge a symbolisé la présence de bactéries de type fermentatif de glucose et lactose (-) ;
- d'un culot rouge, pente rouge a symbolisé la présence de bactéries de type oxydatif du glucose (glucose -) et du lactose (lactose-) ;
- d'un culot rouge, pente jaune a symbolisé la présence de bactéries de type oxydatif du glucose (glucose-) et fermentatif du lactose (lactose+)

° Le milieu Lysine de fer a été utilisé en routine. L'ensemencement de la pente a été pratiqué par des stries et le culot par piqûre centrale. Les caractères recherchés étaient : la Lysine désaminase (LDA), la lysine décarboxylase (LDC) et la production de H₂S. Après incubation on a observé :

- une pente violette et un culot jaune synonyme de bactéries LDA-, LDC-, H₂S -
- une pente violette, et un culot violet synonyme de bactéries LDA-, LDC+, H₂S-
- une pente violette et un culot violet avec noircissement synonyme de bactéries LDA-, LDC+, H₂S+
- une pente rouge vineux et un culot jaune synonyme de bactéries LDA+, LDC, H₂S (-/+)

° Le milieu au Citrate de Simmons est un exemple de milieu synthétique, c'est-à-dire de milieu dont la composition qui est complexe, est connue exactement tant qualitativement que quantitativement. La pente a été ensemencée par stries longitudinales, réalisées à l'anse à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Après incubation à l'étuve 24h à 37°C, les caractères recherchés étaient l'utilisation du citrate comme seule source de carbone. Si on observe :

-le virage de l'indicateur de pH au bleu, il y a eu alcalinisation du milieu et la souche était Citrate de Simmons (+)

- pas de virage de l'indicateur de pH, il n'y a pas eu alcalinisation du milieu et la souche était Citrate de Simmons (-).

Tableau XI : Caractères biochimiques de *E. coli* [9, 17]

Caractères	<i>E. coli</i>
Glucose	+
Lactose	+
H ₂ S	-
Uréase	-
Indole	+
LDC	(+)
Citrate (Simmons)	-
TDA	-

H₂S= hydrogène sulfureux, TDA=Tryptophane Désaminase, LDC= Lysine Décarboxylase.

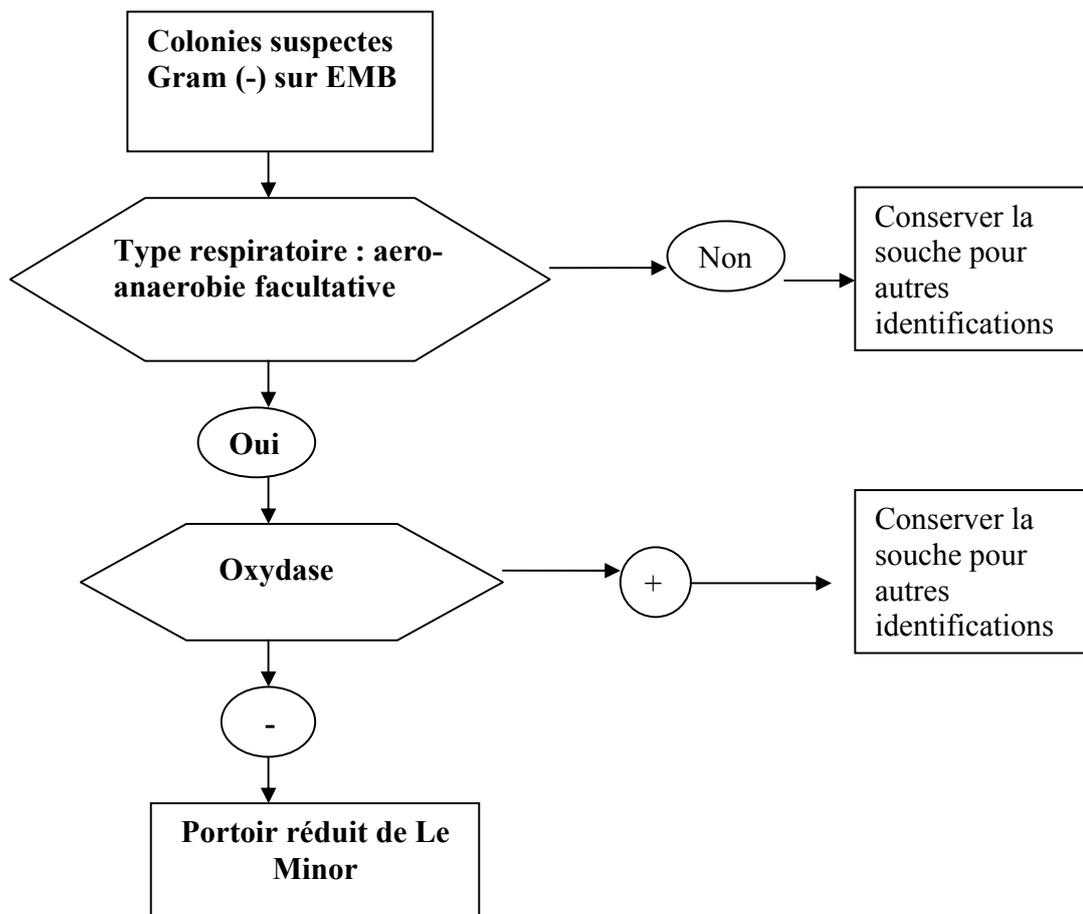


Schéma 1 : Procédure d'identification de *E.coli*

II-6-2 Recherche de *Salmonella*

- **L'enrichissement**

Il a consisté à enrichir 25ml d'eau à analyser dans 50ml de bouillon Rappaport Vassiliadis et à incuber le mélange obtenu à 37°C pendant 18-24 heures

- **L'isolement** :

Une gélose SS a été ensemencée par stries à partir du Bouillon Rappaport Vassiliadis et incubée à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

- **L'identification**

- ✓ **L'aspect des colonies** : Sur la gélose SS, les colonies de *Salmonella* ont présenté un aspect incolore avec un centre noir brillant (H₂S+).
- ✓ **La recherche de cytochrome oxydase C** a été réalisée avec une goutte de réactif sur du papier buvard comme décrit pour *E. coli*. Elle a consisté à :
 - Repiquer les colonies suspectes de la gélose SS sur gélose blanches de type ordinaire (GO)
 - Mettre une goutte de solution de Diméthyl-para-phénylène-diamine sur du papier buvard
 - Prendre à l'aide d'une pipette pasteur une colonie pure du germe à étudier sur GO et la triturer dans la goutte de solution sur le papier buvard
 - Attendre 30 seconde et faire la lecture.
 - Si on observe un virage violet, alors Oxydase (+),
 - Si la goutte de solution reste incolore, alors oxydase (-)
 - Salmonella* étant oxydase négative donc la coloration violette n'apparaît pas.
 - Réaliser un contrôle de qualité des réactifs avec les témoins positif (*Pseudomonas aeruginosa*) et négatif (*Staphylococcus aureus*)
- ✓ **La recherche des caractères biochimiques** consiste en l'utilisation du portoir réduit de Le Minor comme précédemment lors de la recherche des caractères biochimiques de *E.coli* et du test d'ONPG.

- ✓ **Le test d'ONPG** a été utilisé pour confirmer ou infirmer la présence de bactéries qui fermentent le lactose c'est à dire les bactéries possédant une enzyme bêtagalactosidase et a consisté à :
- Repiquer une colonie suspecte sur gélose lactosée (Kligler Hajna)
 - Préparer 1ml de suspension bactérienne à partir de colonies sur le milieu lactosée dans de l'eau distillée
 - Ajouter une goutte de toluène pour rendre perméables les enveloppes des bactéries
 - Déposer un disque d'ONPG à l'aide d'une pince flambée dans la suspension
 - Porter à incubation pendant 6h à 18h à 37°C
 - Faire la lecture :
Si la suspension se colore en jaune, alors ONPG (+)
Si la suspension reste incolore, alors ONPG (-)
 - Réaliser un contrôle de qualité des disques d'ONPG avec un témoin positif (*E. coli*) et un témoin négatif (*Edwardsiella tarda*).

• **Le sérotypage**

Il a été réalisé selon le principe de l'agglutination sur lame à partir colonies pures de 24h à l'aide d'un immun sérum spécifique. Il a comporté les étapes suivantes du schéma de Kauffman White:

- Sérogroupage
- Sérotypage phase somatique
- Sérotypage première phase flagellaire
- Sérotypage deuxième phase flagellaire pour les souches ayant deux phases

- Elaboration de la formule antigénique
- Décryptage de la formule antigénique selon le répertoire des formules antigéniques de sérovars de *Salmonella* 8^{ème} édition ,2001.

Tableau XII : Caractères biochimiques des Salmonelles [9] [17]

Caractères	<i>Salmonella sp.</i>
Glucose	+
Lactose	-
ONPG	-
H ₂ S	+
Uréase	-
Indole	-
LDC	+
Citrate (Simmons)	+
TDA	-

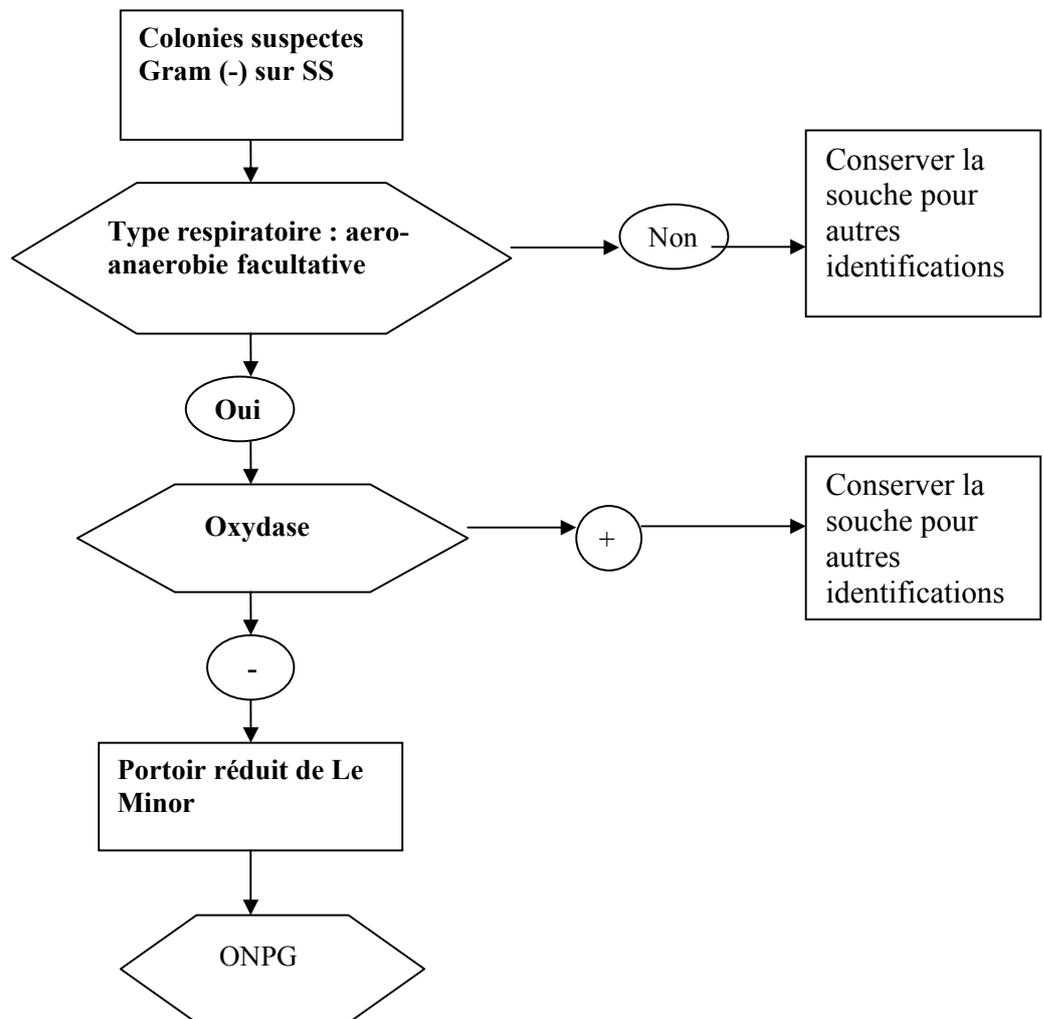


Schéma 2 : Procédure d'identification de *Salmonella*

II-6-3 Recherche de *Enterococcus*

- **L'isolement**

Une gélose BEA (Bile Esculine Azide) a été ensemencée avec 5ml d'eau à analyser et incubée ensuite à 37°C pendant 24-48heures.

- **le dénombrement**

Il a consisté à faire un décompte des colonies sur le milieu de culture et à le rapporter au volume d'eau analysée. Il s'est effectué selon les étapes suivantes :

- Placer la boîte côté gélose contre une source de lumière
- Compter les éventuelles colonies sur la gélose BEA
- Rappporter le nombre obtenu au volume d'eau analysé

Exemple : 5ml d'eau analysée

Après 24h d'incubation, on obtient x colonies

Dénombrement = $x/5$ colonies par ml

- **L'identification**

Elle a reposé sur les caractères cultureux et biochimiques[31].

-La dégradation de l'esculine a été vérifiée par la recherche d'un halo noir autour des colonies sur gélose BEA,

-La résistance au NaCl a été recherchée par la mise en culture en bouillon hypersalé (BHS),

-La culture sur gélose au TK,

-La fermentation des sucres (Mannitol, Raffinose, Sorbitol, Xylose, Arabinose, Pyruvate).

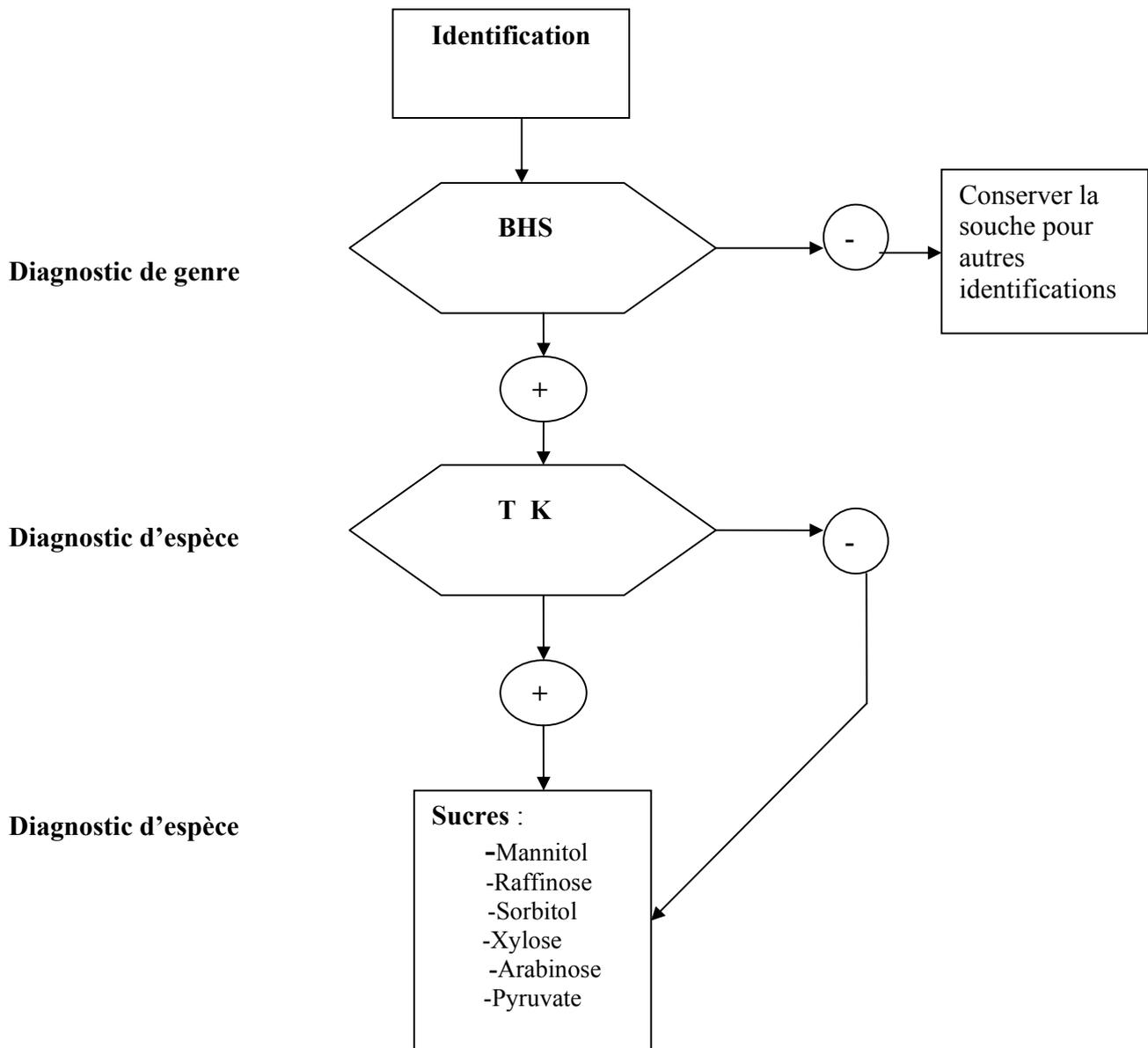


Schéma 3 : Procédure d'identification de *Enterococcus*

II-6-4 Identification de d'autres germes à cultures positives sur EMB, BEA et SS.

L'identification des ces germes passe par l'observation des caractères cultureux, morphologiques et biochimiques.

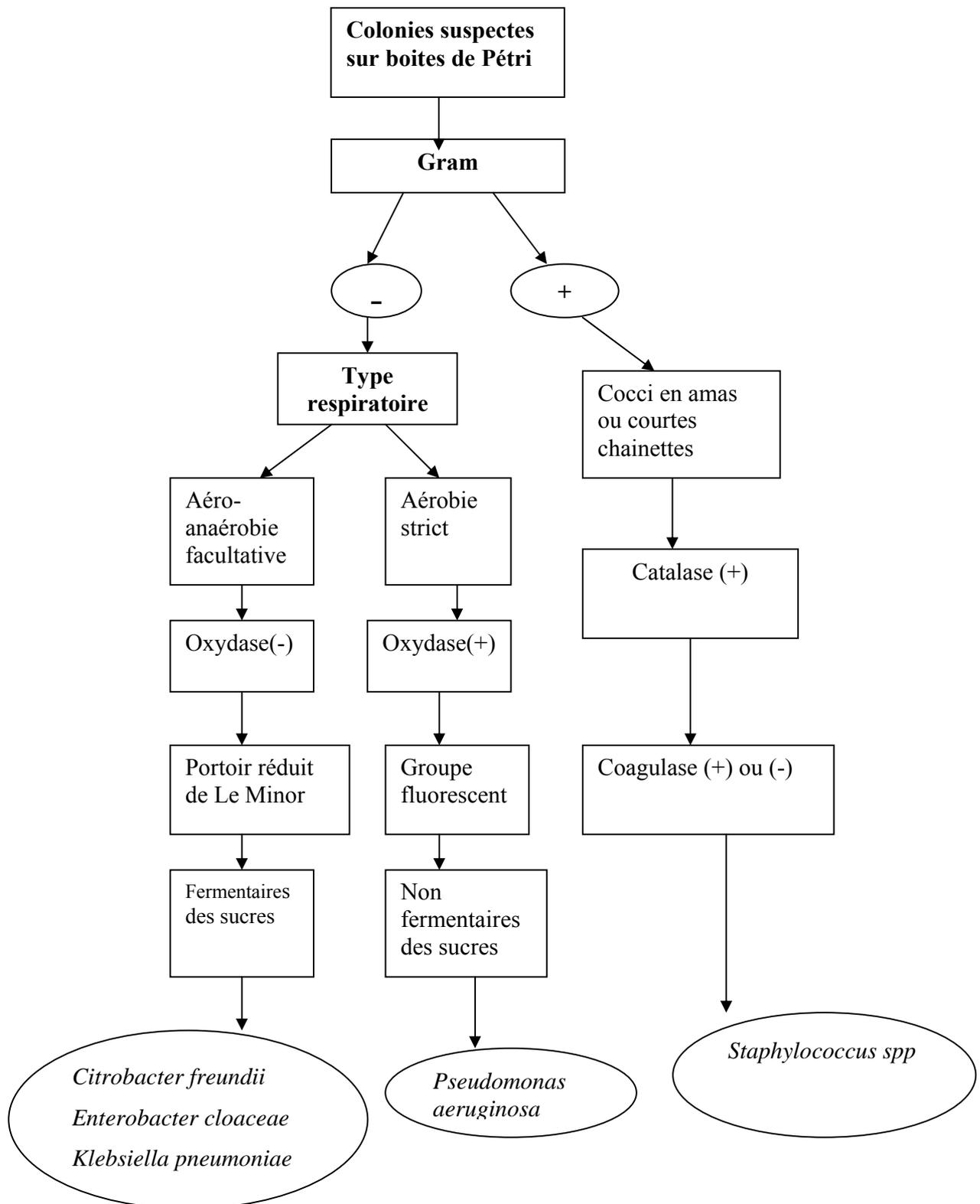


Schéma 4 : Procédure d'identification des autres bactéries

II.7. Antibiogramme

II.7.1 Définition et principe

a. Définition

C'est l'étude de la concentration minimale inhibitrice en milieu gélosé.

b. Principe

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard. Des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à tester sont disposés à la surface d'une gélose MUELLER HINTON préalablement ensemencée avec une culture pure de la souche à étudier.

II.7.2 Réalisation pratique de l'antibiogramme

a. Préparation de la gélose

La gélose MUELLER HINTON a été préparée en respectant les étapes suivantes :

- Dissoudre 35g de poudre MH dans 1 litre d'eau distillée stérile
- Porter à ébullition
- Conditionner dans des flacons stériles
- Stériliser à l'autoclave à 121°C Pendant 20 minutes
- Couler en boîte de pétri en respectant une épaisseur de 4mm
- Laisser solidifier aseptiquement à la température ambiante
- Sécher à l'étuve à 37°C avant utilisation.

b. Contrôle de qualité du milieu et des disques

Pour vérifier la validité des disques et la conformité du milieu MUELLER HINTON des souches de référence ont été utilisées (*E coli* / ATCC 25922, *Enterococcus*/ ATCC 29212).

L'antibiogramme de ces souches a été réalisé en même temps que celui des souches à étudier. A chaque changement de lot de disques ou de milieu gélose, ce contrôle de qualité est réalisé.

c. Préparation et Ajustement de l'inoculum

L'inoculum a été préparé à partir d'une souche bactérienne de 18 à 24 heures et standardisé car il doit permettre d'obtenir après culture des colonies jointives sur la gélose Mueller Hinton.

Il a été prélevé au moins trois colonies de la bactérie à étudier à la pipette Pasteur munie d'une poire, et introduit dans un tube à bout rodé contenant 10 ml d'eau distillée stérile pour former une suspension.

Ensuite l'inoculum a été ajusté à l'étalon 0,5 Mac Farland (10^8 UFC/ml). Pour cela il a été prélevé une certaine quantité de la première suspension toujours à la pipette Pasteur munie d'une poire et introduit dans un autre tube à bout rodé contenant 10 ml d'eau distillée stérile, cette suspension a servi à l'ensemencement.

Cet ajustement s'est fait en fonction de chaque type de germe :

- pour les souches d'Entérobactéries, il a été fait une dilution au 1 / 1000^{ème}
- pour les *Enterococcus*, l'inoculum pur a été utilisé.

d. Ensemencement

L'ensemencement s'est fait par inondation de la surface entière de la gélose avec 3 à 5 ml de la suspension bactérienne. Il a été effectué des rotations complètes pour s'assurer d'une bonne répartition de la solution. Le surplus a été rejeté en aspirant à l'aide d'une pipette Pasteur munie d'une poire et les boîtes de pétri ont enfin été incubé à l'étuve à 37° C pendant 15 minutes.

e. Dépôt des disques et Pré diffusion des antibiotiques

Après le séchage, les disques ont été déposés sur la gélose à 30 mm l'un de l'autre à l'aide d'un applicateur automatique ou à la pince flambée.

Les boîtes ont ensuite été incubées à la température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la pré-diffusion de l'antibiotique dans la gélose.

f. Incubation

Les boîtes de Pétri ont été portées à incubation à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

g. Lecture interprétative

Elle a été réalisée par le système OSIRIS, système automatisé, comprenant un logiciel de lecture et d'interprétation des antibiogrammes en diffusion. Il est composé d'un système expert intégré qui a permis :

- la détection des erreurs techniques
- la détection des phénotypes de résistance les plus fréquents (Bétalactamases à spectre étendu, pénicillinases etc.)
- une procédure de contrôle qualité

Les règles du système expert ont suivi les dernières recommandations du comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (2006).

TABLEAU XIII: Charges des antibiotiques testés et caractérisation des diamètres de la zone d'inhibition selon les normes du CASFM l'antibiogramme des *E.coli*[24] .

Familles	Antibiotiques	Abréviations	Charges des disques	Diamètres d'inhibition	
				Sensible ≥	Résistant <
β-lactamines	Amoxicilline	AML	25µg	21	14
	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	20µg 10µg	21	14
	Ticarcilline	TIC	75µg	22	18
	Piperacilline	PIP	100µg	20	12
	Cefalotine	CF	30µg	18	12
	Cefoxitine	FOX	30µg	22	15
	Cefuroxime	CXM	30 µg		
	Ceftriazone	CRO	30µg		
	Cefepime	FEP	30µg	21	15
	Aztreonam	ATM	30µg	25	17
	Imipenem	IMP	10µg	22	14
Aminosides	Kanamycine	K	30µg	17	15
	Gentamycine	GM	10UI	16	14
	Tobramycine	TM	10µg	16	14
	Netilmycine	NET	30UI		
	Amikacine	AN	30µg	17	15
Quinolones	Acide Nalidixique	NA	30µg	28	22
	Ciprofloxacine	CIP	5µg		
Sulfamides et diaminopyrimidine	Cotrimoxazole	SXT	1,25 +23,75	16	10
Polypeptides	Colistine	C	300UI	23	19
Tetracycline	Tetracycline	TET	30UI	19	17
Phosphonopectides	Fosfomycine	FOS	50µg	14	14

TABLEAU XIV: Charges des antibiotiques testés et caractérisation des diamètres de la zone d'inhibition selon les normes du CASFM l'antibiogramme des Salmonelles [24].

Familles	Antibiotiques	Abréviations	Charges des disques	Diamètres d'inhibition	
				Sensible ≥	Résistant <
βlactamines	Amoxicilline	AML	25µg	21	14
	Amoxicilline + Acide Clavulanique	AMC	20µg 10µg	21	14
	Ticarcilline	TIC	75µg	22	18
	Cefalotine	CF	30µg	18	12
	Cefoxitine	FOX	30µg	22	15
	Cefotaxime	CTX	30µg	21	15
Aminosides	Gentamicine	GM	10UI	16	14
Quinolones	Acide Nalidixique	NA	30µg	28	22
	Ciprofloxacine	CIP	5µg	40	30
Sulfamides	Cotrimoxazole	SXT	1,25 +23,75µg	16	10
Tétracycline	Tétracycline	TET	30UI	19	17

Antibiotiques testés pour les *Enterococcus* [4] [28] [38].

Seule la vancomycine a été testé pour *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, charge du disque 30µg, diamètres d'inhibition ≥ 16.

RESULTATS

I-RESULTATS GENERAUX

I-1 caractéristiques générales du matériel d'étude

I-1-1 Sexe des vendeurs

Tableau XV : Répartition en fonction du sexe des vendeurs

SEXE DES VENDEURS	EFFECTIF (n=460)	POURCENTAGE (%)
MASCULIN	137	29,78
FEMININ	323	70,22

La plupart des échantillons (70,22%) ont été collectés chez des vendeurs de sexe féminin.

I-1-2 Age des vendeurs

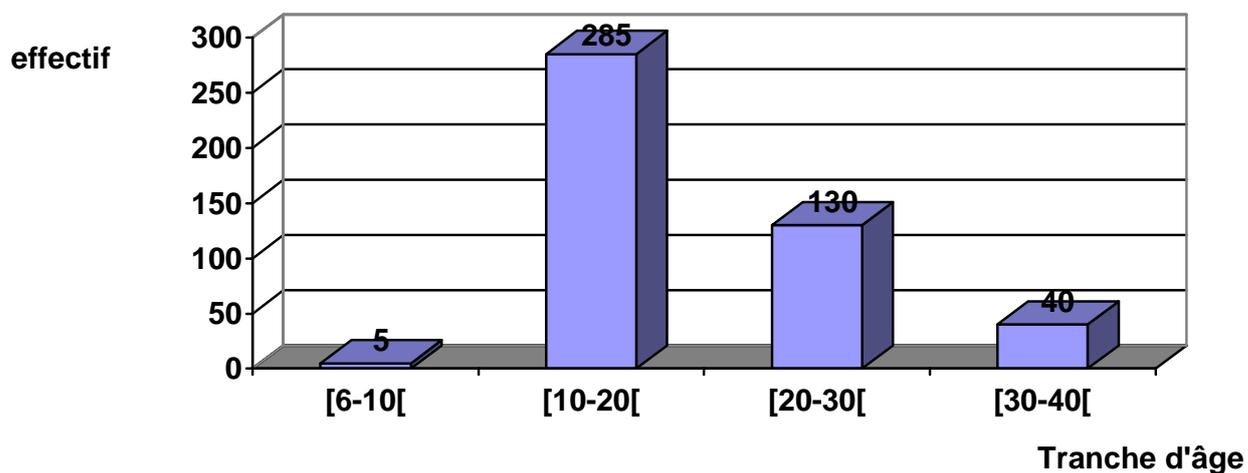


Figure 1: Répartition des échantillons selon les tranches d'âges des vendeurs

61,96% des sachets d'eau ont été achetés chez des vendeurs qui ont un âge compris entre 10 et 20 ans.

I-1-3 Implication du vendeur

Tableau XVI: Répartition en fonction de l'implication du vendeur

<i>COMMUNES</i>	<i>PRODUCTEURS ET VENDEURS</i>	<i>VENDEURS UNIQUEMENT</i>
MARCORY	57 (12,4 %)	58 (12,6 %)
ABOBO	57 (12,4 %)	58 (12,6 %)
KOUMASSI	58 (12,6 %)	57(12,4 %)
PLATEAU	58 (12,6 %)	57 (12,4 %)
TOTAL	230	230

50% de nos échantillons ont été produits par les vendeurs eux même tandis que 50% sont de producteurs inconnus.

L'échantillonnage par commune était de 115 sachets d'eau, à raison de 57 ou 58 sachets de chaque type par commune.

I-1-4 Mesure d'hygiène

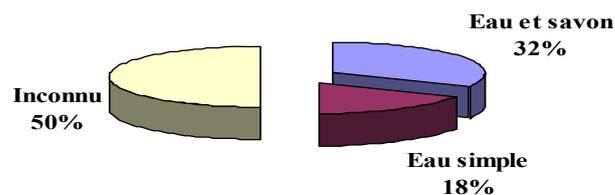


Figure 2: Répartition des échantillons en fonction du mode de lavage des mains et Ustensiles avant ensachage

Trente deux pour cent (32%) des producteurs ont affirmé laver leurs mains et les ustensiles d'ensachage avec de l'eau et du savon.

I-1-5 Nombre de personnes utilisées pour l'ensachage

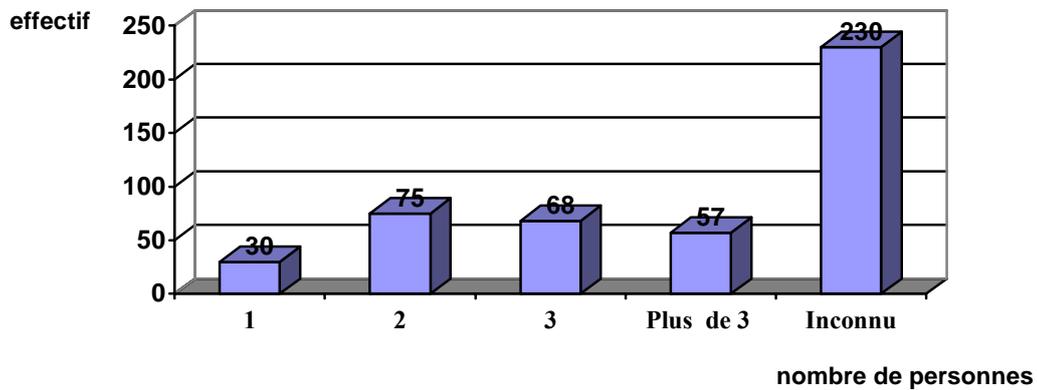


Figure 3 : Répartition des échantillons en fonction du nombre de personnes utilisées pour l'ensachage.

Plus de trois personnes ont participé à l'ensachage de 57 sachets d'eau de type artisanal soit 12,40% et deux personnes pour 75 sachets d'eau soit 16,30%.

Aucune information n'a été obtenue sur le nombre de participant à l'ensachage de 230 sachets d'eau de type semi industriel.

I-1-6 Utilisation des matériaux qui rentrent dans le processus d'ensachage

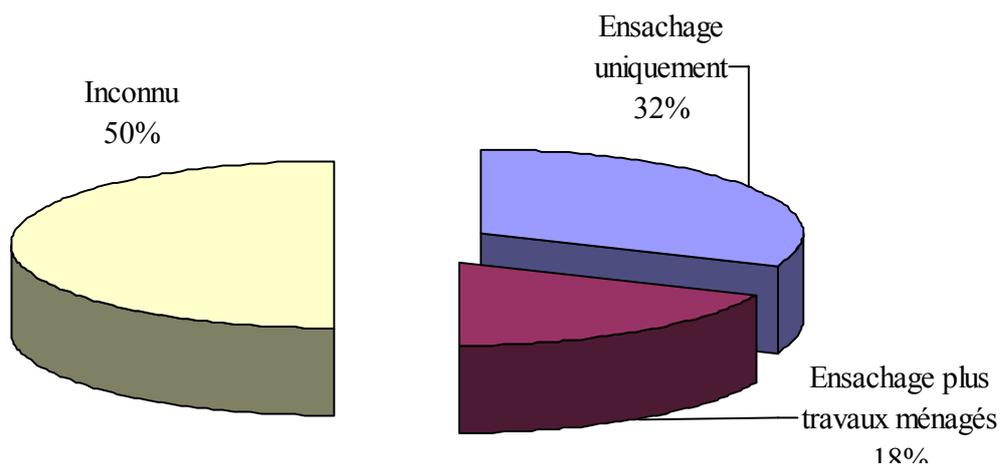


Figure 4 : Répartition des échantillons en fonction de l'utilisation du matériel qui entrent dans le processus d'ensachage

145 sachets d'eau soit environ 32% des échantillons ont été obtenus à partir de matériaux exclusivement réservés à l'ensachage d'eau.

I-1-7 Mode d'ouverture des sachets pour le conditionnement

Tableau XVII : Répartition des échantillons en fonction du mode d'ouverture des sachets pour le conditionnement.

Mode d'ouverture	Effectif (n=460)	Pourcentage (%)
Par les doigts uniquement	150	32,61
Les doigts + souffle buccal	80	17,39
Inconnu	230	50

Le mode d'ouverture de 50% des sachets d'eau échantillons était resté inconnu.

32,61% des échantillons de type artisanal ont eu leurs sachets ouverts uniquement à la main, pendant que 17,39% sachets de ces mêmes échantillons ont connu le soufflet buccal après les doigts.

I-1-8 Lieu de stockage avant la vente

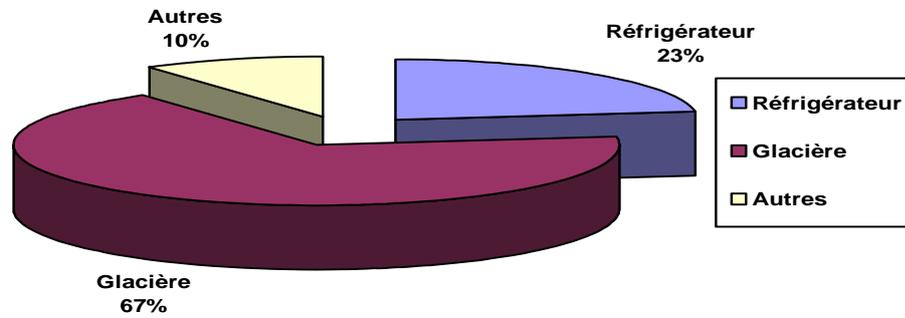


Figure 5 : Répartition des échantillons en fonction du lieu de stockage avant la vente

67% des sachets étaient stockés à 4°C avant la vente.

I-1-9 Temps de stockage avant la vente

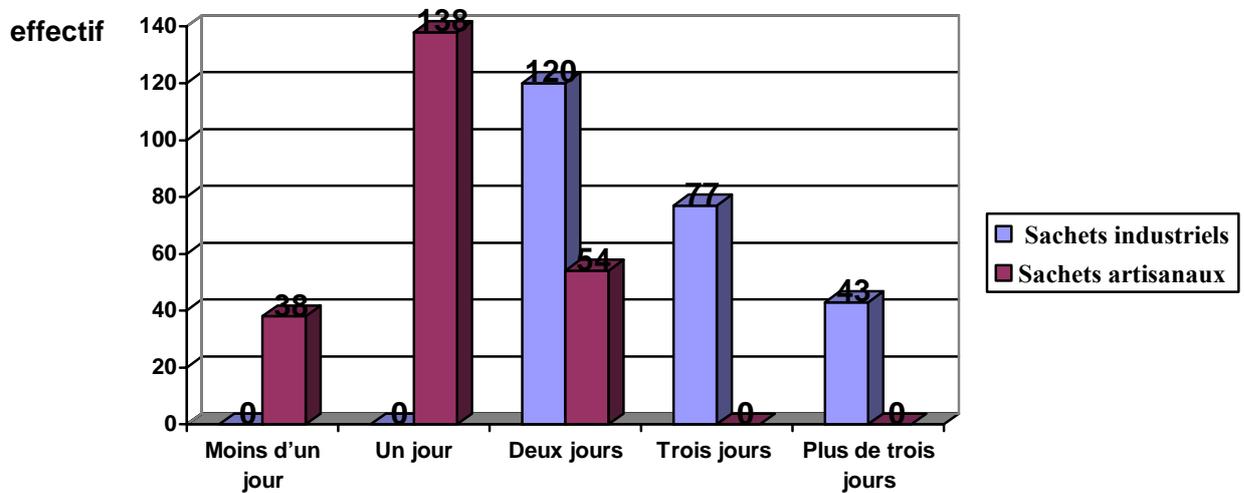


Figure 6: Répartition des échantillons par type en fonction du temps de stockage avant la vente.

Le temps de stockage avant vente n'excédait pas deux jours pour les sachets d'eau de type artisanal. Les sachets d'eau de type semi industriels allaient au-delà.

I-1-10 Mode d'ensachage

Tableau XVIII : Répartition des échantillons en fonction du mode d'ensachage

Mode d'ensachage	Effectif (n=460)	Pourcentage (%)
Mode manuel direct*	85	18,5
Mode manuel indirect*	145	31,5
Inconnu	230	50

Mode manuel direct : De la source au sachet

Mode manuel indirect : De la source à un réceptacle avant de finir dans le sachet

Le mode manuel indirect a constitué le mode le plus utilisé avec 32% d'échantillons de type artisanal.

Le mode de conditionnement des sachets d'eau de type semi industriel reste inconnu.

I-2 CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES.

I-2-1 Couleur de l'eau

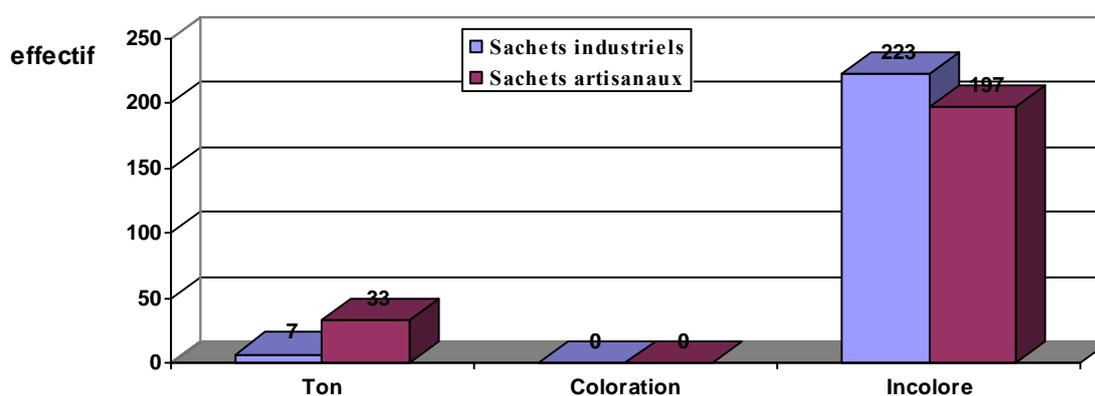


Figure 7 : Répartition des échantillons en fonction de l'observation de la couleur par type de sachet.

Les différents échantillons d'eau étaient incolores (91,30% des échantillons totaux).

I-2-2 Observation de la surface de l'eau transvasée

Tableau XIX : Répartition des échantillons en fonction de l'aspect de la surface de l'eau par type de sachet

Type de sachet d'eau	Film d'hydrocarbure	Formation de mousse	Matière flottante	R A S*	Total
Sachets industriels	00	09	06	215	230
Sachets artisanaux	00	02	21	207	230

RAS : échantillons n'ayant rien à signaler concernant la surface de l'eau transvasée.

Dans la plupart des cas (91,7%), il n'y avait rien à signaler sur l'aspect de la surface de l'eau.

I-2-3 Opacité

Tableau XX : Répartition des échantillons en fonction de l'opacité par type de sachet d'eau

Type de sachet d'eau	Parfaitement transparent	Particules en suspension	Total
Sachets industriels	191	39	230
Sachets artisanaux	143	87	230

➤ La turbidité, mesure le degré d'opacité de l'eau.

$$X^2=25,18$$

$$P=0,000001 ; P<5\%.$$

La différence était significative entre les deux types de sachets d'eau ;

Les particules en suspension étaient plus importantes dans les sachets d'eau de type artisanal.

I-2-4 Odeur de l'eau

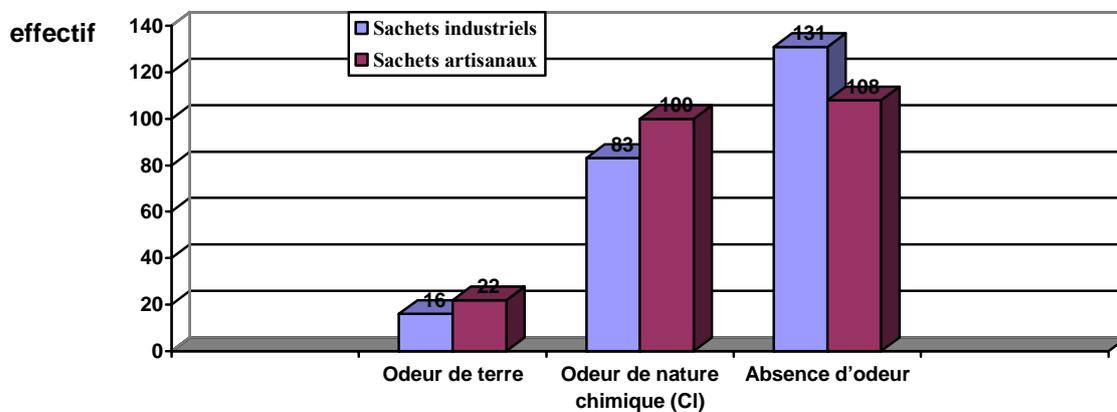


Figure 8 : Répartition des échantillons en fonction de l'odeur de l'eau par type de sachet.

(CL)= chlore

L'odeur était très souvent détectée dans les sachets d'eau de type artisanal avec 26,5%. Les sachets d'eau de type semi industriel présentaient 21,5% de cas d'odeur.

I-2-5 La saveur de l'eau

Tableau XXI : Répartition des échantillons en fonction de la saveur par type de sachet

Types de sachets d'eau n=460	Eaux à saveur	Eaux sans saveur
Sachets industriels	36 (7,83%)	194 (42,17%)
Sachets artisanaux	57 (12,39%)	173 (37,61%)

$$X^2=5,94$$

$$P=0,014$$

$P < 5\%$; la différence était significative. Les sachets d'eau de type artisanal comprenaient plus d'échantillon à saveur que les sachet de type semi industriel.

I-2-6 Le pH

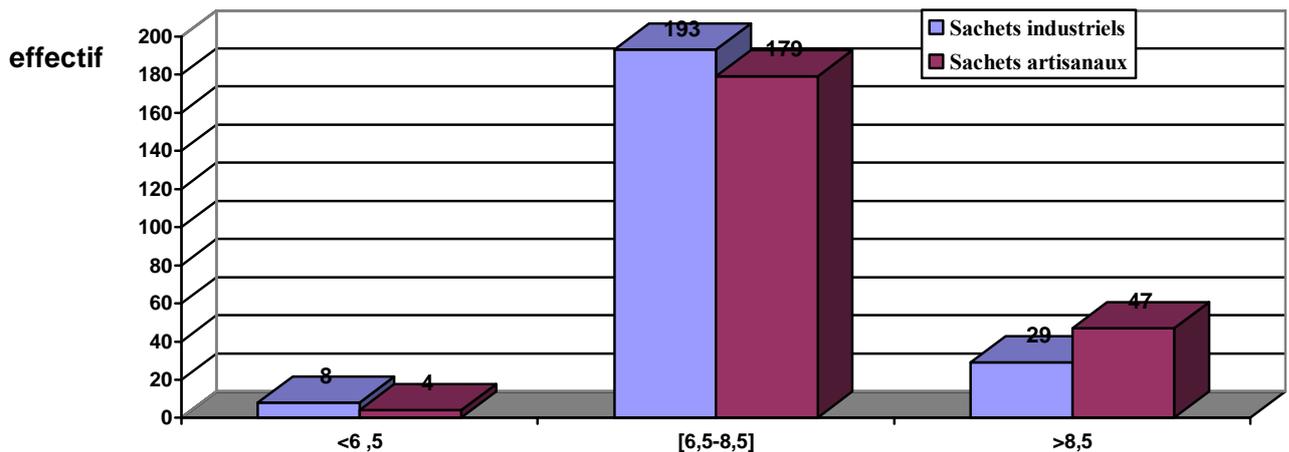


Figure 9 : Répartition des échantillons en fonction du pH par type de sachet

La plupart des sachets d'eau avaient leur pH compris entre 6,5 et 8,5

I-3 DONNEES BACTERIOLOGIQUES

I-3-1 Résultats de culture

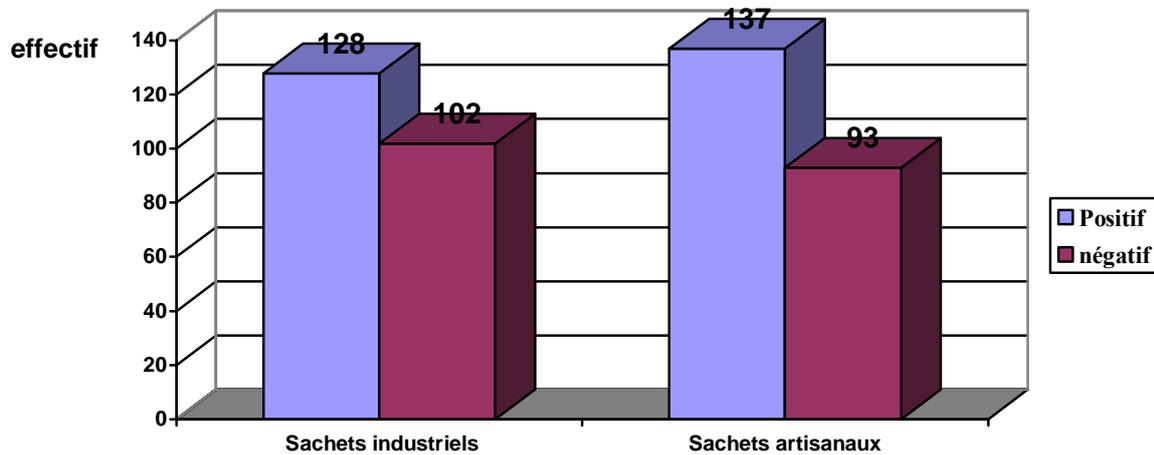


Figure10 : Répartition des échantillons en fonction des résultats de culture par type de sachet

Pour chaque type de sachet, il y avait plus de cultures positives que de cultures négatives.

I-3-2 Germes isolés

Tableau XXII : Répartition de germes isolés après culture.

Germes isolés	Effectif (n=265)	Pourcentage (%)
Bacilles Gram (-)		
Entérobactéries :		
- <i>Escherichia coli</i>	02	0,75
- <i>Salmonella spp.</i>	01	0,38
- <i>Enterobacter cloacae</i>	43	16,23
- <i>Citrobacter freundii</i>	34	12,83
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	6,04
Non Entérobactéries :		
- <i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	95	35,85
Cocci Gram (+)		
- <i>Enterococcus spp.</i>	24	9,05
- <i>Staphylococcus aureus</i>	50	18,87

Les germes isolés, étaient surtout des coliformes (36,23%) synonymes de contamination fécale mais aussi environnementale et des *Pseudomonas* (35,85%).

I-3-3 Echantillons et contamination globale

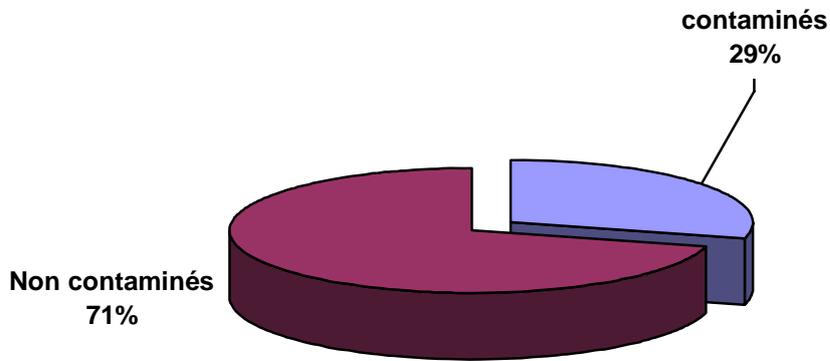


Figure 11 : Répartition des échantillons en fonction de la contamination
29 % des échantillons étaient contaminés.

I-3-5 La contamination fécale

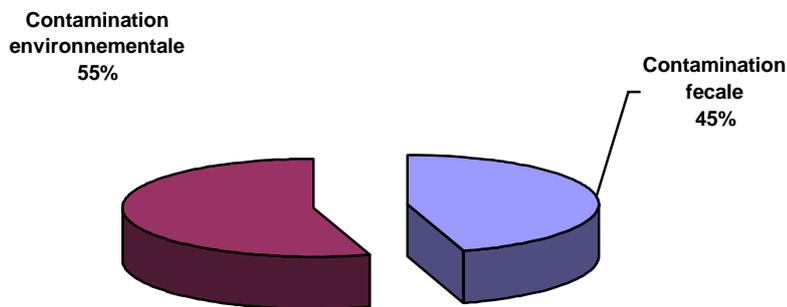


Figure 12 : Représentation de la contamination fécale par rapport à la contamination globale

La contamination fécale correspond à 45% de la contamination globale.

I-3-6 Espèces d'*Entérocooccus*

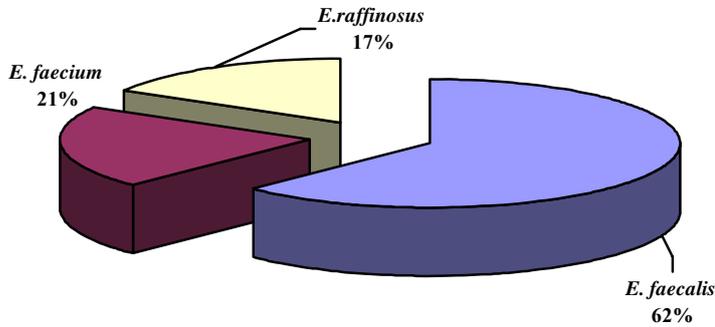


Figure 13 : Répartition des *Enterococcus* en fonction des espèces isolées.
E. faecalis (62%) constituait l'espèce isolée la plus importante au niveau des *Entérocooccus*, suivi de *E. faecium* (21%) et *E. raffinosus* (17%).

I-3-6) Type de contamination

Tableau XXIII : Répartition des échantillons en fonction du type de contamination observée.

Type de contamination	Exemples de germes	Effectif n = 134
Mono contamination :	C F <i>Coliformes</i>	32
	C Env. <i>Pseudomonas</i>	29
Poly contamination :	C F + C F <i>Coliformes + E. faecalis</i>	12
	C F + C Env. <i>Coliformes + Staphylococcus</i>	18
	C Env. + C Env. <i>Staphylococcus + Pseudomonas</i>	43

C F : Contamination fécale

C Env. : Contamination environnementale

La contamination observée était soit fécale soit environnementale, soit les deux types associés ou le même doublement associés.

I-3-5) Dénombrement

Tableau XXIV : Résultats de dénombrement

Germes isolés	Colonies de 24-48h	Volume d'eau analysée	Dénombrement
<i>E. coli</i> :	03	5ml	3/5 colonies / ml
	05	5ml	1 colonie/ ml
<i>Enterococcus spp</i> :	12	5ml	12/5 colonies /ml
	15	5ml	3 colonies/ ml
	27	5ml	27/5 colonies / ml
	36	5ml	36/5 colonies / ml

I-3-7) Sérotypage

Le Sérotypage selon le schéma de Kauffman White par agglutination sur lame à partir de colonies pures de 24h à l'aide d'immun sérum spécifique de la souche de *Salmonella* isolé a permis d'identifier une espèce *Typhimurium*.

I) -3-8 Antibiogramme

I-3-8-1 profil de résistance de E. coli n° 27 Abo et E. coli n°3 Koum

La réalisation des antibiogrammes a permis d'obtenir comme résultats, des phénotypes de résistance et des mécanismes de résistances associés.

Les antibiogrammes pour les deux souches de *E. coli* isolées se présentent comme suit :

Tableau XXV : Profil de résistance des souches de *E.coli*

Familles	Antibiotiques	<i>E. coli</i> n°27Abo	<i>E. coli</i> n°3Koum
β-lactamines :	Amoxicilline	R	R
	Amoxicilline + acide clavulanique	I	S
	Ticarcilline	R	R
	Piperacilline	R	I
	Cefalotine	I	S
	Cefoxitne	I	S
	Cefuroxine	I	S
	Ceftriazone	S	S
	Cefepime	S	S
	Aztreonam	S	S
	Imipenem	S	S
Aminosides :	Kanamycine	S	S
	Gentamycine	S	S
	Tabramycine	S	S
	Netilmycine	S	S
	Amikacine	S	S
Quinolones :	Acide Nalidixique	R	S
	Ciprofloxacine	R	S
Sulfamides et diaminopyrimidine :	Cotrimoxazole	R	R
Polypeptides :	Colistine	S	S
Tetracycline :	Tetracycline	R	R
Phosphonopectides :	Fosfomycine	S	S

Version des recommandations : CA-SFM 2003

Dans la grande famille des β lactamines, les deux souches de *E. coli* testés aux aminopenicillines, étaient résistantes à l'Amoxicilline. Seulement une souche était résistante à l'Amoxicilline + Acide clavulanique dans le groupe des Aminopenicilline + Inhibiteur de β lactamase (IBL).

Dans le groupe des Carboxypenicillines, les deux souches étaient résistantes à la Ticarcilline. Face aux Ureidopenicillines, une souche présentait une sensibilité diminuée à la Piperacilline, pendant que l'autre y était résistant. Dans le groupe des Céphalosporines, une souche présentait une sensibilité diminuée aux Céphalosporines de première, deuxième et troisième génération.

Les deux souches étaient sensibles à l'Aztreonam et à l'Imipenem. Par rapport aux β lactamines, une souche produisait une pénicillinase de bas niveau et l'autre, une pénicillinase de haut niveau.

Dans la grande famille des Aminosides, toutes les souches étaient sensibles à toutes les Aminosides testées. Ces souches étaient de phénotypes sauvages. Dans la famille des Quinolones, une seule souche était résistante à l'acide Nalidixique et à la Ciprofloxacine.

Toutes les deux souches étaient résistantes au Cotrimoxazole et à la Tétracycline et sensibles à la Colistine et la Fosfomycine.

I-3-8-2 Résultats de l'antibiogramme *S. Typhimurium*

L'antibiogramme de la souche de *Salmonella Typhimurium* a permis de décrire un mécanisme de résistance comme on peut l'observer dans le tableau suivant :

Tableau XXVI : Profil de résistance de la souche de *Salmonella Typhimurium*

Familles	Antibiotiques	<i>S. Typhimurium</i>
βlactamines :	Amoxicilline	R
	Amoxicilline + Acide Clavulanique	I
	Ticarcilline	R
	Cefalotine	S
	Cefoxitine	S
	Cefotaxime	S
Aminosides :	Gentamicine	S
Quinolones :	Acide Nalidixique	S
	Ciprofloxacine	S
Sulfamide et association :	Sulfamide-SFM	R
	Cotrimoxazole	R
Tetracycline :	Tetracycline	I

Version des recommandations : CA-SFM 2003

Cette souche était résistante à l'Amoxicilline et à la Ticarcilline. Elle présentait une sensibilité diminuée à l'Amoxicilline + acide Clavulanique et une résistance au Cotrimoxazole. Elle était sensible à tous les autres antibiotiques testés. La souche de *Salmonella Typhimurium* produisait une pénicillinase de bas niveau.

I-3-8-3 Résultats des antibiogrammes des *E.faecalis* et *E. faecium*

Vamcomycine	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
≤16 R	00	00
16-17 I	00	00
≥17 S	15	05

Seule la Vancomycine de la famille des Glycopeptides a été testée et toutes les souches de *E. faecalis* et *E. faecium* étaient sensibles à cet antibiotique. Elles étaient de phénotype sauvage par rapport à la vancomycine.

II- RESULTATS ANALYTIQUES

II-1 Croisement des résultats épidémiologiques et bactériologiques

II-1-1 Présence total de germes par commune

Tableau XXVII : Répartition de la présence de germe par commune.

Communes	Effectif	Pourcentage (%)
Marcory	117	44,2
Koumassi	54	20,4
Abobo	46	17,4
Plateau	48	18,1
Total	265	100

La commune de Marcory constituait la commune où il y a eu le plus grand nombre d'isolats toutes espèces confondues avec 44,2%.

II-1-3 Germes isolés par type de sachet d'eau

Tableau XXVIII : Répartition des germes totaux isolés par type de sachet d'eau

Type	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Enterococcus</i>	Autres
Sachets industriels	00	00	11 (45,83%)	117(49,16%)
Sachets artisanaux	02	01	13 (54,17%)	121(50,84%)
TOTAL	02	01	24	238

Autres= Coliformes, *Staphylococcus* et *Pseudomonas*

Enterococcus a été détecté des différents types de sachet d'eau mais un peu plus dans les sachets de type artisanal (54,17%) qu'industriel (45,83%).

Escherichia coli et *Salmonella* n'ont été détecté que dans les sachets de type artisanal

D'autres germes avaient été détectés de façon massive aussi bien dans les sachets de type artisanal (50,84%) qu'industriel (49,16%).

II-1-3 Contamination par type de sachet d'eau

Tableau XXIX : Répartition des échantillons en fonction de la contamination par type de sachet d'eau

Type de sachet	Contamination	Effectif n= 460	Pourcentages (%)
Semi- industriel N=230	Positive	78	16,96
	Négative	152	33,04
Artisanal N= 230	Positive	56	12,17
	Négative	174	37,83

16,96% des échantillons de type semi-industriel sont contaminés par les germes détectés contre 33,04% de contamination négative.

12,17% des échantillons de type artisanal sont également contaminés contre 37,83% de contamination négative.

II-1-4 Espèces d'*Enterococcus* par commune

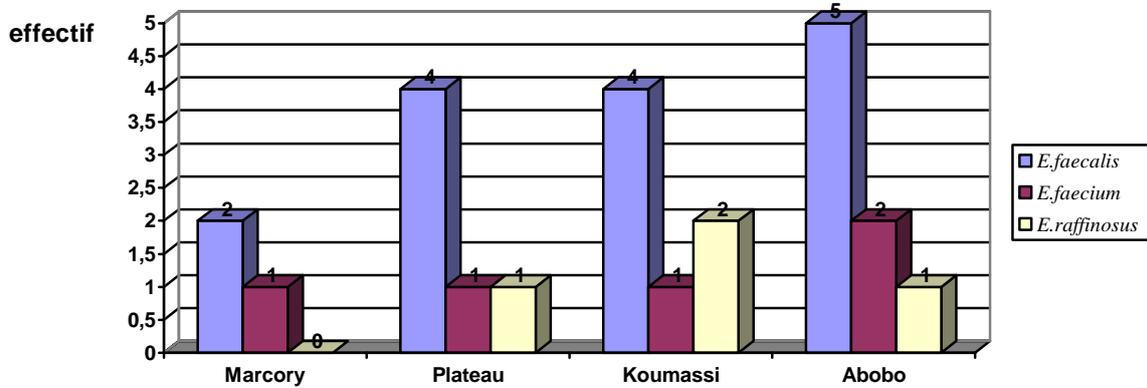


Figure 14: Répartition des échantillons contaminés par les *Enterococcus*, par commune en fonction des espèces d'entérocoques isolés.

E. faecalis a été détecté dans toutes les quatre communes et toujours en nombre important par rapport aux autres espèces.

E. faecium a été détecté dans toutes les communes mais en nombre moins important que *E. faecalis*

Aucun *E. raffinosus* n'a pas été détecté dans la commune de Marcory.

II-1-5 Germes d'origines fécales et communes d'étude

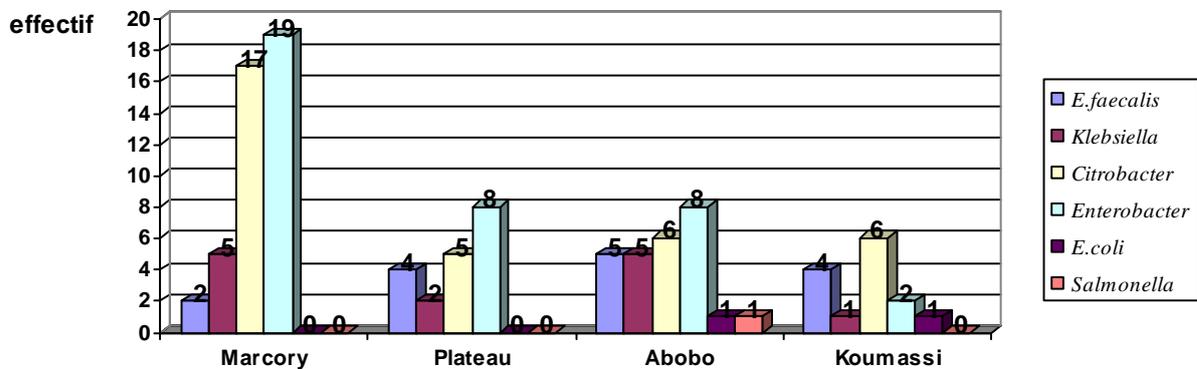


Figure 15: Répartition des germes d'origine fécale par commune

La commune d'Abobo présentait un polymorphisme de son écosystème bactérien avec au moins une représentation de chacun des germes d'origine fécale.

La commune de Marcory comptait en terme d'effectif le plus de cas de contamination.

II-1-6 Germes d'origine fécale et type de sachet d'eau

Tableau XXX : Répartition des échantillons en fonction de la présence de germes d'origine fécale par type de sachet d'eau.

Types	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	Total
Sachet industriel	00	00	09	15	14	7	45
Sachet artisanal	02	01	06	22	20	6	57

Les eaux en sachet de type artisanal renfermaient en plus de la diversité, plus germes d'origine fécale que les eaux en sachet de type semi industriel.

II-1-7 Contamination fécale et types de sachet d'eau

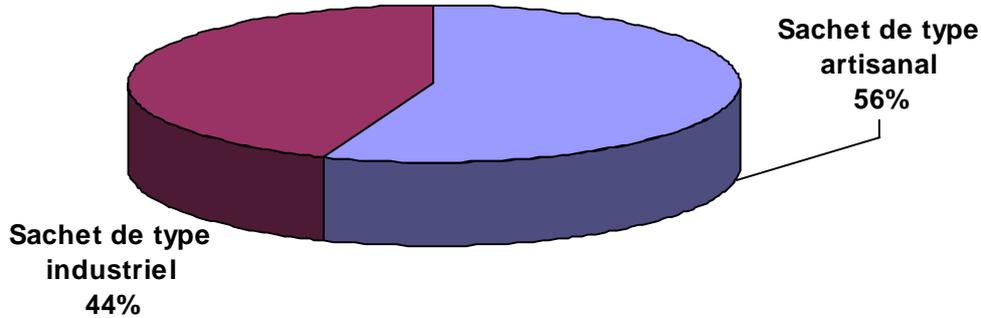


Figure16 : Représentation de la contamination fécale par type de sachet d'eau

Les sachets d'eau de type artisanal présentaient plus de cas de contamination fécale (56%) que les sachets d'eau de types industriel.

II-1-8 Contamination et mode d'ensachage des types de sachet d'eau

Tableau XXXI : Répartition des échantillons en fonction de la contamination et du mode d'ensachage

Type de sachet et mode d'ensachage		Contaminés		Non contaminés	
		Effectif	%	Effectif	%
Sachet semi industriel N= 230		78	33,91	152	66,09
Sachet artisanal	Direct N=85	13	15,30	72	84,70
	Indirect N=145	43	29,65	102	70,34

La contamination s'élève à 29,65% des sachets d'eau de type artisanal conditionnés selon le mode manuel indirect et 1 à 5,30 % des sachets d'eau du mode direct. Le mode de conditionnement des sachets de type semi- industriel reste inconnu avec 33,91 % d'échantillons contaminés.

II-1-9 pH et type de contamination

Tableau XXXII : Evolution de la contamination en fonction du pH.

Contamination pH	Mono contamination	Poly contamination
<6,5	Accentuée	Rare
[6,5-8,5]	Moyenne	Moyenne
>8,5	Rare	Accentuée

La poly contamination croissait avec le pH, contrairement à la mono contamination.

DISCUSSION

I- Méthodologie

Il s'agissait d'une étude transversale couvrant la période de janvier 2006 à Avril 2007, dont l'objectif principal était d'évaluer la qualité bactériologique des eaux de boisson vendues en sachet dans quatre des communes de la ville d'Abidjan. Nos échantillons étaient composés de 460 sachets d'eau, soit 230 de chaque type.

Les techniques microbiologiques utilisées étaient celles de l'enrichissement dans le bouillon spécifique et sélectif pour *Salmonella* avant culture et l'inondation direct des géloses spécifiques et sélectives pour *Escherichia coli* et les *Entérocooccus*. Thierry A. en 2002 avait procédé par un enrichissement préalable de tous les échantillons selon le germe recherché.

Les différents isolats ont été testés pour leur résistance à divers antibiotiques par la méthode de Chabert.

II- Caractéristiques épidémiologiques

Prévalence

D'Août 2006 à janvier 2007, 460 sachets d'eau ont été recensés parmi les eaux de boisson en sachet vendues aux abords des marchés des communes de Marcory, Koumassi, Abobo et Plateau.

Cent trente quatre (134) échantillons se sont révélés positifs à la contamination aux germes cibles. Ce qui correspond à une fréquence de 29,13% des échantillons totaux. Cette prévalence est relativement élevée par rapport à celles observées lors des études antérieures ; Aboli (2005) 8,8% [52][57].

Cette prévalence pourrait être sous estimée. Cependant 80% des maladies à la surface de la terre sont d'origine hydrique et l'eau de boisson est très souvent incriminée [40].

Lieu de prélèvement

Les différents prélèvements ont été effectués aux abords des marchés des communes tirées au sort dans le but d'effectuer un échantillonnage représentatif des différentes marques disponibles.

Les marchés constituent des zones de grandes affluences où coexistent plusieurs activités économiques et où le besoin de boire s'impose. Ce choix s'aligne avec les lieux de prélèvement d'études antérieures effectuées aux abords des écoles primaires (Kouadio *et al*, 1998) et dans d'autres zone de grandes affluences comme les arrêts de bus et les boutiques de quartier (Aboli, 2005) [27][57].

Sexe des vendeurs

Nos échantillons étaient composés de 137 sachets d'eau achetés avec des hommes soit 29,78% et de 323 sachets avec des femmes soit 70,22%.

Le sex-ratio était de 2,4 en faveur des femmes parce qu'elles constituent la majorité des opératrices dans les marchés. Cette prédominance du sexe féminin avait été retrouvée par d'autres auteurs ouest africains comme Kouadio *et al* en 1998 et Aboli en 2005 avec un sexe ratio de 2,3 en faveur des femmes [27][57].

Agés des vendeurs

Notre étude a montré que 61,96% des échantillons provenaient de vendeurs qui ont un âge compris entre 10 et 20 ans.

Nos résultats sont inclus dans ceux de Aboli (2005) qui avait observé une tranche d'âge supérieure à 10 ans avec 95%. Ce qui pourrait s'expliquer par le fait que la vente de l'eau en sachet revient de plus en plus aux domestiques généralement de jeune âge.

Implication des vendeurs

Les vendeurs des sachets d'eau de type semi industriel ignoraient tout de la chaîne de production. Leur rôle se résumait uniquement à la vente.

En ce qui concerne les eaux en sachet de type artisanal, les vendeurs étaient très souvent eux-mêmes les producteurs ou confiaient ce rôle à un ou des membres de leur famille.

Mesure d'hygiène

Cent quarante huit (148) échantillons provenaient de vendeurs qui affirmaient laver leurs mains et le matériel de conditionnement avec de l'eau et du savon avant l'opération d'ensachage soit 32,17% des échantillons totaux contre 17,83% qui provenaient de vendeurs affirmant se rincer les mains à l'eau simple car les jugeant suffisamment propres.

Les règles d'hygiène adoptées pour l'ensachage des échantillons de type semi industriel (50% des échantillons) restaient inconnues des vendeurs.

Nombre de personne utilisées pour l'ensachage

16,30% des échantillons provenaient de la classe des « producteurs-vendeurs » qui affirmaient limiter les participants à l'ensachage à deux personnes. Comme dans l'étude d'Aboli (2005), Peu d'informations étaient connues sur les sachets d'eau de type semi industriel. Le nombre important de participant à l'ensachage pouvait être considéré comme un risque de contamination des eaux dans la mesure où les germes peuvent être manuportés.

Utilisation du matériel de conditionnement

Cent quarante cinq (145) sachets d'eau de type artisanal provenaient de matériaux de conditionnement exclusivement réservés à l'ensachage soit environ 32% contre 18% de sachets d'eau conditionnés à partir de matériels servant aussi bien aux travaux ménagers que domestiques. Ces activités parallèles sont sans doute responsables de la contamination de l'eau.

Les informations ne sont pas précises concernant les sachets d'eau de type semi industriel.

Temps de stockage avant la vente

Cent trente huit (138) sachets d'eau de type artisanal soit 30% étaient des produits d'un jour. Trente huit (38) sachets d'eau (8,26%) étaient prélevés le jour même de la production et 54 sachets (11,74%) avaient deux jours au moment du prélèvement. Ces temps de stockage variables étaient dus à la saturation du marché ou la forte concurrence mais aussi aux variations du climat.

Un long temps de stockage avant vente peu être un facteur favorable à la prolifération de certains germe bien que le milieu ne soit pas vraiment riche, donc un facteur de risque.

Les informations concernant les sachets de type semi industriel ont été recueillies en fonction de la date d'approvisionnement des vendeurs et non de la date de production.

Il faut signaler que certains sachets d'eau de type semi industriel portaient une date de péremption mais pas de date de production.

Mode d'ensachage

Les modes d'ensachage des sachets de type artisanal sont connus. Ce sont le mode manuel direct et le mode manuel indirect. Ils correspondent respectivement à 18,5% et 31,5% des échantillons totaux. Ces résultats sont en conformité avec ceux des études antérieures.

Aboli (2005) avait observé 3,9% pour la méthode directe contre 41,1 % pour la méthode indirecte, tout comme Ekra NB(1993) trouva 73,3 % pour le mode indirect. Cependant, Kouadio LP *et al* (1998) trouvaient 27% pour la méthode indirecte à partir de bassine [27] [57].

Le mode d'ensachage pour les sachets de type semi industriel reste mal connu pour les vendeurs car ils leur étaient livrés en produits finis.

III-CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES.

Les paramètres organoleptiques n'ont pas de signification sanitaire mais leur dégradation peut indiquer une pollution ou un mauvais fonctionnement des installations de traitement ou de distribution. Ils permettent au consommateur de porter un jugement succinct sur la qualité de l'eau.

Couleur de l'eau

Les échantillons analysés étaient incolores, à hauteur de 91,30% des échantillons totaux. Cependant, 7,17% représentait des sachets d'eau de type artisanal présentant un ton (jaune-roux) contre 1,52% pour le type semi industriel. Ces échantillons étaient probablement rentrés en contact avec des substances

étrangères pour en altérer la coloration d'origine. Ils pouvaient aussi être des eaux de puits ou de sources n'ayant pas subi une décantation suffisante.

Aucun des différents types de sachet d'eau ne présentait une coloration entière de l'eau.

La surface de l'eau

Il n'y avait rien à signaler sur l'aspect de la surface de l'eau dans 91,74% des cas.

Vingt et un (21) sachets d'eau de type artisanal soit 4,57% présentaient une matière flottante à leur surface contre seulement six (6) échantillons donc 1,30% parmi les sachets de type semi industriel.

Cette matière pourrait provenir des restes de matières grasses d'autres activités incorporées dans les récipients qui entrent dans le processus d'ensachage. Certains échantillons laissaient voir la formation de mousse à leur surface après qu'on les ait renversés dans un récipient. Ce sont : neuf (9) sachets de types semi industriel donc 1,96% contre deux (2) sachets de type artisanal donc 0,43%.

L'opacité

Cent quatre vingt onze (191) sachets de type semi industriel soit 41,52% présentaient une parfaite transparence de même que 143 sachets de type artisanal soit 31,09%. Par contre, 87 sachets de type artisanal contenaient des particules en suspension tout comme 39 sachets de type industriel. Ces particules en suspension pourraient provenir pour la plus part des mains mal lavées des candidats à l'ensachage mais aussi des ustensiles de conditionnement. C'était en général des restes d'aliments ou des fibres textiles. Les particules en suspension étaient plus

importantes dans les échantillons de type artisanal car ceux-ci sont exposés tout le long de leur fabrication.

L'odeur

Sur les 460 sachets d'eau que constituaient nos échantillons, 100 sachets d'eau de type artisanal (21,74%), dégageaient une odeur de chlore tout comme 83 sachets d'eau de type industriel (18,04%). Cette odeur pourrait provenir de l'utilisation du chlore comme moyen de désinfection des eaux de boisson.

Il faut signaler que l'on a souvent constaté une odeur de terre dans les deux types de sachet d'eau, ce qui pourrait témoigner des origines divers de ces eaux comme les puits et les sources naturelles [8].

Cependant, Selon les informations recueillies, la plupart des eaux en sachet de type artisanal, provenaient du réseau de distribution national.

La saveur de l'eau

La majorité des échantillons était sans saveur. Ce sont cent quatre vingt quatorze (194) sachets de type industriel soit 42,17%, contre 173 sachets de type artisanal soit 37,61%.

Le goût rarement constaté après dégustation était un goût métallique dû soit aux récipients de recueil de l'eau avant ensachage, soit à la vétusté des conduits du réseau de distribution.

Le pH

Le seul paramètre physico chimique étudié dans cette étude est le pH, qui s'est révélé en conformité avec les normes de l'OMS pour la majorité des sachets d'eau, tant pour le type industriel que artisanal. Ainsi, 41,96 % des sachets de type

artisanal avaient un pH compris entre 6,5 et 8,5 contre 38,91 % des sachets de type industriel.

Le $\text{pH} < 7$ peut provoquer une corrosion des tuyauteries métalliques qui augmente inversement avec le pH.

IV- ANALYSE DES DONNEES BACTERIOLOGIQUES

Résultats de culture par type de sachet

Les sachets d'eau de type industriel présentaient 128 cultures positives soit 27,83% contre 102 cultures négatives soit 22,17%, tandis que les sachets d'eau de type artisanal révélaient 137 cultures positives soit 29,78% contre 93 négatives soit 20,22%.

Ces chiffres importants ont montré que ces eaux ne sont pas exemptes de microorganismes et qu'en dehors des germes cibles de l'étude, d'autres germes sont arrivés à s'infiltrer et à se développer dans ces eaux.

Ces deux types de sachet d'eau étaient de qualité bactériologique douteuse.

Germes isolés après culture

L'analyse microbiologique nous a permis d'identifier 265 souches de microorganismes, en générale des Coliformes, des *Pseudomonas* et des *Staphylococcus*.

Devant cet état des choses, il devient impératif de confirmer que ces eaux sont impropres à la consommation humaine, car dommageable pour la santé.

Ces germes sont pour la plupart des commensaux du tube digestif de l'Homme et des animaux (les coliformes fécaux) et sont considérés à juste titre comme des

indicateurs de contamination fécale mais aussi des commensaux de la peau et des muqueuses (*Staphylococcus sp* et *Pseudomonas spp.* qui selon l’OMS ne devraient exister dans 100ml d’eau de boisson [20,40,53].

Cet état des choses révèle le problème d’une hygiène environnementale et corporelle mais surtout celui des mains.

Ces germes ont prouvé l’existence d’un polymorphisme bactérien comprenant aussi bien des bactéries pathogènes que non pathogènes. Cet écosystème bactérien pourrait être le résultat d’une colonisation des eaux de boisson en sachets par les bactéries provenant des producteurs et aussi de l’environnement.

Germes d’origine fécale isolés par type de sachet d’eau

Les eaux en sachet de type artisanal renfermaient en plus de la diversité des germes, plus de germes d’origine fécale que les eaux en sachet de type semi industriel.

Cependant, en terme de comparaison, les sachets de type industriel étaient aussi impropres à la consommation que les sachets de type artisanal du fait de leur dénominateur commun qui était la présence de germes traduisant une contamination fécale, donc une mauvaise qualité bactériologique [14][19] [21]. Ces résultats peuvent être mis en relation avec le nombre de candidats à l’ensachage des sachets d’eau de type artisanal qui est un facteur important en terme de contamination car, plus il y a de candidats à l’ensachage plus le risque de contamination de l’eau par les mains est grand [57].

Contamination fécale par commune

La commune d'Abobo présentait un polymorphisme de son écosystème bactérien avec au moins une représentation de chacun des germes d'origine fécale isolés.

La commune de Marcory comptait en termes d'effectif le plus grand nombre d'isolat.

La commune du Plateau avait des échantillons poly contaminés par les coliformes. Ces résultats contredisent un peu ceux de l'étude de Aboli (2005) qui présentait les échantillons de la commune du Plateau comme ne présentant aucun des germes recherchés, ni d'autres microorganismes [57].

Espèces d'*Entérocooccus* isolés et communes de prélèvement

Sur les vingt quatre (24) souches d'entérocoques, quinze (15) sont des *E. faecalis*, cinq (5) des *E. faecium* et quatre (4) des *E. raffinosus*.

Entérocooccus faecalis et *E. faecium* sont les espèces les plus fréquemment mises en cause en pathologies humaines d'où l'importance du risque quand on sait que ces espèces ont été retrouvés à travers les différentes communes d'études.

pH et type de contamination

La poly contamination par des coliformes fécaux ou environnementaux se révélait avec les pH élevés, contrairement à la mono contamination. Le pH élevé entraîne une réduction de l'acide hypochloreux, favorisant ainsi la colonisation des eaux par les microorganismes (OMS 1984).

Sérotypage

Le sérotypage de la souche de *salmonella* a permis d'isolé l'espèce *Thyphimurium*. Cette information vient confirmer l'hypothèse de la contamination fécale car c'est une espèce généralement isolée des examens de coproculture.

Dénombrement

Le dénombrement de *E. coli* a révélé des valeurs peu significatives car le milieu d'origine, eau de boisson n'est pas très chargée et ne renferme pas les conditions pour un développement favorable de la bactérie.

Par ailleurs ces chiffres pourraient être discutés dans la mesure où le milieu EMB ne constitue pas un milieu de dénombrement.

Le dénombrement de *Enterococcus* a révélé des chiffres beaucoup plus significatifs par rapport à *E. coli* car il est plus résistant que *E. coli* dans le milieu extérieur. Aussi la gélose BEA constitue un milieu de dénombrement [19].

Aucun dénombrement n'a été effectué dans le cas de *Salmonella* car les échantillons destinés à sa recherche ont subi des étapes de pré enrichissement et d'enrichissement, ce qui ne permet pas un décompte des colonies.

Antibiogrammes

Escherichia coli

E. coli n°27 Abo testé pour sa résistance à divers antibiotiques a révélé un phénotype sauvage aux aminoglycosides, une résistance croisée à toutes les quinolones, une résistance aux β -lactamines, aux β -lactamine + IBL et une pénicillinase de haut niveau [24].

Les souches environnementales présentent en général, un phénotype sauvage.

L'association de résistance des EBLSE aux quinolones pourrait être liée à l'activation de systèmes d'efflux ou à des mutations de la gyrase, selon les travaux de Paterson en 2000 et plus récemment, au transfert plasmidique, selon les travaux Nordmann en 2005 [37] [48].

Le *E.coli* n° 27 pourrait être une souche hospitalière renvoyée dans l'environnement. C'est à dire une souche qui est déjà rentrée en contact avec ces familles d'antibiotique avant de se retrouver dans l'environnement ou une souche qui a subi des mutations à cause des conditions défavorables de l'eau d'où il a été isolé.

Cette résistance aux fluoroquinilones pose aussi le problème de l'éradication des EBLSE qui nécessite souvent une association β -lactamine-Ciprofloxacine.

E.coli n°3 Koum testé pour sa sensibilité à divers antibiotiques révèle un phénotype sauvage aux aminoglycosides, un phénotype sauvage aux quinolones et une pénicillinase de bas niveau [24]. Cette souche de phénotype sauvage reste facilement éradicable en cas d'infection.

Les études précédentes sur l'eau de boisson en Cote d'Ivoire n'ont pas fait état des antibiogrammes des souches isolés car elles sont en générale considérées comme sauvages, parce que d'origine environnementales

Salmonella Typhimurium

Salmonella Typhimurium testé pour sa résistance à divers antibiotiques a révélé un phénotype sauvage aux quinolones et une pénicillinase de bas niveau[24].

La présence de *Salmonella Typhimurium* dans ces eaux en sachet témoigne de contamination fécale, ce qui constitue un véritable problème de santé publique

dans la mesure où l'on sait que les populations y sont exposées. Fort heureusement cette souche était sauvage et donc un traitement efficace pouvait être administré en cas d'infection.

E. faecalis* et *E. faecium

Entérocooccus faecalis et *Enterococcus faecium* testés à la vancomycine de la famille des glycopeptides ont révélé une sensibilité à cet antibiotique. Ils ont présenté un phénotype sauvage ne constituant pas ainsi des *Enterococcus* résistants à la vancomycine (ERV).

On parle de résistance à la vancomycine chez les *Enterococcus*, lorsque ces derniers peuvent croître en présence d'une concentration de vancomycine d'au moins 32mg/l. Ces *Enterococcus* portent des gènes de résistance à la vancomycine; vanA, vanB, vanD. [24]

La vancomycine est utilisée depuis 1957 et malgré son usage en dernier recours, elle n'est pas pour autant à l'abri du développement de résistance. Les ERV sont des *Entérocooccus* chez lesquels la structure D-ala-D-ala des précurseurs du peptidoglycane est remplacée par une structure D-ala-D-Lactate, qui ne permet pas la liaison de la vancomycine.

Très peu de traitements de dernière ligne sont disponibles contre ces bactéries [24][25][60].

Les ERV ont été signalés pour la première fois en Europe en 1988, et d'autres cas ont été recensés par la suite aux Etats-Unis. En effet dans les années 90, les ERV se sont largement propagés aux Etats-Unis et semblent avoir été observés dans la plus part des provinces au Canada, en Europe, en Amérique du nord et plus récemment en Afrique du sud [3, 4,13,15,28,38].

Conclusion

Les eaux de boisson en sachet vendues sur les marchés des communes et généralement prisées des populations, sont porteurs de germes suite au manu portage à travers les mains sales ou mal lavées et aussi par voie aéroportée du fait de notre environnement.

Notre étude a permis de mettre en évidence l'existence de germes aussi bien pathogènes que non pathogènes et aussi bien indicateur de contamination fécale qu'environnementale.

Elle a aussi permis d'apprécier les comportements des vendeurs mais surtout de certains producteurs à travers l'utilisation concomitante des ustensiles d'ensachage pour les travaux ménagés mais aussi le nombre variable des participants au processus de conditionnement.

La recherche des contaminants s'est révélée positive avec une fréquence de 29,13% et plus de la moitié des échantillons analysés a présenté une culture positive, soit aux germes cibles de l'étude, soit à d'autres germes normalement absents dans les eaux de boisson.

La commune d'Abobo s'est révélée être la commune abritant une pluralité de germes synonyme de contamination fécale. La commune de Marcory a présenté des échantillons poly contaminés qui ont permis d'obtenir un nombre important d'isolats.

Au regard de ces résultats, ces eaux en sachets sont donc impropres à la consommation humaine et il est nécessaire de mettre en garde les consommateurs des risques sanitaire encourus.

Cependant, ces sachets d'eau répondent non seulement à un besoin vital pour les consommateurs, mais constituent une source de revenus pour les producteurs et les vendeurs. Leur interdiction sans mesures de remplacements adéquats n'est pas envisageable. Par contre, l'éducation des producteurs et le suivi de leurs

activités par des services d'hygiène communaux peuvent limiter les risques sanitaires.

Ce travail peut être considéré comme une orientation qui pourrait ouvrir la voie à d'autres études futures axées sur :

- Les conditions d'hygiène de travail des producteurs d'eau de boisson en sachet
- une étude microbiologique comparative liée aux aliments conditionnés en sachet autres que l'eau disponibles sur les marchés
- Une étude microbiologique au niveau des sachets utilisés pour le conditionnement de l'eau et autres boissons
- La recherche de germes spécifiques dans l'eau de boisson tels que les BK (Bacille de Koch) et les vibrions etc.
- Le dénombrement des bactéries dans les boissons conditionnées en sachets par Cytométrie de flux.

RECOMMANDATIONS

Au terme de notre étude sur la qualité bactériologique de l'eau de boisson en sachet, il nous paraît important de recommander :

Aux instances des décisions de :

- ❖ Renforcer les mesures de lutte contre l'insalubrité publique
- ❖ Réglementer le secteur de production et de conditionnement des eaux potables en sachet
- ❖ Garantir la salubrité de l'eau de boisson en sachet en assurant la formation du personnel et des chefs d'unités de fabrication sur l'assurance qualité
- ❖ La réduction des coûts des examens de contrôle qualité en les adaptant au niveau socio-économique des producteurs
- ❖ Elaborer des recommandations et des directives à l'endroit des « producteurs-fournisseurs » d'eau en sachet, afin d'éliminer ou de réduire à un niveau acceptable, les paramètres microbiologiques pour garantir la protection de la santé humaine
- ❖ Veiller au respect strict et effectif des différentes consignes de sécurité et d'hygiène mises en place dans les unités de production
- ❖ Créer une commission scientifique chargée de réfléchir et de proposer des solutions dans une perspective d'attaque bioterroriste à partir des eaux de boisson en sachet
- ❖ La création d'une police sanitaire pour multiplier les opérations de saisies et de destruction des sachets d'eau non réglementaires.
- ❖ Mettre en place un cadre juridique si tel n'est pas le cas, adapté et précis en matière de protection des populations de consommateurs vis-à-vis du

risque lié à la consommation des eaux de boisson en sachet non réglementaires

- ❖ Mettre en place une cellule de communication dans le but de constamment tenir informées les populations de consommateurs sur les risques encourus et sur les programmes de prévention des risques
- ❖ Intensifier les campagnes de sensibilisation à l'intention des consommateurs des eaux de boisson en sachet, mettant l'accent sur la sécurité et surtout le risque sanitaire dorénavant avéré.

Aux producteurs-fournisseurs et vendeurs

- ❖ Considérer l'eau de boisson en sachet comme potentiellement pathogène et respecter scrupuleusement les règles élémentaires d'hygiène liées à sa production
- ❖ S'investir dans les actions de prévention des risques liés à l'eau de boisson
- ❖ Adopter les règles d'hygiène allant à réduire voire supprimer, le risque sanitaire liés à la consommation de leurs produits
- ❖ Faire contrôler les productions industrielles par les services d'hygiène communaux
- ❖ Se servir des recommandations qui constituent une partie importante de l'approche à barrière multiple adoptée pour protéger l'eau de boisson
- ❖ Garantir la production d'eau de boisson en sachet potable, propre, salubre et fiable pour la consommation humaine

Aux consommateurs

- ❖ Rester vigilants et exigeants face aux eaux de boisson en sachet sur les marchés
- ❖ Prendre conscience de l'existence du risque et ne pas les minimiser
- ❖ Améliorer notre cadre et environnement de vie.

A l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

- ❖ Poursuivre les études de recherche microbiologique afin de mieux cerner les risques encourus.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **American Public Health Association and water pollution control federation**, standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edition 1998
2. **Bactériologie médicale**-- sous la direction de Jean Pierre Flandrois- Collection Azay, p 73-100, 1988.
3. **Berntson A, Fleming CA, Willey BM et al.** Laboratory Proficiency Testing program of Ontario Newsletter #221, February 10th, 1998
4. **Bonten MJM, Williems R, Weinstein RA.** Vancomycin-resistant enterococci: Why are they here, where do they come from? The Lancet Infectious Diseases Dec 2001; **Vol 1**: 314-325.
5. **Boucaud- Maître Y., Thioinet S., Furhman C., Coronel B., Freney J.** Evaluation des performances et de la particularité de l'automate de cytobactériologie symex UF-100 pour la prédiction de l'infection urinaire. Abstract de la 21^{em} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie Anti-Infectieuse, 289/P₂ Paris, 6-7 décembre 2001.
6. **Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J.** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. 2ed, tome1, Paris : Lavoisier, 1990 :422p.
7. **Bourre P. et al** Cycle parasitaire première édition. Paris : Dopamine, 1996,40p.
8. **Claon J.** Consommation d'eau de puits dans les quartiers et communes de la ville d' Abidjan, desservies par le réseau de distribution d'eau potable 147p Thèse de pharmacie. Abidjan, 1998.
9. **Clark, J. A., et El-Sharrawi, A.H.** (1993). Evaluation of commercial presence-absence test kits for detection of total coliform, Escherichia coli and other indicator bacteria. Appli. Environ.microbiol., 59(2): 380-388
10. **Colloque international.** Session de perfectionnement de distribution de produits alimentaires à Abidjan 2-15 fev 1986. Limoge : Fondation de l'eau 1986, P. 58-61

11. **Côte d'Ivoire** : ministère de l'industrie et du plan. Résultats provisoires du recensement général de la population et de l'habitat. 1988 Abidjan : Direction des statistiques, 1991.
12. **Dacosta Y.** Effet comparé des différents modes de conditionnement sur la croissance des bactéries pathogènes responsables des intoxications alimentaires. Paris : Yves Dacosta, 1995 :142p
13. **Dutka-Malen S, Molinas C, Arthur M, Courvallin P.** The VANA glycopeptide resistance genes related to D-alanyl-D-alanine ligase cell wall biosynthesis enzymes. *Mol Gen Genet* 1992; **224**: 364-372.
14. **Fondation de l'eau.** Eau-Fondation-Developpement, compte rendu, conclusion, recommandations.
15. **Fortin A, Milord F, Guay M, D'Halewyn MA, Vigeant P, Leblanc.** 1998. Première éclosion connue de colonisation par des entérocoques résistants à la vancomycine dans un centre hospitalier du Québec. *RMTC*. 24-11: 85-93.
16. **Forward KR, Kennedy JK, Degagne PA, Bartlett KR, Harding GKM.** The rapid emergence of high-level gentamycin resistance in enterococci. *Can J Infect Dis* 1990; **9**: 81-100?
17. **Freney J. Renaud F. Hansen W.,** Manuel de bactériologie clinique, 2eme edition- volume 1. Editions Elsevier- P 413-464.
18. **Freney J. Renaud F. Hansen W. Bollet C.,** Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA Fevrier 2003, chapitre 2; P 1-11.
19. **Geldreich E. et al** Concept of faecal streptococci instream pollution Jormal of the water pollution control federation. 1969, 41; 33.
20. **Gelinasp.** Répertoire des micro-organismes pathogènes transmit par les aliments. Saint Hyacinthe : Edisem, 1995 :211p
21. **Graun, G.F, Berger, PS., et Calderon, R. L. .** (1997), Coliform bacteria and waterborn disease out breaks. *J. Am. Water work Assoc.*, 89(3): 96-104
22. **Hamon J. L.** Nouvelles normes européennes relatives aux eaux alimentaires potables. *T.S.M L'eau*, 1982,77 (6) : 301-310

23. **Henri Leclerc.** Microbiologic agents associated with waterbornes diseases- Critical review in microbiology-2002-audition de M.P.Baudeau, Institut de veille sanitaire P 5-21.
24. **Jehlf, Chomarar M, Gerard A.** De l'antibiogramme à la prescription. Deuxième édition -Mars 2003, revision Fevrier 2004, P 8-37.
25. **J.Tankovic, [Antibacterial antibiotics** General data on mode of action and mechanisms of resistance]. Rev Prat. 200.; 50(4); 425-32
26. **Kool H** Treatment Processes applied in public water for the removae of micro organisms In: Proceeding of symposium on biological indicators of water quality. Vol.2
27. **Kouadio L et al** Etude de la potabilité des eaux de boisson vendues aux abords des écoles primaires publiques d'Abidjan. 2p. Courtes notes N° 1766- « Santé Publique » Janvier 1998.
28. **Laboratory Proficiency Testing program of Ontario Newsletter #164,** October 17th, 1995.
29. **Lavoie, M.** Proposition de normes pour la qualité de l'eau en république de côte d'Ivoire 97p. Thèse Ph.D.Gedegie : Montreal 1979.
30. **Leclerc H.et al** Micobiologie des eaux d'alimentation Paris : Techniques et documentation. Lavoisier, 1993. p 65-122
31. **Leclerc R.** Faut il identifier les Entérocoques et comment ? La lettre de l'infectiologue, XVI (7) sept.2001 :217-221
32. **Livre bleu** de Belgaqua (1998), 1ere édition, premier prix mondial de Berlin octobre 2001 P 27-48.
33. **Madigan, M. T., Martinko, J.M. Brock** Biology of Microorganism 11th ed. Pearson Prentice hall, Upper Saddle River, NJ, 2005.
34. **Miquel (Gérard), (Henri).** Rapport 215, tome 1, (2002-2003)- Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologique.

- 35. Momoec n 27** (2004). La microbiologie de l'eau destine a la consommation humaine.p 1-2.
- 36. Mossel D.A.A., Corry J.E.L., Struijk.C.B., Baird M.M.** Essential of the microbiology of foods. A textbook for advanced studies. Chichester John Wiley and sons Ltd., 1993: 699p.
- 37. Nordmann P, Poirel L.** Emergence of plasmide mediated resistance to Quinolones in Enterobacteriaceae. J Antimicrob chemother 2005; 56:463-9.
- 38. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin – United States 1989-1993.** Morb Mortal Wkly Rep 1993 Aug 6; **42**(30): 597-9.
- 39. OMS (1)** Directives de qualité pour l'eau de boisson : critères d'hygiène et documentation à l'appui ; volume 2, Genève : OMS, 1986,102-106.
- 40. OMS (10)** L'OMS publie des directives révisées pour l'eau de boisson afin de prévenir les flambées de maladies hydriques. Centre des medias, communique de presse 2004, Marrakech/Genève, 21 septembre 2004 ; annexe 4.
- 41. OMS (2)** Directives de qualité pour l'eau de boisson : Contrôle de qualité de l'eau de boisson destinée à l'approvisionnement des petites collectivités.Genève, OMS, 1986, vol.3, p121.
- 42.OMS (3)** Directives de qualité de l'eau de boisson deuxième édition, voll. Recommandation Genève. OMS. 1994, p 8-30
- 43. OMS (5)** Directives de qualité pour l'eau de boisson : Contrôle de qualité pour l'eau de boisson. Recommandations vol. 1Genève OMS. 1985, p. 87-192
- 44. OMS (9)** Eau assainissement et santé (WSH). Directives de qualité pour l'eau de boisson, troisième édition, volume 1-Recommandations.2004.
- 45. OMS (6) Genève Normes** internationales pour l'eau de boisson Genève, OMS, 1972. P. 74
- 46. OMS (7) Genève** Surveillance de la qualité de l'eau de boisson Genève, OMS, 1977, 143

- 47. Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM., Kowc, Goosseins H, Vongottberg A *et al*** Epidemiologie of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum bêtalactamase production in Klebsiella pneumonia isolates causing bactenemia. Clin Infect Dis 2000; 30:473-8
- 48. Perry J., Staley., Lory S.** Microbiologie. Edition Dunod, 2004. Prescott, L. M., Harley, J.P. Klein, D.A., Microbiologie 2eme edition DeBoeck eds, 2003.
- 49. PNUD 1990 :** Programme des Nations Unies pour le Développement « Déclaration de New Delhi » In consultation mondial sur l'eau potable et l'assainissement pour les années 1990. New Delhi (inde). PNUD 1990.P.8
- 50. Reitler R. et al** Pseudomonas aeruginosa in drinking water. Journal of applied Bacteriology. 1957, 20:145-150
- 51. S. Aka Akely** Aspects microbiologiques qualitatifs et quantitatifs d'une eau minérale naturelle africaine : le cas de l'eau minérale AWA. 115p. Thèse de pharmacie. Abidjan 1994.
- 52. Samaké awa** Analyse physico-chimique et bactériologique au Laboratoire Nationale de Santé des eaux de consommation de la ville de Bamako (Mali) de 2000 à 2001. Thèse de pharmacie. 2002.
- 53. Singleton P.** Bactériologie : pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. Cours, 6 eme édition, Dunod 2005.
- 54. Spera RV Jr., Farber BF.** Multiply resistant *Enterococcus faecium*. The nosocomial pathogen of the 1990s. JAMA 1992; **268**(18): 2563-4.
- 55. People and the planet UN World Water Developpement Report 2003. Site internet**
- 56. Site internet:** [http://www. Bacterio.cict.fr/bacdico/atbq.Sensibilite.html](http://www.Bacterio.cict.fr/bacdico/atbq.Sensibilite.html). (Avril 2001).
- 57. Thierry Amoin A.** Evaluation du risque sanitaire des eaux en sachet vendues dans la ville d'Abidjan. 114p. Thèse de Pharmacie. Bamako, janvier 2005.
- 58. Théodore Kouadio.** Vente d'eau dans les emballages plastiques : les entreprises prospèrent, quotidien Frat-Mat. Fevrier 2006, Abidjan (RCI)

59. www.lenntech.com ; Maladies hydriques- Lenntech.htm

60. Y.Domart.Glycopeptides.Encyclo Med,chir (Elsevier, Paris), Encyclopédie pratique de médecine, 5-0060, 1998, 2p.

RESUME

L'eau est la boisson de base de l'être humain, et l'eau de boisson conditionnée en sachet est très prisée des populations du fait de son coût relativement abordable et de sa disponibilité.

La présente étude avait pour objectif, d'évaluer la qualité sanitaire de ces eaux proposées aux abords des marchés des communes de Marcory, Koumassi Abobo et Plateau. Il s'agissait d'une étude transversale couvrant Janvier 2006 à Avril 2007 réalisé dans le laboratoire de bactériologie clinique de Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Notre effectif était de 460 sachets d'eau.

La commune d'Abobo s'est révélée être la commune abritant une pluralité de germes et la commune de Marcory celle ayant l'effectif le plus important des isolats.

L'antibiogramme des différents isolats testés pour leurs résistances aux antibiotiques a révélé, des phénotypes de résistance et des mécanismes de résistances associés pour les souches *de E. coli* et un mécanisme de résistance pour *Salmonella typhimurium*.

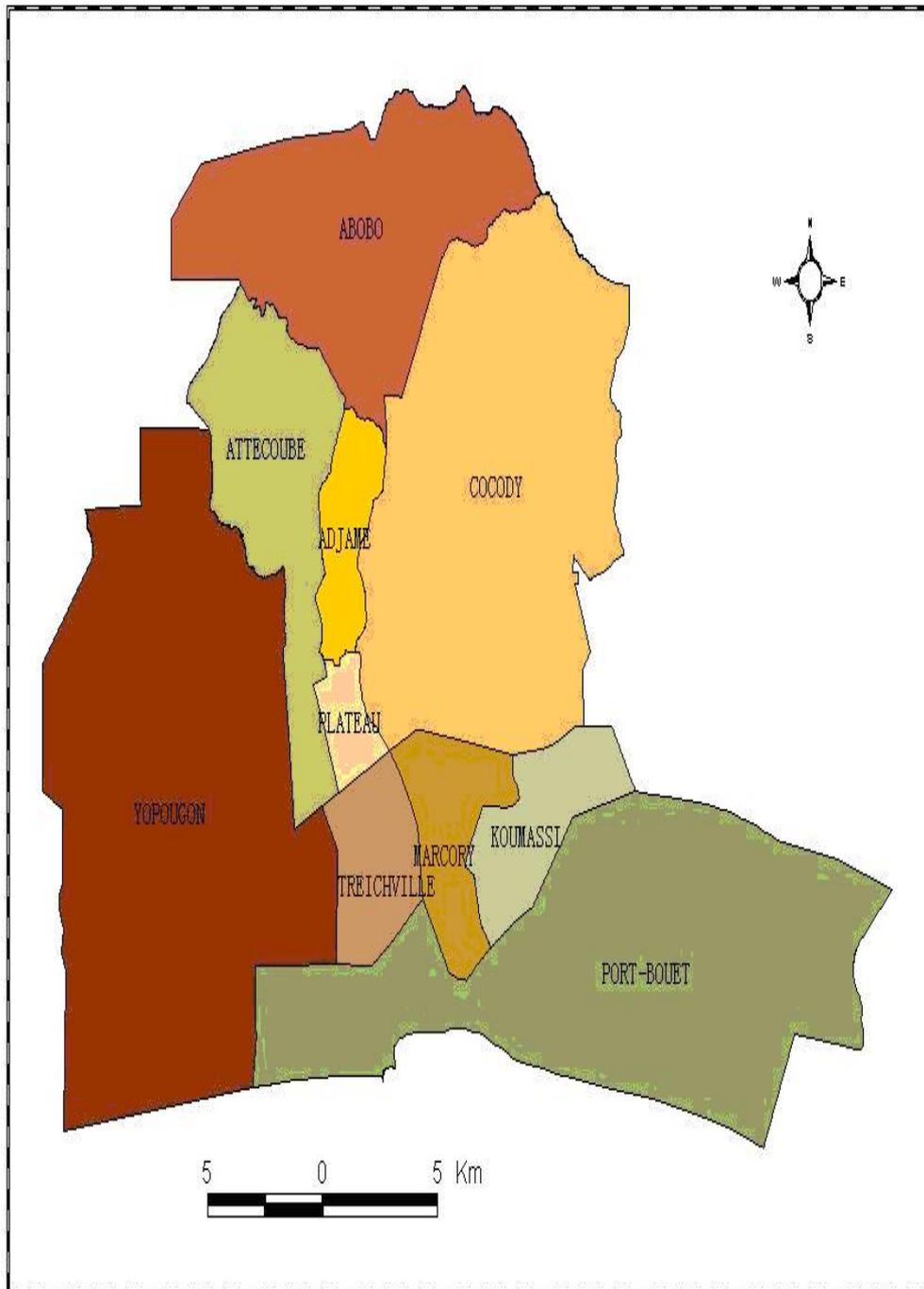
Les souches d'*Enterococcus* étaient toutes sensibles à la vancomycine.

Les résultats ont révélé globalement une mauvaise qualité microbiologique. Cet état des choses expose les consommateurs à des risques sanitaires, et il convient d'informer ces derniers des risques encourus, d'éduquer les producteurs et de contrôler leurs activités par les services d'hygiène communaux.

Mots clés : eau en sachet, type artisanal, type semi industriel, consommateurs, qualité bactériologique, Abidjan, Cote d'Ivoire.

ANNEXE

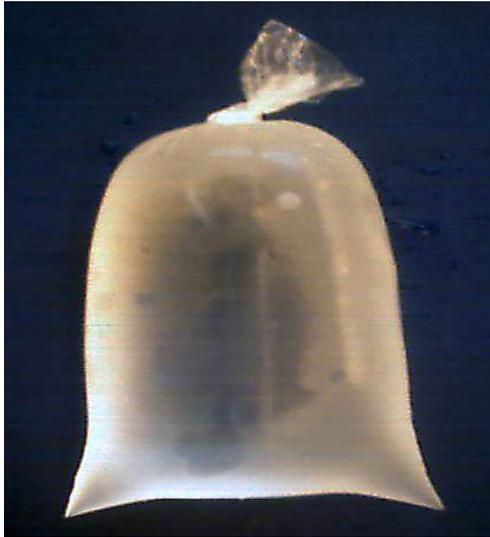
LES COMMUNES D'ABIDJAN



Source : Carte CCT

Edition : Oct. 2004

Figure17 : la carte d'Abidjan



1) Eau en sachet de type artisanal



2) un pH mètre



3) Eau en sachet de type semi industriel



4) une hotte à flux laminaire



5) *Bouillon Rappaport vassiliadis*
Avnt utilisation



6) *Bouillon Rappaort assiliadis*
après utilisation



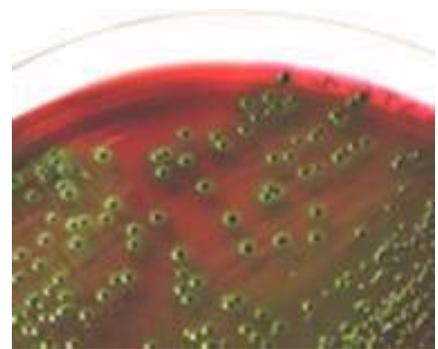
7) *Géllose SS avant utilisation*



8) *Géllose SS après utilisation*



9) *Gélose EMB avant utilisation*



10) *Gélose EMB après utilisation*



11) *Gélose BEA avant utilisation*



12) *Gélose BEA après utilisation*

**ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES EAUX DE BOISSONS VENDUES EN
SACHET DANS QUATRE DES COMMUNES D'ABIDJAN**

FICHE D'ENQUETE

Fiche n°:

Date et heure :

Commune :

I- Identification du vendeur

Nom :

Prénom :

Age :

Sexe :

Rôle : Uniquement vendeur

Vendeur et fabricant

II- Comportement dans l'exercice de la profession

1) Nettoyage des mains

Mains lavées au savon

Mains lavées à l'eau simple

Mains supposées propres

2) Protocole d'ensachage

Directement du robinet au sachets

Robinet-Bassine- Sachets

Puits-Bassine-Sachet

3) Nettoyage des ustensiles

Lavés à l'eau et au savon

Lavés à l'eau simple

Ustensiles déjà propres

4) Ustensiles réservés à

- L'ensachage uniquement
Ensachage + travaux ménagés
Autres

5) Ouverture des sachets pour conditionnement

- Uniquement à la main
Mains et soufflet buccal

6) Candidats à l'ensachage

- 1 personne
2 personnes
3 personnes
Plus de 3 personnes

7) Activités parallèle à l'ensachage

- OUI : exp.....
NON :

8) Temps et lieu de stockage avant vente

- | | |
|--|--|
| Moins d'un jour <input type="checkbox"/> | |
| 1 jour <input type="checkbox"/> | Dans une glacière <input type="checkbox"/> |
| 2 jours <input type="checkbox"/> | Dans un seau <input type="checkbox"/> |
| 3 jours <input type="checkbox"/> | Dans une bassine <input type="checkbox"/> |
| Plus de 3 jours <input type="checkbox"/> | Au réfrigérateur <input type="checkbox"/> |

Conservation en association avec d'autres produits OUI NON

9) Commune de production et commune de vente

- Même commune
Communes différentes

FICHE D'ANALYSE DU SACHET D'EAU

Identification

Type de sachet :

Lieu de provenance :

Lieu de conservation avant vente :

Température de l'eau : $\leq 4^{\circ}\text{C}$ $\geq 4^{\circ}\text{C}$

Examen macroscopique

Sachet d'eau : Trouble Limpide

Aspect du bouillon après 24h :

Présence de sédiments Oui Non

Culture sur milieu de culture spécifique

Présence de colonies après incubation

Absence de colonies après incubation

Examen microscopique après 24-48h

Etat frais

Présence de bactéries vivantes Oui Non

Présence d'autres éléments Oui Non

Mobilité : Péritriche Polaire Immobile

Coloration de Gram

Présence de :

A- Bacille Gram Positif C- Bacille Gram négatif

B- Cocci Gram Positif D- Bacille Gram Positif

Identification, dénombrement et sérotypage des colonies suspectes

1-.....

2-.....

3-.....

Antibiogramm

COMPOSITION ET PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE

BEA (gélose Bile Esculine Azide)

Composition :

Peptone	17,0 g	
Peptone pepsique de viande	3,0 g	
Extrait de levure	5,0 g	
Esculine	1,0 g	
Citrate de sodium	1,0 g	
Citrate de fer ammoniacal	0,5 g	
Bile de boeuf déshydratée	10,0 g	
Azide de sodium	0,25 g	
Chlorure de sodium	5,0 g	
Agar	13,0 g	
pH =	7,1	

Préparation : 45 g par litre d'eau distillée stérile. Autoclavage classique

Citrate de Simmons

Composition :

citrate de sodium	1,0 g	
bleu de bromothymol	0,08 g	
chlorure de sodium	5,0 g	
sulfate de magnésium	0,2 g	
hydrogénophosphate de potassium	1,0 g	
dihydrogénophosphate d'ammonium	1,0 g	
agar	15,0 g	
pH =	7,1	

Préparation : 23 g par litre d'eau distillée stérile. Stérilisation classique.

Conditionnement en tubes inclinés

EMB (gélose) (milieu de Lévine)

Composition :

peptone 10,0 g
lactose 10,0 g
éosine 0,4 g
bleu de méthylène 0,065 g
hydrogénophosphate de potassium 2,0 g
agar 15,0 g
pH = 6,8

Préparation :

37,5 g par litre d'eau distillée stérile. Stérilisation classique.

Lactose-Glucose-H₂S (Kligler-Hajna)

Composition :

peptone 15,0 g
extrait de viande 3,0 g
extrait de levure 3,0 g
peptone pepsique de viande 5,0 g
glucose 1,0 g
lactose 10,0 g
rouge de phénol 0,024 g
chlorure de sodium 5,0 g
sulfate de fer II (Pasteur) 0,2 g
thiosulfate de sodium 0,3 g
agar 11,0 g
pH = 7,5

Préparation :

53,5 g par litre d'eau distillée stérile. Stérilisation classique.

Lysine de Fer

Composition :

peptone de gélatine 5,0 g
extrait de levure 3,0 g
L-lysine 10,0 g
glucose 1,0 g
citrate de fer III ammoniacal 0,5 g
Bromocrésol pourpre 20,0 mg
thiosulfate de sodium 40,0 mg
agar 13,5 g
pH = 6,7

Préparation : 34 g par litre d'eau distillée stérile. Autoclavage classique.
Conditionnement en tube inclinés comme le milieu de Kligler Hajna.

Mueller-Hinton (Gélose)

Composition :

infusion de viande de boeuf 300,0 ml
peptone de caséine 17,5 g
amidon de maïs 1,5 g
agar 17,0 g
pH = 7,4

Préparation : 38 g par litre d'eau distillée stérile. Stérilisation à l'autoclave

Rappaport Vassiliadis (bouillon)

Composition :

peptone de soja 4,5 g
vert malachite 36 mg
chlorure de sodium 7,2 g
dihydrogénophosphate de potassium 1,5 g
chlorure de magnésium hexahydraté 37,3 g
pH = 5,2

Préparation :

51 g par litre d'eau distillée stérile. Autoclavage classique.

Salmonella-Shigella (Gélose SS)

Composition :

peptone	5,0 g	
extrait de viande		5,0 g
lactose	10,0 g	
citrate de sodium		10,0 g
citrate de fer III	1,0 g	
sels biliaires	8,5 g	
vert brillant	3,3 mg	
rouge neutre	25 mg	
thiosulfate de sodium	8,5 g	
agar	12,0 g	
pH =	7,3	

Préparation :

63 g de poudre dissous par ébullition. Se reporter à la notice en raison de variations de la composition. (Formule moins inhibitrice des Shigella à 5,5 g de sels biliaires par exemple)NE PAS AUTOCLAVER

Urée-tryptophane (Urée Indole)

Composition :

urée	2,0 g	
L-tryptophane	0,3 g	
éthanol à 0,95	1 ml	
rouge de phénol	2,5 mg	
chlorure de sodium	0,5 g	
dihydrogénophosphate de potassium		0,1 g
hydrogénophosphate de potassium		0,1 g
pH =	7	

Préparation :

à stériliser par filtration.(utiliser de l'eau stérile pour limiter la contamination initiale)

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur engagement.
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de probité et du désintéressement.
- De ne pas oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser ma connaissance et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
- Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.