



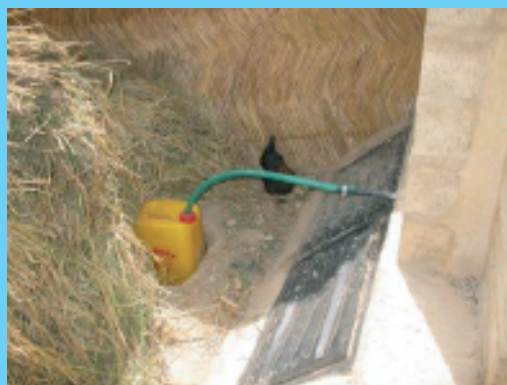
Centre Régional pour  
l'Eau Potable et  
l'Assainissement à faible coût

03 BP 7112 Ouagadougou 03  
Burkina Faso  
Tél : +226 50 36 62 10/11  
Télécopie : +226 50 36 62 08

Courriel : crepa@fasonet.bf  
reseaucrepa@reseaucrepa.org

Site Internet :  
www.reseaucrepa.org

## 3- Volet Hygiène/Santé



Connaître et prévenir  
les risques sanitaires

- Assainissement écologique “ECOSAN”
- Micro-organismes et organismes responsables des risques sanitaires
- Précautions hygiéniques par les usagers et les manipulateurs des produits.

**ECOSAN**  
Assainissement écologique  
**BOITE A OUTILS**

## Remerciements

*L'ensemble du Réseau CREPA remercie le gouvernement suédois à travers l'Agence suédoise pour le développement international (Asdi) pour son soutien financier, ainsi que tous les partenaires scientifiques et techniques pour leur appui au programme régional ECOSAN.*

*Nous remercions également tous ceux qui sont associés à ce programme et qui y ont contribué d'une manière ou d'une autre.*

*La direction des travaux a été assurée par la coordination du CREPA-Siège.*

*Les études ont été conduites par des chercheurs nationaux qui ont effectué la collecte et l'analyse des données dans leurs pays. Les propos, interprétations et conclusions qui sont présentés dans ce manuel sont les résultats des travaux de recherche et de synthèse rédigés par le Réseau CREPA.*

### **AVERTISSEMENT**

**Les opinions exprimés dans cet ouvrage collectif réalisé par le Réseau CREPA sous la coordination du CREPA-Siège ne sauraient représenter les opinions ou la politique officielle des agences de financement du CREPA.**

**Toutefois, le CREPA reste ouvert à toutes suggestions ou critiques visant à l'amélioration de ce document qui en est à sa toute première version.**

**Directeur de publication : Ing. Msc. Cheick Tidiane TANDIA, Directeur général du CREPA**

© CREPA Octobre 2006

## SOMMAIRE

CONTEXTE.....	6
<b>1- NOTIONS GENERALES.....</b>	<b>9</b>
1.1. Assainissement écologique « ECOSAN ».....	9
1.2. Risques sanitaires.....	9
1.3. Ouvrages sanitaires.....	9
1.4. Bases d'un système d'assainissement écologique.....	9
1.5. Personnels exposés aux risques sanitaires.....	9
<b>2- PARTIE THEORIQUE.....</b>	<b>11</b>
2.1. Panorama des sciences microbiologiques qui étudient les agents pathogènes responsables des risques sanitaires .....	11
2.1.1 <i>La microbiologie</i> .....	11
2.1.2 <i>La parasitologie</i> .....	12
2.1.3. <i>La mycologie</i> .....	12
2.1.4 <i>La virologie</i> .....	12
2.2. Techniques et méthodes d'étude des micro-organismes et des organismes responsables des risques sanitaires. ....	13
2.2.1 Techniques bactériologiques : méthodes générales d'étude des bactéries .....	13
2.2.1.1. Ensemencement et isolement bactérien.....	13
2.2.1.2. Dénombrement des bactéries.....	15
2.2.1.3. Identification des bactéries .....	16
2.2.1.4. Indicateurs de contamination fécale et indicateurs d'efficacité de traitement..	17
2.2.1.5. Contrôle préventif d'une contamination fécale.....	17
2.2.1.6. Contrôle préventif de l'efficacité de traitement. ....	18
2.2.2. Techniques parasitologiques .....	18
2.2.2.1. Méthodes qualitatives .....	22
2.2.2.2 Méthodes utilisables seulement au laboratoire.....	27
2.2.2.2. Méthodes quantitatives .....	29
2.2.2.3 Applications pratiques .....	30
2.2.3. <i>Techniques physico-chimiques</i> .....	30
2.2.3.1. Le pH.....	31
2.2.3.2. La température.....	31
2.2.3.3. L'azote "Kjeldahl" .....	33
<b>3- PARTIE INSTRUCTIVE.....</b>	<b>33</b>
3.1. Différents organismes présents dans les excréta.....	33
3.1.1 <i>Infections virales</i> .....	34
3.1.2. <i>Infections bactériennes</i> .....	35
3.1.3. <i>Parasitoses intestinales</i> .....	38
3.1.4. <i>Distomatoses, téniasés et schistosomoses</i> .....	40

---

3.2. Précautions hygiéniques à respecter par les usagers des ouvrages ECOSAN et les manipulateurs des produits .....	41
3.2.1. <i>Utilisation des latrines</i> .....	41
3.2.2. Hygiène générale et hygiène des mains.....	41
3.2.3. Hygiène alimentaire .....	42
3.2.4. Prévention de la contamination du local.....	42
3.2.5. Protection des manipulateurs des excréta .....	42
3.3. Analyses à effectuer au labo ou sur le terrain avec des instruments : valeurs limites et périodicité.....	42
3.3.1. <i>Examen des selles</i> .....	42
3.3.1.1 Parasitologie des selles.....	43
3.3.1.2 Bactériologie des selles .....	43
3.3.2 <i>Examen des urines</i> .....	43
3.3.2.1. Parasitologie des urines .....	43
3.3.2.2. Bactériologie des urines .....	43
3.3.3. Analyses physico-chimiques des excréta.....	44
3.3.4. Valeurs limites et périodicité.....	44
3.3.5. <i>Analyses bactériologiques et parasitologiques des produits agricoles</i> .....	45
3.3.5.1. Analyses bactériologiques .....	45
3.3.5.2. Examens parasitologiques de l'eau de lavage des produits agricoles.....	48
3.4. Indicateurs pour l'estimation visuelle, tactile et olfactive de l'hygiénisation des excréta hygiénisés et des produits agricoles.....	49
3.4.1. <i>Indicateurs pour l'estimation de l'efficacité de l'hygiénisation des fèces</i> .....	49
3.4.2. <i>Indicateurs pour l'estimation visuelle, tactile et olfactive de l'hygiénisation des produits agricoles</i> .....	49

## **PREFACE**

*L'assainissement écologique (ECOSAN) est une nouvelle approche de l'assainissement qui représente un changement de paradigmes. Cette approche vise à protéger la santé et l'environnement par une hygiénisation des excréta humains afin de les utiliser comme fertilisants dans l'agriculture.*

*C'est un programme international de recherche et de développement parrainé par l'Asdi (Agence Suédoise de coopération de Développement International). Il implique un grand réseau de partenaires dans le monde ayant des connaissances/de l'expertise sur divers aspects d'assainissement écologique.*

*Cette approche est développée dans plusieurs régions. En Afrique de l'Ouest et du Centre, le Centre Régional pour l'Eau Potable et l'Assainissement à faible coût (CREPA) a mené un programme de recherche sur ECOSAN depuis 2002. Après les succès enregistrés avec son programme, le CREPA propose cette première version de la « boîte à outils ECOSAN » destinée à accompagner des populations défavorisées, des ONG, des associations et entrepreneurs désireux de s'investir dans le domaine de l'assainissement écologique.*

*Cette « boîte à outils » se fonde sur les connaissances acquises du Réseau CREPA à travers des projets de recherche mises en œuvre in situ dans dix de ses pays membres. Les informations et résultats compilés sont inspirés des réalités socioculturelles des pays membres du réseau CREPA et mis à la disposition du public. Le programme ECOSAN étant toujours en cours, il va sans dire que le CREPA reste ouvert à toute critique constructive dans le but d'une amélioration, du contenu de la boîte.*

*Le CREPA adresse un remerciement sincère à tous ses partenaires techniques et financiers dont le soutien constant a permis d'aboutir à la réalisation de « \*cette boîte à outils ECOSAN ».*

*Le Réseau est ainsi reconnaissant aux membres du Comité Technique Régional (CTR) qui n'ont ménagé aucun effort pour le travail combien important accompli durant la phase de recherche.*

*Les remerciements vont également à la Stockholm Environment Institute (SEI) pour son accompagnement dans la recherche. Un hommage est aussi rendu à l'Asdi pour son appui financier au réseau CREPA.*

Ing. Msc. **Cheikh Tidiane TANDIAN**  
Directeur Général du CREPA

## CONTEXTE/JUSTIFICATION

Les travaux de recherche sur l'assainissement écologique (ECOSAN) entrepris par le réseau CREPA durant la période 2002-2006 ont abouti à des résultats dont la diffusion devra permettre de mieux informer les acteurs sur les opportunités du concept et de réaliser les activités y relatives. Ainsi, dans le but de faciliter l'exploitation de ces résultats par des utilisateurs potentiels, il a été décidé la conception d'une « boîte à outils ECOSAN ». Pour ce faire, une commission composée, d'une part, des membres du Comité Technique Régional (CTR) et, d'autre part, d'une équipe de coordination du CREPA-Siège a été commise à la tâche.

L'objectif de cette commission est de synthétiser les résultats de la recherche sous une forme directement exploitable par des ONG, associations, entrepreneurs, etc. Ces outils, élaborés sur la base des expériences des chercheurs et des experts du réseau CREPA impliqués dans la recherche sur ECOSAN, selon le contexte des populations défavorisées, ont été rassemblés dans une « boîte à outils » [mis dans compte, L'élaboration de ce support de diffusion contribue à l'atteinte des objectifs de la Phase Dissémination, à savoir notamment la « consolidation et la dissémination de l'approche ECOSAN en Afrique de l'Ouest et du Centre à travers développés par le réseau CREPA en vue de contribuer à l'amélioration des conditions de vie socio-sanitaires des populations et à la lutte contre la pauvreté, dans le cadre de la poursuite des Objectifs de développement du millénaire (OMD). »

A partir des connaissances acquises dans le programme de recherche ECOSAN du CREPA, des résultats de la recherche, des observations des experts du CTR et des références bibliographiques, la présente « boîte à outils » est conçue pour servir comme un guide pour la mise en œuvre efficace du concept d'assainissement écologique.

Son contenu sera mis à jour progressivement pour intégrer les résultats de nouvelles recherches. La « boîte à outils » est composée de quatre volets : Social, Hygiène/Santé, Technique et Agronomie. Chaque composante se rapporte à une fonction dans le processus de mise en œuvre d'un projet ECOSAN.

Pour les acteurs non débutants en matière d'assainissement, ayant un intérêt pour l'assainissement écologique, cette « boîte à outils ECOSAN » est une référence utile dans la mise en œuvre.

Par ailleurs, l'élaboration d'un tel guide méthodologique répond à un besoin d'accompagnement des Représentations Nationales (RN) du CREPA qui constituent les partenaires indiqués au niveau national dans l'appui aux autres acteurs du secteur de l'AEPHA (Approvisionnement en eau potable, l'hygiène et l'assainissement) intéressés par l'assainissement écologique. La « boîte à outils ECOSAN » ainsi mis à leur disposition facilite la mise en œuvre des projets d'investissement et permet d'améliorer les performances des partenaires locaux. C'est la raison pour laquelle les outils constitutifs de cette boîte sont à mettre en relation avec l'approche CREPA, laquelle approche a donné des résultats durables dans la mise en œuvre des projets dans le secteur de l'eau et de l'assainissement.

## **RECOMMANDATIONS**

A l'issue des travaux de recherche, des ateliers de restitution ont été organisés dans les pays ayant participé au projet. Les préoccupations des participants aux divers ateliers de restitution ayant été essentiellement portées sur les risques sanitaires liés à l'utilisation des excréta humains en agriculture et sur comment savoir si les produits agricoles obtenus après avoir amendé le sol de culture avec des excréta sont des produits sécurisés sur les plans microbiologiques, il s'avère indispensable d'inclure dans la boîte à outils un guide de prévention et d'identification des risques sanitaires liés à la mise sur pied d'un système d'assainissement écologique.

Le présent guide va traiter :

- des précautions hygiéniques à respecter par les usagers des ouvrages, les manipulateurs des produits et les agriculteurs ;
- les analyses clés à effectuer au laboratoire ou avec des instruments bactériologiques, parasitologiques et physico-chimiques ;
- des indications pour l'estimation visuelle tactile et olfactive de l'efficacité de l'hygiénisation des produits.

Le guide comporte, outre les notions générales, deux grandes parties :

- Une partie théorique contenant des informations générales destinées aux professionnels ;
- Une partie instructive qui inclut des recommandations, des conseils, des instructions et des discussions destinées à toute personne intéressée par la mise sur pied d'un système d'assainissement Ecosan.





## **1- NOTIONS GÉNÉRALES**

### ***1.1. Assainissement écologique “ECOSAN”***

Les besoins en termes d'assainissement dans les pays d'Afrique sont énormes. Dans ces pays, particulièrement dans les zones rurales, les maladies d'origine fécale et celles liées à l'insalubrité représentent une proportion importante dans les tableaux de morbidité et de mortalité. La mauvaise gestion des excréta, les pratiques d'hygiène à risque et la sous-information des populations en matière d'hygiène et d'assainissement sont les principales causes de cette situation. ECOSAN est perçu comme un moyen qui contribue à résoudre efficacement les problèmes d'assainissement, à améliorer la santé des populations par une évacuation saine des excréta, à augmenter la production agricole pour lutter contre la pauvreté.

### ***1.2. Risques sanitaires***

Les risques sanitaires liés à la mise sur pied d'un système d'assainissement écologique sont le fruit ou la conséquence des activités humaines lors de la construction des ouvrages sanitaires, de leur utilisation, de l'exploitation de leur contenu et de la consommation des produits agricoles obtenus après avoir amendé les terres de culture avec le contenu des ouvrages réalisés.

### ***1.3. Ouvrages sanitaires***

Les ouvrages sanitaires dont il est, ici, question sont constitués des latrines avec ou sans déviation des urines et qui sont utilisés par les familles, les visiteurs et le personnel d'entretien.

L'exploitation du contenu des ouvrages (excréta, fèces et urines) est assurée par des vidangeurs, des agriculteurs, des applicateurs et des techniciens de laboratoire.

Les consommateurs sont constitués des familles, des visiteurs, des paysans et des revendeurs ou revendeuses.

### ***1.4. Bases d'un système d'assainissement écologique***

Le système d'assainissement écologique “ECOSAN” est basé sur quatre principes fondamentaux :

- Rendre les excréta humains sains ;
- Prévenir la pollution de l'environnement ;
- Réutiliser les excréta humains hygiénisés dans les activités agricoles et
- Fournir aux consommateurs des produits agricoles de bonne qualité microbiologique et parasitologique.

### ***1.5. Personnels exposés aux risques sanitaires***

Les personnes exposées aux risques sanitaires sont les utilisateurs des ouvrages réalisés (familles, visiteurs, le personnel d'entretien et d'exploitation, vidangeurs, agriculteurs, techniciens de laboratoire et les consommateurs).



## 2- PARTIE THEORIQUE

### Aperçu des principes, techniques et méthodes d'étude des agents pathologiques responsables des risques sanitaires










#### 2.1. Panorama des sciences microbiologiques qui étudient les agents pathogènes responsables des risques sanitaires

Les germes et les agents pathogènes responsables des risques sanitaires liés à la mise sur pied d'un système d'assainissement écologique appartiennent au monde microbien. Il s'avère donc indispensable de présenter les principales sciences microbiologiques avec leurs techniques et méthodes d'étude.

##### 2.1.1 La microbiologie

La microbiologie est la branche de la biologie consacrée à l'étude des organismes invisibles à l'œil nu : les micro-organismes ou microbes ( du grec micros = petit et bio = vie) dont les dimensions très petites s'expriment en microns :  $1\mu\text{m} = 1/1000^{\text{e}}$  de mm. On parle encore souvent de « mu »)

Les microbes peuvent, soit appartenir au règne animal : (protozoaires), soit au règne végétal : (champignons, algues) ; soit encore n'être rattachés ni à un règne, ni à un autre : ce sont les bactéries et les virus (ces dernières sont d'ailleurs trop petits pour être visibles au microscope optique).

	1 centimètre cm	1 millimètre mm	100µm	10µm	1 micromètre µm	100µm	10µm	1 millimicron (ou nanomètre) nm	1 Anstrom A
Equivalence en µm	10 000	1 000	1 00	1 0	1	0,1	0,01	0,001	0,0001
Ordre de grandeur	 Mouche  Gros insectes	 Puce  Petits insectes	 Paramecie  Grands protozoaires	 Limites de l'œil humain  Chlamydomonas  Globules rouge  Cellules sanguines algues microscopiques	 Bactéries  Limites du microscope optique	 Bactériophage  Gros virus	 Virus de la variole  Petits virus	 Molécules  Limites du microscope électronique	 Atomes

Echelle de grandeur des micro-organismes (inspirée de J. de Rosmay)

Les bactéries (du grec bactéria = bâtonnet, les premières bactéries observées présentent cette forme) constituent le groupe le plus important des micro-organismes. En raison du nombre et de la variété des espèces rencontrées, on peut parler d'un véritable « règne bactérien ». Ces micro-organismes souvent utiles, parfois nuisibles, exceptionnellement dangereux, pullulent autour de nous dans la terre, l'eau, les aliments, le corps de l'homme et des animaux...

A côté des bactéries, le monde des infiniment petits comprend : les parasites, les champignons et les virus ; des branches particulières de la biologie sont consacrées à la recherche et à l'étude de ces micro-organismes.

### 2.1.2 *La parasitologie*

La parasitologie est l'étude des êtres vivants qui trouvent leur substance aux dépens de l'hôte qui les héberge. Les maladies infectieuses causées par les parasites animaux portent le nom général de parasitoses et leur mise en évidence peut être faite par leur découverte dans le sang, les matières fécales, l'urine, etc. :

**Dans le sang** : recherche de l'hématozoaire du paludisme ou du trypanosome de la maladie du sommeil ;

**Dans les matières fécales** : recherche des amibes responsables de la dysenterie.

C'est par la recherche de leurs œufs dans les selles que l'on met en évidence les parasites intestinaux fréquents : ténia, ascaris, oxyures.

La parasitologie comprend également l'étude des vecteurs des maladies infectieuses : moustiques, poux, puces, etc.

La parasitologie prend actuellement beaucoup d'importance en raison des problèmes que posent la situation sanitaire dans les pays en voie de développement et le transport à travers le monde, de parasites dont l'action était, jusqu'à ce jour, limitée à des secteurs géographiques bien déterminés.

### 2.1.3 *La mycologie*

La mycologie est l'étude des maladies ou mycoses causées par des champignons, maladies de plus en plus fréquentes. Les champignons microscopiques pathogènes sont nombreux, plus de 75 espèces. Ils sont responsables, le plus souvent, de maladies de la peau, des ongles et des cheveux (teignes) mais il existe des mycoses profondes atteignant des organes essentiels et pouvant entraîner la mort.

### 2.1.4 *La virologie*

La virologie ou étude des virus occupe actuellement une place de premier plan en microbiologie. Plus de 500 virus ont déjà été observés. La grippe, les oreillons, la variole, la poliomyélite, l'hépatite ou le SIDA sont dus à des virus, on pense que les virus sont à l'origine d'autres maladies graves dont la cause n'est pas encore connue. Le virus, forme la plus élémentaire de la vie, est un matériel de choix en recherche biologique. La virologie fait appel à des techniques spécifiques : microscope électronique, culture de cellules, inoculation en œuf embryonné, etc. soumis surtout à des méthodes de diagnostics immunologiques.

## 2.2. Techniques et méthodes d'étude des micro-organismes et des organismes responsables des risques sanitaires

### 2.2.1 Techniques bactériologiques : méthodes générales d'étude des bactéries

#### 2.2.1.1. Ensemencement et isolement bactérien

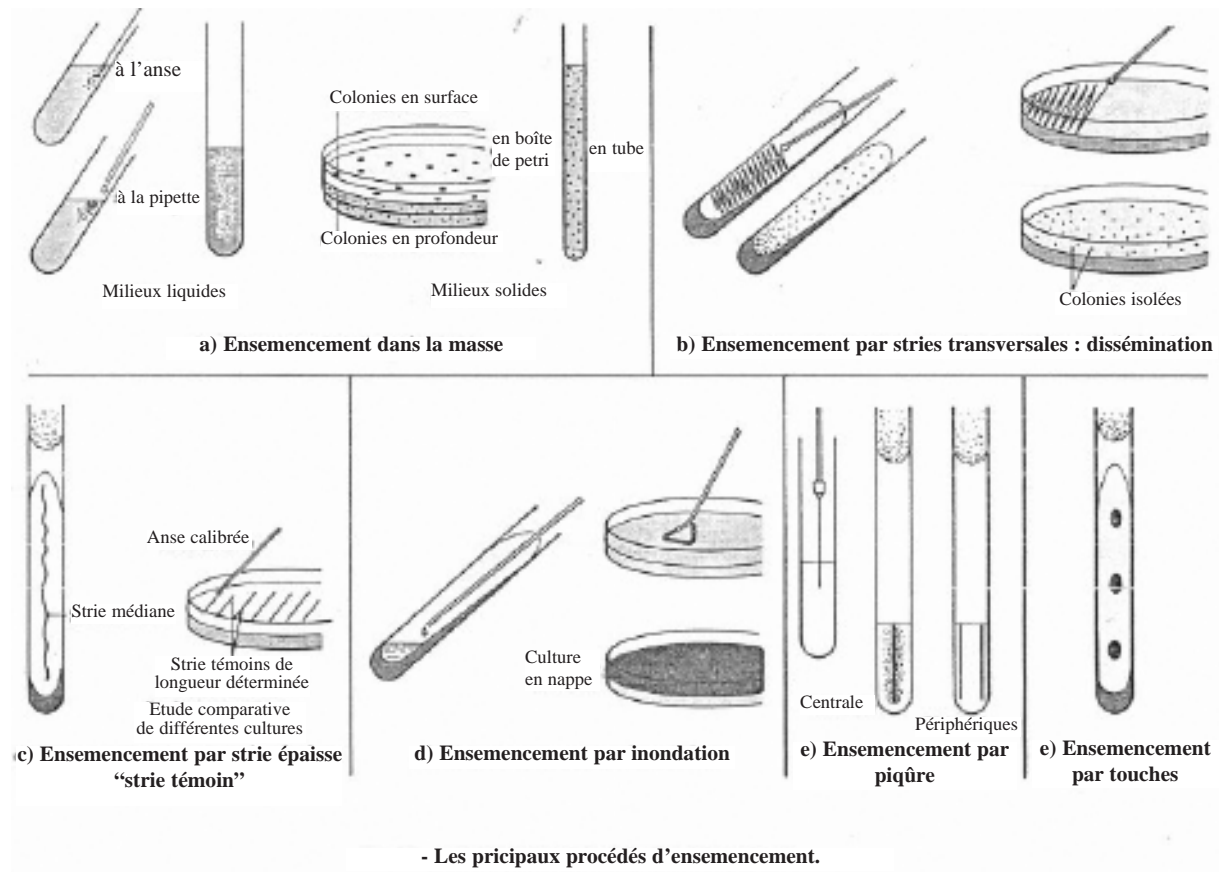
Les méthodes envisagées vont imposer, pour la première fois, l'utilisation des milieux de culture ; la définition de termes techniques est donc indispensable.

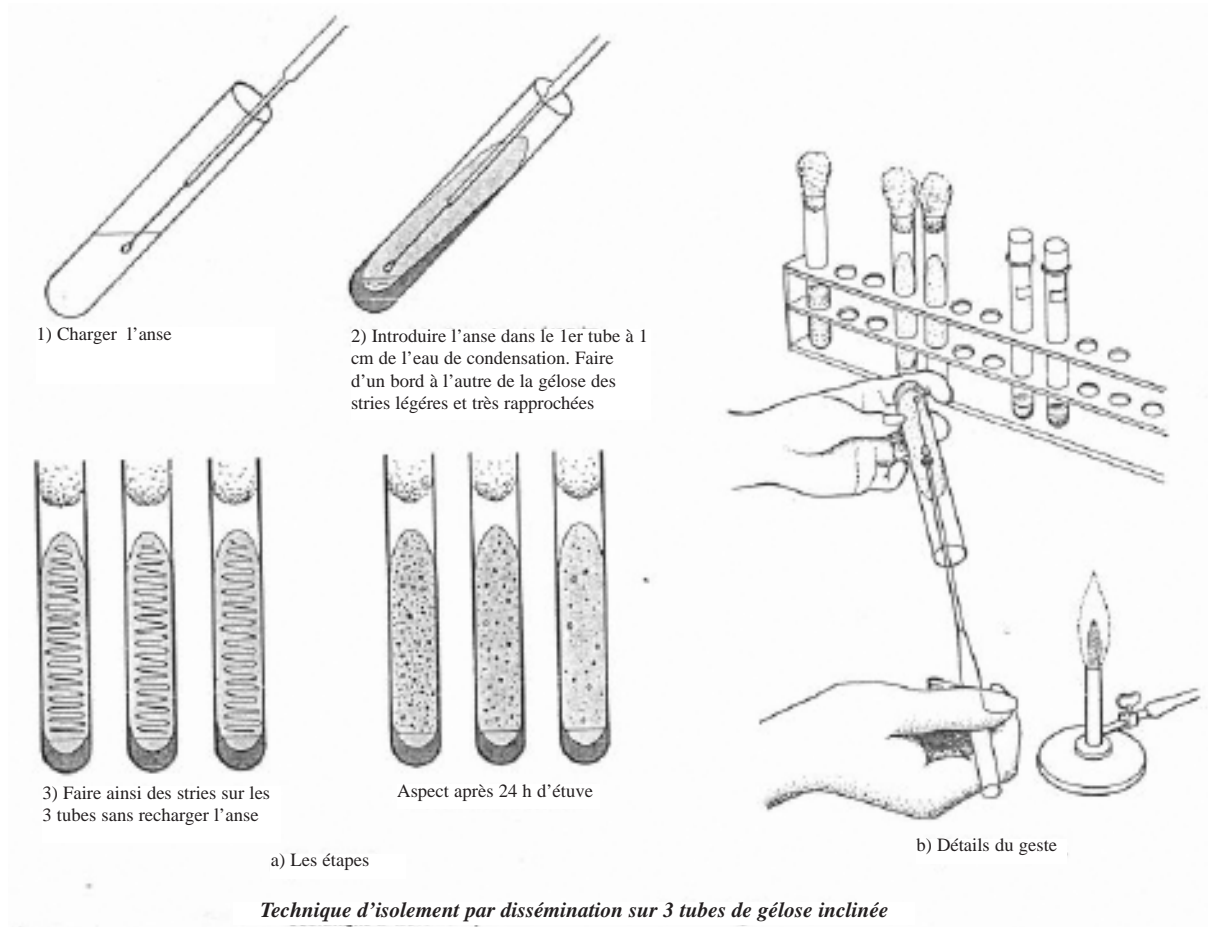
**Ensemencement** : Opération qui consiste à porter des bactéries dans un milieu de culture.

**Repiquage** : Transplantation d'une culture pure sur un milieu neuf.

**Beurrage** : Terme courant de laboratoire qui désigne un ensemencement massif en stries serrées à la surface d'un milieu solide en vue d'obtenir une culture abondante.

**Isolement** : Ensemencement effectué dans un but de séparation, de façon à obtenir, à partir des bactéries présentes, des colonies nettement distinctes.





L'isolement permet d'obtenir les cultures pures indispensables à toute étude et identification bactériologiques.

D'une façon plus précise, l'isolement bactérien peut avoir pour buts :

- de séparer les espèces bactériennes contenues dans un mélange (produit naturel par exemple) ;
- de purifier les colonies isolées. Par définition une colonie est un amas de bactéries toutes identiques issues d'une seule bactérie originelle. Il peut arriver que deux cellules bactériennes différentes soient réunies au même endroit, les deux colonies sont alors superposées, on dit qu'il s'agit d'une colonie mixte : une purification devrait donc en principe, précéder toute étude ou identification bactérienne;
- de contrôler la pureté d'une souche bactérienne en milieu solide ou liquide. Un isolement doit être mené parallèlement à toute identification bactérienne ;
- d'étudier l'aspect des colonies. On peut rappeler qu'une colonie est en principe l'amas, visible à l'œil nu, constitué de milliards de descendants d'une seule cellule bactérienne et que sa taille, sa forme, sa couleur, sa consistance sont caractéristiques de chaque espèce. Parfois, il ne s'agit pas d'une bactérie isolée mais d'une chaînette ou d'un petit amas ; on parle actuellement d'« Unités Formant Colonie » (UFC).

## 2.2.1.2. Dénombrement des bactéries

Les études bactériologiques peuvent être quantitatives ; en effet, dans certains cas, l'évaluation du nombre des bactéries présentes dans un produit peut présenter un intérêt considérable

### *En bactériologie alimentaire*

On dénombre la totalité des bactéries, flore totale ou un groupe bactérien particulier pour déceler ou évaluer la pollution de l'eau, du lait, des conserves, etc.

### *En bactériologie appliquée à l'industrie pharmaceutique*

On teste l'activité des antibiotiques ou des antiseptiques en comparant la population bactérienne avant, puis après contact avec la substance à étudier. La préparation des vaccins, le titrage des vitamines nécessitent l'application des techniques de numération.

### *En bactériologie médicale*

Le nombre des bactéries n'est qu'exceptionnellement en rapport avec la gravité d'une infection. Cas particulier à évoquer : la numération des bactéries dans l'urine à l'émission ou dans les crachats permet de différencier la gravité d'une infection, d'une souillure.

Les méthodes quantitatives sont également utilisées dans le contrôle pollution dans de nombreuses recherches et pour l'étude microbiologique des sols.

Il existe de nombreuses techniques de numération bactérienne plus ou moins précises et plus ou moins modernes : les unes sont applicables indifféremment au dénombrement des bactéries tuées ou vivantes.

On peut citer par exemple :

- le comptage direct qui peut être effectué soit au microscope grâce à des lames creuses de volume connu ou chambre graduée, soit à l'aide de compteur électronique de particules ;
- le compte indirect qui consiste à mélanger la substance à étudier à une suspension de levure ou de globules rouges de concentration connue, et à établir le rapport ;
- l'évaluation du trouble des suspensions de bactéries à tester par comparaison avec des gammes étalons. Pour la lecture, une cellule photo-électrique peut remplacer la vision oculaire.

Les autres ne permettent que la numération des bactéries vivantes.

On appréciera quantitativement le développement des cultures, en milieux liquides, en milieux solides, ou après filtration sur membranes.

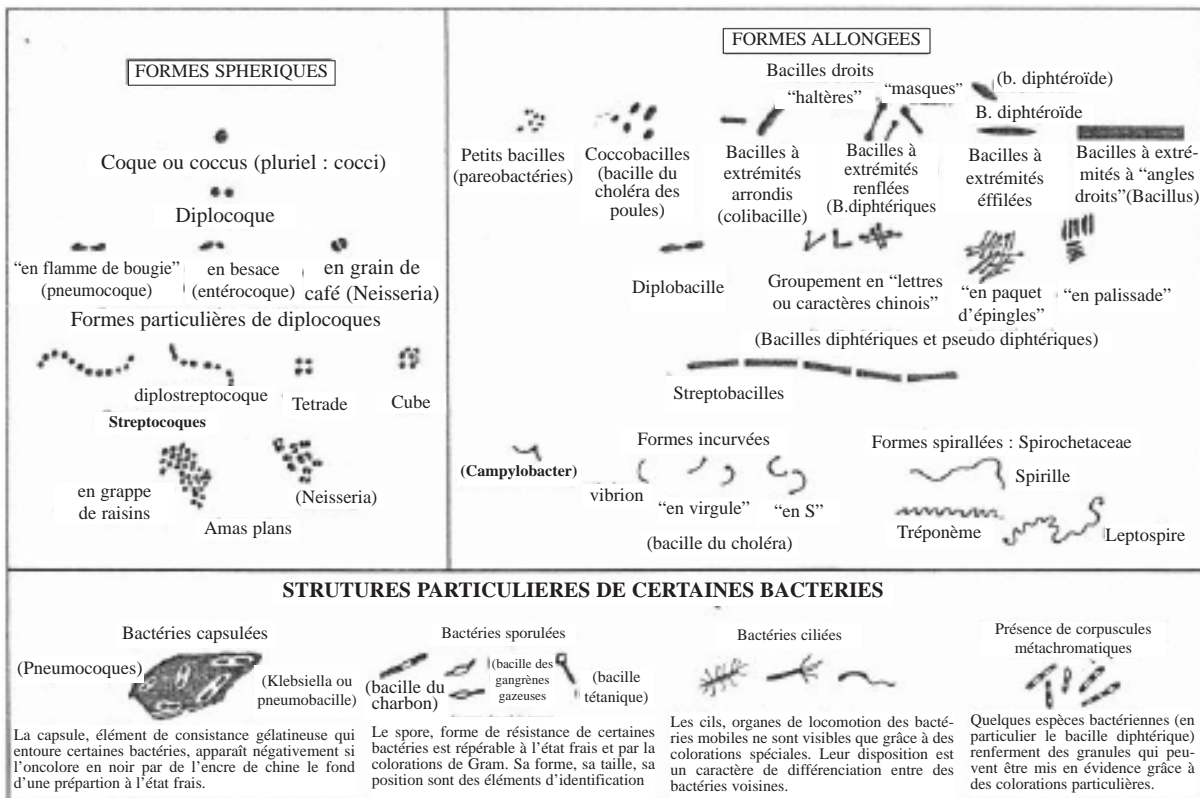
En bactériologie alimentaire, on applique surtout ces dernières méthodes. En recherche, de nombreuses techniques plus ou moins complexes et compliquées sont utilisées pour mesurer l'activité bactérienne.

2.2.1.3. Identification des bactéries

Etude microscopique

L'étude microscopique des bactéries est la première étape de leur identification et l'une des plus importantes ; en effet, en bactériologie comme en botanique ou en zoologie, les classifications actuellement utilisées sont basées sur la morphologie. On distingue :

- les **coques** ou **cocci** : bactéries sphériques rondes ou ovoïdes dont le diamètre, en général de 1 µm, varie suivant les espèces de 0,3µm à 3 µm.
- les **bacilles** : bâtonnets plus ou moins longs (1 µm à 50 µm), plus ou moins épais (de 0,2 µm à 5 µm de diamètre). Les bacilles les plus fréquemment rencontrés ont 2 à 3 µm de long et 1 µm de diamètre.
- des **vibrions** : bâtonnets incurvés dans un seul plan en forme de virgule ou de croissant.
- les **spirilles** : bactéries à structure hélicoïdale « en tire-bouchon ».



Morphologie des bactéries

L'examen de l'«état frais»

L'examen de l'«état frais», c'est-à-dire sans artifice de préparation dans une goutte de liquide déposée entre lame et lamelle, est indispensable pour observer les bactéries à l'état vivant et en particulier, pour mettre en évidence leur mobilité.

La coloration

La coloration peut être simple : comme la coloration au bleu de méthylène ou complexe comme la coloration de Gram qui permet une première classification des espèces bactériennes.



*Examen après coloration de Gram*

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries, non seulement d'après leur forme, mais également d'après leur affinité pour les colorants liée à la structure générale de leur paroi.

**2.2.1.4. Indicateurs de contamination fécale et indicateurs d'efficacité de traitement**

Le but véritable de l'hygiéniste sur le terrain ne sera pas de déceler la présence effective de bactéries pathogènes, mais de définir les circonstances qui rendent cette présence possible.

La législation en vigueur dans la plupart des pays de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) recommande de rechercher et de dénombrer quatre indicateurs bactériens :

- Les coliformes totaux ;
- Les coliformes fécaux ;
- Les streptocoques fécaux ;
- Les clostridium sulfito-réducteurs.

En fait, on distingue deux types principaux d'indicateurs :

- **Les indicateurs de contamination** qui permettent d'apprécier avec plus ou moins de sûreté ou de précocité le risque d'une contamination éventuelle par des micro-organismes pathogènes ;
- **Les indicateurs d'efficacité de traitement** qui permettent d'évaluer la qualité d'un traitement vis-à-vis d'un micro-organisme ou de plusieurs micro-organismes pathogènes dont la présence peut être redoutée.

**2.2.1.5. Le contrôle préventif d'une contamination fécale**

Seuls les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux sont des indicateurs spécifiques d'une contamination fécale. Ils existent en grande quantité dans les matières fécales des hommes et des mammifères les plus susceptibles d'héberger des pathogènes. Les valeurs approximatives par gramme de matières fécales sont transcrites ci-dessous.

	<b>Coliformes fécaux (CF)</b>	<b>Streptocoques fécaux (SF)</b>	<b>SF/CF</b>
<b>Hommes</b>	13 – 10 <sup>6</sup>	3 - 10 <sup>6</sup>	0,2
<b>Bovidés</b>	0,2 – 10 <sup>6</sup>	1,4 – 10 <sup>6</sup>	7
<b>Porcs</b>	3,3 – 10 <sup>6</sup>	84 – 10 <sup>6</sup>	25
<b>Chiens</b>	23 – 10 <sup>6</sup>	980 – 10 <sup>6</sup>	40

Les coliformes totaux (autres que les coliformes fécaux) et les clostridium sulfito-réducteurs sont des bactéries qui se trouvent normalement dans les matières fécales mais qui peuvent également vivre et se multiplier dans les milieux naturels.

### 2.2.1.6. Le contrôle préventif d'efficacité de traitement

Les procédés de traitement sont de deux types. Les uns, physico-chimiques, visent à éliminer les micro-organismes mécaniques ; les autres utilisent les agents désinfectants qui détruisent ou inactivent les micro-organismes pathogènes.

### 2.2.2. Techniques parasitologiques

Pour ce qui concerne les techniques parasitologiques, nous nous limiterons à la recherche de parasites dans les selles et dans les urines étant donné que ce sont ces deux produits biologiques qui intéressent les risques sanitaires liés à la mise en place d'un système d'assainissement écologique.

L'examen parasitologique des matières fécales et des urines repose sur des méthodes qualitatives, leur principe, leurs avantages et inconvénients.

#### 2.2.2.1. Les méthodes qualitatives

##### MÉTHODES NE NÉCESSITANT QU'UN MATÉRIEL SIMPLE

##### Examen direct simple

##### *Méthode*

Les méthodes en examen direct simple sont différentes suivant la consistance des selles.

##### *Selles de dysenterie*

Selle afécale, glaireuse et sanguinolente (avec des filets ou des caillots de sang), elle doit être examinée immédiatement après l'émission ou après prélèvement direct par toucher rectal (le doigtier ne doit pas être lubrifié et le toucher doit précéder une rectoscopie éventuelle).

Les parasites se trouvant de préférence dans les caillots ou les filets de sang, seront prélevés avec une pince sans griffe, déposés sur une lame propre, recouverte d'une lamelle et examinés immédiatement après étalement. Cet examen à frais permet de retrouver facilement, à cause de leur mobilité les amibes hématophages qui rampent à la surface de la lame grâce à leurs pseudopodes et des flagellés divers ; il sera plus exceptionnel de découvrir les grosses cellules de *Balantidium coli*.

##### *Selles de diarrhée :*

On pratiquera, à l'aide d'une pipette Pasteur, trois prélèvements en divers points de la selle et trois préparations microscopiques, sans dilution.

L'examen doit, là aussi, être pratiqué sur des selles fraîchement émises ; il permettra de retrouver des larves d'anguillule très mobiles, des flagellés, des ciliés et des formes végétatives d'amibes pathogènes ou non.

##### *Selles de consistance normale :*

Il faudra, tout d'abord, noter sur le bulletin d'examen la couleur et la consistance de la selle, l'existence de filets de sang ou de mucus, la présence éventuelle d'anneaux de *taenia* voire de parasites adultes (*Ascaris lumbricoïdes*, oxyure) qui seront prélevés à la pince et examinés, suivant leur taille, directement, à la loupe ou avec le grossissement 4x du microscope.

**Résultats**

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLULE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES		HYMENOLEPIS	DOUVES	
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES			
<b>EXAMEN DIRECT</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

L'examen direct permet de retrouver tous les œufs et larves des helminthes intestinaux, les formes végétatives et kystiques des amibes, flagellés et ciliés (Voir tableau).

**Avantages et inconvénients**

La méthode d'examen direct est simple, tant en ce qui concerne le matériel qu'en ce qui concerne la technique. C'est la méthode de choix pour l'examen des selles dysentériques ou diarrhéiques et elle doit être systématiquement pratiquée avant toute concentration.

*Cependant, elle n'est pas quantitative (à moins d'effectuer une pesée de chaque prélèvement et de compter tous les éléments parasitaires) et l'examen, ne portant que sur quelques milligrammes de selles, peut être faussement négatif : faible parasitisme ou faible élimination ovulaire (en particulier pour Schistosoma mansoni).*

**Méthode de Kato****Principe**

Pour remédier aux inconvénients de l'examen direct simple, on pratique un étalement épais des matières fécales, ce qui nécessite l'emploi d'une solution éclaircissant les selles.

**Résultats**

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLULE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES		HYMENOLEPIS	DOUVES	
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES			
<b>KATO</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

La méthode de Kato n'est valable que pour les œufs et, un peu moins, pour les larves d'anguillule. elle est sans valeur pour les kystes et les formes végétatives d'amibes et de flagellés.

**Avantages et inconvénients**

Cette méthode ne nécessite qu'un matériel simple mais, surtout, portant sur une plus grande quantité de selles, elle permet de dépister les faibles infestations et peut, comme nous le rever-

rons, être quantitative (Komya et coll., 1966 ; Zaman et coll., 1967 ; Rougemont et coll., 1974 ; Ripert et coll., 1975 ; Nozais et coll., 1976).

Mais elle n'est pas utilisable pour des selles liquides ou de dysenterie et ne doit pas être employée pour la recherche des protozoaires intestinaux.

Il faut aussi préciser que, si avec la solution n° 2, la lecture peut être immédiate, par contre, il faut laisser agir la solution n° 1 au moins une heure à la température ordinaire avant l'examen microscopique.

### M.I.F. (merthiolate-iode-formol) conservation

#### Méthode

Le milieu de conservation est préparé à l'avance en versant, dans chaque tube à hémolyse, 2,35ml de solution mère de merthiolate-formol à laquelle on ajoute, au moment de l'emploi, 3 gouttes de lugol à 5%.

On dépose au fond du tube environ 250mg de selle (la grosseur d'un petit pois) et on triture soigneusement avec un agitateur de façon à dilacérer la matière fécale et à mettre les éléments parasitaires au contact du liquide.

On laisse déposer au minimum 30 minutes.

Le prélèvement à la pipette est fait à la surface du sédiment puis déposé sur une lame, recouvert d'une lamelle et examiné.

#### Résultats

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLULE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES		HYMENOLEPIS	DOUVES
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES		
<b>M.I.F. CONSERVATION.</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Les œufs et larves sont colorés en rouge ; le lugol colore les noyaux des protozoaires et en facilite ainsi le diagnostic d'espèce.

#### Avantages et inconvénients

En plus des avantages déjà notés à propos de l'examen direct, il faut ajouter :

- les possibilités d'un examen différé, d'une conservation prolongée (plusieurs années), d'une concentration suivant la technique que nous reverrons.
- Une reconnaissance facile des protozoaires.

Par contre, aux inconvénients déjà signalés à propos de l'examen direct simple, s'ajoutent l'utilisation d'un matériel fragile et la nécessité de nombreuses manipulations qui rendent cette méthode plus difficile à utiliser en dépistage de masse.

### Conservation dans le formol à 5%

#### Méthode

Un fragment de selle est trituré dans la solution de formol versée, au moment de l'emploi, dans un tube à hémolyse. Le prélèvement est pratiqué à la pipette.

**Résultats**

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLEULE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES		HYMENOLEPIS	DOUVES
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES		
<b>CONSERVATION FORMOL</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Cette méthode permet de retrouver aussi bien les œufs et larves d’helminthes que les protozoaires.

**Avantages et inconvénients**

Par rapport au M.I.F. – conservation, les seuls avantages sont la possibilité de préparer les tubes à hémolyse au moment de l’emploi et d’exiger moins de manipulations. Par contre, les noyaux de protozoaires ne sont pas colorés.

**Méthode à la cellophane adhésive : Scotch Test**

**Méthode**

L’examen doit être pratiqué le matin, avant toute toilette intime du malade et avant la défécation.

Le morceau de Cellophane est appliqué, par sa face collante, sur la peau de la marge de l’anus, retiré immédiatement et collé sur une lame. L’examen microscopique peut être immédiat ou différé.

**Résultats**

	ANKYLOSTOME NECATOR	ANGUILLEULE	S. MANSONI S. HAEMATOBIIUM S. JAPONICUM	KYSTES	OXYURE
<b>CELLOPHANE ADHESIVE</b>					+++

La seule indication de cette méthode est la recherche des œufs d’oxyure, déposés sur la marge de l’anus lors de la ponte nocturne de la femelle du ver à ce niveau.

**Biopsie de la muqueuse rectale (B.M.R.)****Méthode**

Un lavement évacuateur ou un laxatif doux, la veille de l'examen, sont indiqués mais ne sont pas indispensables en enquête de masse.

Le sujet est placé en position genu-pectorale et le rectoscope, lubrifié, est introduit dans le rectum.

La biopsie peut être effectuée, soit sur la paroi antérieure du rectum, soit sur le bord libre d'une valvule de Houston, soit au niveau d'érosions punctiformes, lorsqu'elles existent. On obtient ainsi un petit fragment de muqueuse, de 1 mm environ de diamètre. Une partie ou la totalité en est déposée sur une lame (éventuellement, dans une goutte de gomme au chloral qui éclaircit la biopsie) et écrasée à l'aide d'une autre lame qui sera laissée en place.

**Résultats**

	ANKYLOSTOME NECATOR	ANGUILLULE	S. MANSONI S. HAEMATOBIIUM S. JAPONICUM	KYSTES	OXYURE
<b>BIOPSIE DE LA MUQUEUSE RECTALE</b>			+++		

La B.M.R permet de retrouver aisément les œufs de *Schistosoma mansoni*, de *Schistosoma japonicum*, de *Schistosoma intercalatum* et, dans de très nombreux cas, les œufs de *Schistosoma haematobium*.

Isolés ou groupés en ligne, parfois clairs, les œufs sont souvent morts et alors fréquemment calcifiés et rétractés, de teinte noire.

Dans les zones où coexistent *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma intercalatum* (œufs à éperon terminal) il est indispensable, après fixation dans le Bouin, de colorer une partie de la biopsie au Ziehl vert de méthyl : les œufs de *S. haematobium* seront colorés en vert et les œufs de *S. intercalatum*, en rouge (comme ceux de *S. mansoni*).

**Avantages et inconvénients**

Equivalente à la méthode de Kato pour dépister, chez les enfants, les œufs de *S. mansoni* (et de *S. intercalatum*), elle présente, en outre, l'avantage de dépister les œufs de *S. haematobium* et d'être, chez les adultes en pays d'endémie, plus souvent positive que l'examen de selles. Elle permet, de plus, un examen rectoscopique.

Par contre, elle est parfois mal acceptée des populations, elle est difficile à pratiquer chez les enfants et à utiliser sur le terrain, en raison de la longueur des manipulations et du grand nombre d'individus à examiner.

**2.2.1.2 Méthodes utilisables seulement au laboratoire**

Nous distinguerons les méthodes les plus fréquemment utilisées qui nécessitent un liquide de composition variée et de l'éther (qui dissout les acides gras et les graisses neutres), méthodes diphasiques, et quelques autres techniques d'utilisation moins courante.

**Méthode de Bailenger (Bailenger, 1973) :**

**Technique**

Dilution de 2 à 3 g de selle dans 10 fois de volume de la solution suivante :

Acétate de sodium cristallisé .....15g

Acide acétique .....3,6ml

Eau distillée QSP .....1000ml

Ajuster à pH5 avec de l'acide acétique.

Après avoir laissé sédimenter une minute, on émulsionne dans un volume égal d'éther puis on laisse décanter et on centrifuge.

**Résultats**

Cette méthode concentre bien les œufs et larves d'helminthes, les kystes de protozoaires.

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLULE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES			
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES	HYMENOLEPIS	DOUVES
<b>BAILLENGER</b>	+	+	+	+	+			+	+	+	+

**Méthode de Téléman-Rivas :**

**Technique**

On dilue les selles dans la solution suivante :

Acide acétique cristallisable ..... 5 ml

Eau distillée QSP ..... 100ml

Après tamisage, on émulsionne dans un égal volume d'éther avant de centrifuger.

**Résultats**

Cette méthode concentre surtout les larves d'anguillule, les œufs de type ankylostome (*Ancylostoma duodénale*, *Necator americanus* et *Trichostrongylus st.*) et les œufs de trichocéphale ; elle est moins valable pour les kystes d'*Entamoeba histolytica*.

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLULE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES			
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES	HYMENOLEPIS	DOUVES
<b>TELEMAN-RIVAS</b>	+	+	+	+				+	+	+	+

**Méthode de M.I.F. – concentration****Technique**

On triture 1 g de selle dans 10 ml de la solution déjà citée à laquelle on ajoute du lugol. Puis, après tamisage, on verse 4 ml d'éther, on laisse reposer deux minutes et on centrifuge. Cette technique peut ainsi être mise en œuvre au laboratoire à partir de selles recueillies sur M.I.F.

**Résultats**

Concentrant bien les œufs, cette technique offre de plus l'avantage de concentrer les kystes de protozoaires et de colorer leurs noyaux.

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES		HYMENOLEPIS	DOUVES
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES		
<b>M.I.F CONCENTRATION</b>	+	+		+	+			+	+	+	+

**Méthode de Ritchie :****Technique**

Après avoir dilué les selles dans de l'eau formolée à 10%, on tamise puis on ajoute de l'éther à volume égal et on centrifuge après agitation.

**Résultats**

Cette méthode concentre bien les œufs et kystes ; elle peut être pratiquée sur des selles recueillies sur formol.

	ASCARIS	ANKYLOSTOME	ANGUILLE	TRICHOCEPHALE	S. MANSONI S. JAPONICUM	FORMES VEGETATIVES		KYSTES		HYMENOLEPIS	DOUVES
						AMIBES	FLAGELLES	E. HISTOLYTICA	AUTRES AMIBES		
<b>RITCHIE</b>	+	+		+	+			+	+	+	



## Autres méthodes d'utilisation courante :

Nous ne les détaillerons pas. Il s'agit de :

- La méthode de Carles-Barthelemy qui nécessite deux centrifugations.
- La méthode de Faust,
- La méthode de Janekso-Urbaniy à l'iodo-mercurate de potassium très corrosif,
- La méthode de Willis,
- La méthode de Faust et Ingalls par sédimentation dans une solution aqueuse de glycérine, qui peut s'effectuer sur 5 g de selle.

### *Avantages et inconvénients des concentrations*

Toutes ces méthodes présentent l'avantage de concentrer à partir de quelques grammes de selle, les éléments parasitaires dans un petit volume tenant sous une ou deux lamelles. Elles permettent ainsi de dépister les faibles infestations ou les faibles éliminations. Mais, la nécessité d'un matériel important, fragile et difficilement transportable, les manipulations longues, en font des méthodes inutilisables dans les enquêtes sur le terrain.

## LES MÉTHODES SPÉCIALES

Elles sont indiquées pour la recherche de certains parasites et sont donc mises en œuvre en fonction des renseignements cliniques et biologiques fournis par le praticien.

### Méthode de Thébaut

#### *Technique*

On dilue 5 g de selle dans 50 ml de la solution suivante :

Acide trichloracétique à 20 % .....	1ml
Formol .....	10 ml
Eau distillée QSP .....	100 ml

Après tamisage, on laisse reposer une minute, puis on verse le mélange dans un tube à décanter, on ajoute un même volume d'éther et, après agitation, on laisse reposer deux minutes, enfin on soutire le liquide de la tubulure et on centrifuge.

#### *Indications et résultats*

C'est la meilleure technique pour la recherche des kystes de protozoaires dont les noyaux sont bien visibles et peuvent être colorés par le M.I.F. ou le lugol.

	ANKYLOSTOME NECATOR	ANGUILLULE	S. MANSONI S. HAEMATOBIMUM S. JAPONICUM	KYSTES	OXYURE
<b>THEBAUT</b>				+++	

## Méthode de Baermann

### Technique

On monte, sur tubulure d'un entonnoir, un tube de caoutchouc fermé à son extrémité par une pince.

Dans une passette à thé tapissée de gaze, on place 10 g de selle. Cette préparation est placée sur l'entonnoir et celui-ci est rempli d'eau tiède qui doit affleurer le fond de la passette.

Après avoir laissé pendant deux à trois heures, on soutire 5 à 10ml de liquide qui sont centrifugés pendant 3 à 5 minutes.

### Résultats

C'est la meilleure technique de recherche des larves d'anguillule dont on utilise les propriétés d'hydro et de thermotropisme positif (les larves se déplacent de la selle fraîche vers l'eau tiède).

	ANKYLOSTOME NECATOR	ANGUILLULE	S. MANSONI S. HAEMATOBIIUM S. JAPONICUM	KYSTES	OXYURE
BAERMANN		++			

## Coprocultures

### Technique

Deux techniques sont utilisées, à partir de selles fraîches : - Mélange, à quantité égale, de la poudre de charbon stérilisé et des selles puis ajouter de l'eau stérile et placer la pâte ainsi obtenue dans une boîte de pétri en formant un cône qui affleurerait le couvercle ; mettre à l'étuve à 25°.

Envelopper deux à trois lames dans du papier buvard, étaler dessus 1 g de selle, mettre dans une boîte de pétri et ajouter 10 ml d'eau stérile ; mettre à l'étuve à 25°. Dans les deux cas, on examine, tous les jours pendant au moins huit jours, l'eau de condensation formée sur le couvercle.

### Indications et résultats

La coproculture utilise la propriété des anguillules de se développer jusqu'à maturité sexuelle à 25° en milieu semi-liquide avec production de nombreuses larves de seconde génération (multiplication). La coproculture permet aussi la différenciation, à partir des larves, entre *Necator americanus* et *Ancylostoma duodenale*, ce qui est important en raison des conséquences cliniques et thérapeutiques différentes, le diagnostic d'espèce à partir des œufs (nombre de cellules ou blastomères) n'étant pas, en effet, une méthode rigoureuse (notons que, pour ces deux derniers parasites, la coproduction n'entraîne pas de multiplication mais uniquement une maturation larvaire).

	ANKYLOSTOME NECATOR	ANGUILLULE	S. MANSONI S. HAEMATOBIIUM S. JAPONICUM	KYSTES	OXYURE
<b>COPROCULTURES</b>	+	++			

### *Avantages et inconvénients des techniques spéciales*

Ces techniques, spécifiques pour la recherche de certains parasites, kystes d'amibes et anguillule essentiellement, sont très utiles en médecine individuelle mais ne sauraient être employées en médecine de masse.

	ANKYLOSTOME NECATOR	ANGUILLURE	S. MANSONI S. HAEMATOMIUM S. JAPONICUM	KYSTES	OXYURE	CRYPTOSPORIDIE
CELLOPHANE ADHESIVE					+++	
BIOPSIE DE LA MUQUEUSE RECTALE			+++			
THEBAUT				+++		
BAERMANN		++				
COPROCULTURE	+	++				
COLORATION DE ZIEHI NIELSEN SUR FROTIS DE SELLES						+

### 2.2.2.2. Les méthodes quantitatives

#### GÉNÉRALITÉS

La numération des œufs d'helminthes est de plus en plus employée en parasitologie car elle permet :

- d'évaluer l'intensité du parasitisme individuel : il est, en effet, possible de déduire, approximativement, le nombre de parasites adultes présents dans l'organisme à partir du nombre d'œufs par gramme de selle (ou par vingt-quatre heures si on connaît le poids total des selles durant ce laps de temps).

On estime ainsi que 100 œufs d'*Ascaris lumbricoïdes* correspondent à 2 vers et que 50 œufs de *Necator americanus* correspondent à 2 vers.

Pour ce dernier parasite, la numération est très utile au diagnostic d'une anémie puisqu'on admet qu'il faut plus de 3 000 œufs/g de selles pour que l'anémie soit d'origine parasitaire (pour *Ancylostoma duodenale*, il faut seulement plus de 1 000 œufs /g de selles). Pour *Schistosoma mansoni*, on estime qu'environ 25% à 30% des œufs pondus par une femelle sont retrouvés dans les selles, ce qui correspond à 80 œufs /g de selle pour deux adultes ; ce chiffre est en fait variable suivant l'ancienneté et l'intensité de l'infestation.

- D'apprécier l'importance et la fréquence de la transmission.

- De juger de l'efficacité d'un anthelminthique par des numérations pratiquées avant et après traitement.

La numération des œufs utilise deux méthodes :

- Pesée d'une certaine quantité de selle puis dilution soigneuse et examen d'une ou de plusieurs gouttes calibrées.
- Examen d'un volume constant de selle après avoir, par des pesées préalables, déterminé le poids moyen correspondant au volume utilisé (en tenant compte de la consistance des selles).

## MÉTHODE DE KATO

### *Matériel*

En plus du matériel déjà vu, on utilise des plaques de carton glacé ou plastique percées d'un trou de diamètre constant :

- Ripert et coll. (1975) utilisent un carré de carton glacé de 0,26mm d'épaisseur percé en son milieu d'un trou de 4,72mm de diamètre, ce qui donne un poids moyen de matière fécale égale à 10 mg.
- Nozais et coll. (1976) emploient une plaque de plastique de 1 mm d'épaisseur percée d'un trou de 6,5mm de diamètre, donnant un poids moyen de 30 mg.

### *Méthode*

La plaque perforée est appliquée sur une lame d'examen microscopique et le trou est rempli de selle tamisée ; la surface est arasée puis la plaque est retirée et le prélèvement est étalé sous un rectangle de Cellophane imbibé des solutions n° 1 ou n° 2.

La totalité de l'étalement est examinée en comptant tous les œufs rencontrés.

Le nombre d'œufs trouvé, pour chaque espèce, est, soit multiplié par 10 (Ripert et coll., 1975), soit multiplié par 100 et divisé par 3 (Nozais et coll., 1976).

### *Avantages*

La méthode quantitative de Kato permet de dépister beaucoup plus de porteurs d'œufs de *S. mansoni*, de *N. americanus* et de *Trichuris* (trichocéphale) que la méthode d'examen direct. Les résultats des deux méthodes sont identiques pour *Ascaris lumbricoïdes* et *Strongyloïdes stercoralis* (anguillule).

La simplicité du matériel et de la technique en fait une méthode facilement applicable en médecine de masse (Martin et coll., 1968 ; Katz et coll., 1970 ; Rougemont et coll., 1974 ; Teesdale et coll., 1976).

### *Inconvénients*

- Le comptage des œufs (en particulier pour les œufs d'ascaris souvent très nombreux) dans 300 mg de selle est fastidieux mais, par contre, cette quantité augmente les chances de trouver des œufs lorsqu'ils sont en petit nombre, surtout les œufs de *S. mansoni* (Martin, 1965). L'examen de 10 mg de selles est plus rapide mais peut être négatif dans les faibles éliminations ovulaires.
- La méthode n'est valable que pour les œufs.

**LES AUTRES MÉTHODES**

Ce sont les méthodes du Stoll et de Brumpt qui utilisent une dilution de selle, de poids connu, dans de la soude décinormale.

**Méthode de Stoll**

Quatre grammes de selle sont dilués dans 60 ml de soude décinormale et, après agitation, 0,15 ml du mélange est prélevé pour examen ; le nombre d'œufs trouvé est multiplié par 100.

**Méthode de Brumpt**

On fait une suspension au 1/10<sup>e</sup> ou au 1/20<sup>e</sup>, de un à cinq grammes de selles et, après tamisage, on compte le nombre de gouttes contenues dans 1 ml, soit N, puis le nombre d'œufs présents dans une goutte, soit n. Le nombre d'œufs par gramme est égal à  $N \times n \times$  coefficient de dilution.

**Avantages et inconvénients de ces deux méthodes**

Ces deux méthodes sont plus précises que la technique de Kato en raison de la pesée préalable de chaque échantillon fécal mais nécessitant une balance de précision, des flacons gradués et une longue manipulation, elles sont inapplicables en enquête de masse.

**2.2.2.3 Applications pratiques**

Toutes les méthodes que nous avons décrites sont utilisables au laboratoire mais, en raison de conditions de travail différentes, nous distinguerons les méthodes utilisables par le praticien, les méthodes utilisables en enquête de masse et les méthodes de laboratoire.

**MÉTHODES UTILISABLES PAR LE PRATICIEN**

Ces méthodes ne nécessitent qu'un microscope ordinaire, des lames et lamelles, un rectoscope et des pinces à biopsie. En pays tropical et en l'absence de laboratoire bien équipé, le médecin de dispensaire ou de consultation privée peut mettre en œuvre trois méthodes de diagnostic parasitologique lui permettant de dépister la plupart des parasites intestinaux ; il s'agit :

- du test à la cellophane adhésive (scotch-test de Graham) pour la recherche des œufs d'oxyure,
- de l'examen direct simple qui sera surtout utilisé pour la recherche des formes végétatives d'*Entamoeba histolytica* au cours des syndromes dysentériques (mais qui permettra aussi de retrouver les autres parasites).
- de la biopsie de muqueuse rectale permettant, outre la recherche des œufs de bilharzies, de pratiquer une rectoscopie.

**MÉTHODES UTILISABLES EN ENQUÊTE DE MASSE**

Aucune des méthodes de concentration n'est, en pratique, utilisable sur le terrain. En dehors du test à la cellophane adhésive, utilisable uniquement pour étudier la prévalence de l'oxyurose, quatre méthodes peuvent être employées et seront choisies en fonction du ou des parasites à étudier.

Il s'agit de :

- l'examen direct
- la méthode de Kato
- M.I.F. – conservation (ou formol-conservation).
- la biopsie de muqueuse rectale.

Toutes les méthodes qui ont été décrites sont utilisables. Un bon examen coprologique doit comprendre :

**1) Trois examens directs** (ou la méthode quantitative de Kato) sur chaque selle,

**2) Au moins deux techniques de concentration standards :**

- Bailenger et M.I.F., en particulier pour la recherche des œufs de *S. mansoni* (Becquet, 1975);
- M.I.F et Téléman-Rivas ; M.I.F. (après Kato quantitatif), le Kato pour la recherche des œufs et le M.I.F., pour les protozoaires.

**3) En fonction des renseignements cliniques et biologiques :**

- La technique de Baerman ou la coproculture pour la recherche des anguillules et la coproculture pour le diagnostic différentiel entre *A. duodenale* et *N. americanus* (associée à une numération suivant les techniques de Stoll ou de Brumpt).
- La méthode de Thébaut pour la recherche des kystes.

### **Conclusion**

L'examen coprologique est, ainsi, d'une importance majeure pour le diagnostic individuel et collectif, pour le choix et la surveillance du traitement des parasitoses intestinales. La méthode de Kato, surtout sous sa forme quantitative, paraît particulièrement indiquée comme technique d'enquête épidémiologique des helminthiases intestinales en pays tropical et son utilisation standardisée par les Services des Grandes Endémies permettrait de comparer, de façon plus valable, la prévalence de ces parasites encore si répandus dans les pays en voie de développement.

#### *2.2.3. Techniques physico-chimiques*

Les paramètres physico-chimiques influencent la qualité des excréta. Leurs mesures et déterminations doivent être réalisées en vue de conférer à l'assainissement écologique son rôle dans la prévention de la pollution et de maladies par les excréta humains, leur traitement en tant que ressource plutôt que déchet, et la transformation et le recyclage des nutriments, les paramètres physico-chimiques ci-après seront pris en considération : le pH, la température, l'azote, la conductivité et le carbone organique.

##### **2.2.3.1. Le pH**

Le pH est la mesure du degré d'acidité ou d'alcalinité d'un liquide aqueux. Il est défini comme étant le logarithme négatif de la concentration en ion hydrogène et varie de 0 à 14 dans l'eau.

##### *Utilisation du pHmètre*

On utilise le plus souvent de petits pH mètres portatifs à affichage numérique mais on peut se contenter d'une évaluation approximative par colorimétrie. On ajoute au milieu une substance

---

colorée dite « indicateur de pH » ; ces substances ont la propriété de changer de teinte pour une certaine valeur du pH : zone de virage. Les indicateurs de pH les plus utilisés en biologie sont ceux dont la zone de virage se situe aux environs de la neutralité :

le bleu de bromothymol qui vire du jaune (acidité pH 6) au vert (neutralité) puis au bleu (alcalinité pH 7,8).

Le bromocrésol qui vire du jaune orangé (acidité pH 5,4) au violet (dès la neutralité)

Le rouge de phénol qui vire du jaune (acidité) à l'orangé (neutralité pH 7) puis au rouge carmin (alcalinité pH 8)

La teinture de tournesol qui vire du rouge (acidité pH 5) au violet (acidité pH 6) puis au bleu (alcalinité pH). La teinture de tournesol est peu précise et souvent déconseillée.

### *Méthode utilisant les papiers indicateurs*

Ces papiers sont imprégnés de solutions d'indicateurs de pH et séchés ; ils sont vendus en rouleaux placés dans des boîtiers distributeurs, soit en carnets de bandelettes. Une échelle de référence (établie à l'aide de solutions-tampons reproduite sur la couverture du carnet ou encore figure sur la bandelette elle-même de part et d'autre de la partie imprégnée sur laquelle se font les essais :

Tremper la bandelette de papier indicateur dans le milieu refroidi au besoin entre 30° et 50°). Comparer la teinte obtenue avec celles de l'échelle de référence :

- Si le pH est inférieur au pH désiré (donc trop acide), ajouter quelques gouttes de soude diluée (environ au 1/100), mélanger, vérifier le nouveau pH, recommencer l'opération si nécessaire.
- Si le pH est supérieur au pH désiré (donc trop alcalin), ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué (environ au 1/20), mélanger, vérifier.

### *Méthode dite « à la fourchette »*

Cette méthode est plus précise que la précédente mais elle nécessite l'emploi de solutions stables à pH connu (solutions-tampons) et d'un comparateur :

Il existe actuellement dans le commerce des pH mètres portables et de terrain très précis capables d'afficher aussi bien le pH que la température avec une excellente fiabilité que l'on peut utiliser pour le contrôle de qualité et de routine. Nous citerons par exemple, le Cyberscan, le pH/mV mètre ISFET, le pH/mV mètre multiparamètre portable C500 (Consort), le pH/mV mètre Knick Portamess, disponible chez Fisher Bioblock Scientific, Bd Sébastien Brant Parc d'Innovation, PB 111 F-67403 Illkirch' Cedex.

L'augmentation du pH permet une destruction rapide des germes pathogènes.

### **2.2.3.2. La température**

L'accroissement des températures favorise, à son tour, une rapide hygiénisation des fèces en fosse. La température peut être directement mesurée dans les fosses à l'aide d'un thermomètre à sonde Fisher. Bioblock Scientific a dans ses magasins une gamme variée de thermomètres à sonde de poche que nous pouvons recommander aux professionnels.

### **2.2.3.3. L'azote type "Kjeldahl"**

La détermination de la teneur en azote type "kjeldahl" est basée sur le principe selon lequel la plus grande partie de l'azote contenue dans les selles se trouve dans les aliments non digérés.

On peut ainsi déterminer la masse d'azote par rapport à une certaine quantité de fèces ou d'urines. A chaud, en milieu acide sulfurique concentré et en présence de catalyseur, la minéralisation de la matière organique (CHOV) produit du  $\text{CO}_2$  du  $\text{NH}_4^+$  et de  $\text{H}_2\text{O}$ .

Dans ces conditions, on peut soit doser l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) directement soit transformer tout d'abord  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NH}_3$  et ensuite doser ce dernier. Dans le cadre de l'étude, c'est le  $\text{NH}_4^+$  qui a été dosé directement. Ainsi donc, on a accès à la masse d'azote par unité de masse de fèces ou par volume d'urines.

La minéralisation est réalisée en introduisant dans un matras 2g de selles ou 10ml d'urine dans 10ml d'acide sulfurique concentré avec quelques billes de verre et une pointe de spatule de catalyseur de minéralisation.

Après minéralisation, le minéralisat est transvasé dans une fiole jaugée de 200ml puis complété à 200ml. Le dosage de  $\text{NH}_4^+$  est effectué directement par bandelettes et ainsi, on peut par calcul, déterminer la masse d'azote par masse de selles ou par volume d'urine.



### **3- PARTIE INSTRUCTIVE**

Comme indiqué dans le contexte, cette partie du manuel inclut des recommandations, des conseils, des instructions et des discussions destinés à toute personne intéressée par la mise sur pied d'un système d'assainissement écologique. Elle est structurée comme suit :

- Différents organismes présents dans les excréta
- Précautions hygiéniques à respecter par les usagers des ouvrages, les manipulateurs des excréta et les consommateurs des produits agricoles.
- Analyses à effectuer au laboratoire ou sur le terrain avec des instruments bactériologiques, parasitologiques et physico-chimiques : valeurs limites et périodicité.
  
- Indicateurs pour l'estimation visuelle, tactile et olfactive de l'hygiénisation des produits.

#### **3.1. *Différents organismes présents dans les excréta***

Les excréta sont une cause fréquente de maladies du fait de leur teneur élevée en agents pathogènes.

Il importe de bien connaître les agents pathogènes et les maladies dont ils sont les causes pour que la conception, l'exploitation ou la modification des systèmes de recyclage n'entraînent pas une intensification de la transmission.

Nous présentons dans les tableaux ci-dessous, un panorama des principaux agents pathogènes liés aux excréta par domaine d'appartenance microbiologique, les affections dont il sont responsables, les modalités de transmission dans l'environnement et leur localisation anatomique dans l'organisme de l'homme.

## 3.1.1 Infections virales

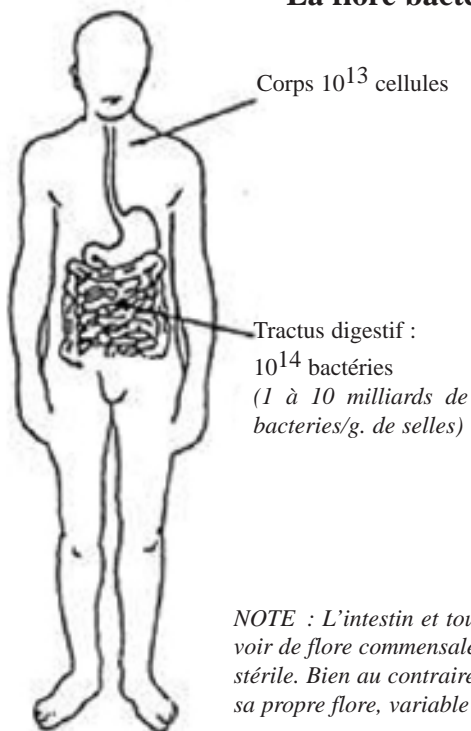
Agents pathogènes (Types de virus)	Affections	Modalités de transmission	Localisation anatomique
Rotavirus (groupe A)	Diarrhées aiguës chez les enfants de moins de 3 ans	Transmission fécale orale	Cellules matures du sommet des villosités de l'intestin grêle
Adénovirus (Type 40,41)	Voies respiratoires ; diarrhées aiguës chez les enfants de moins de 3 ans	Transmission fécale orale	Cellules matures du sommet des villosités de l'intestin grêle
Calicivirus (géo-groupe III, SLV)	Diarrhées aiguës chez les jeunes enfants gastro-entérites.	Transmission fécale orale	Cellules matures du sommet des villosités de l'intestin grêle
Astrovirus	Atteinte gastro-entérite	Transmission fécale orale	Cellules matures du sommet des villosités de l'intestin grêle
Virus du type Norwalk (géo-groupe I, II)	Diarrhées aiguës chez	Transmission fécale orale	Intestin grêle
Parvovirus (enterovirus)	Diarrhées aiguës chez	Informations suffisantes	Intestin grêle
Coronavirus	Pas de maladie entérale bien définie diarrhées chez les animaux	Informations suffisantes	Intestin grêle
Enterovirus	Gastro-entérite méningite aseptique et maladie fébrile des nouveau-nés.	Voie fécale-orale, par des doigts ou des objets inanimés contaminés par des matières fécales inoculation directe dans l'œil à partir des doigts de la mère au fœtus par voie transplacentaire	Cellules épithéliales de la muqueuse digestive ; tissu lymphoïde sous-muqueux des amygdales tractus gastro-intestinal.
Réovirus	Infections asymptomatiques ; atteintes respiratoires haute gastro-entérite du nourrisson encephalite	Mode de transmission par encore connu.	Tissus hépato-biliaires.

## 3.1.2. Infections bactériennes

Agents pathogènes (Types de virus)	Affections	Modalités de transmission	Localisation anatomique
<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra, maladie diarrhéique aiguë	Infection accidentelle par ingestion d'eau contaminée par des matières fécales ; consommation au restaurant ou à domicile d'aliments contaminés	Intestin grêle, estomac
<i>Escherichia coli</i>	Infection à <i>Escherichia coli</i> gastro-entérite colite	Voie fécale-orale par l'intermédiaire d'aliments et d'eau contaminés et de personne à personne.	Lumière intestinale muqueuse du grêle
<i>Salmonella typhi</i> et <i>S. paratyphi</i>	Salmonellose fièvre typhoïde gastro-extérites	Transmission par voie orale par l'intermédiaire d'aliments ou d'eau contaminés	Intestin grêle
<i>Shigella</i> sp.	Shigellose, colite inflammatoire, infectieuse aiguë. « Dysentérie bacillaire ».	Transmission de personne à personne par voie fécale-orale par contact direct ; mais parfois par l'intermédiaire d'aliments contaminés tels que les aliments de l'eau, des insectes et des objets, transmission durant des baignades dans des piscines ou des lacs contaminés par des matières fécales.	Cellules épithéliales de l'intestin
<i>Salmonella typhi</i> et <i>paratyphi</i>	Fièvre typhoïde	Contact étroit avec personnes atteintes d'infection aiguë ou avec des porteurs chroniques. Ingestion d'alimentation, d'eau contaminées ; parfois atteintes inflammatoires suppurées, par exemple arthrite réactive.	Intestin grêle
<i>Yersinia enterocolitica</i> et <i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Yersinioses</i> entérite ou entérococolite avec diarrhée. Adénite aiguë mésentérique et ilicite	Transmission par voie orale	
<i>Campylobacter</i> sp. Et espèces apparantées, <i>Arco</i> <i>bacter</i> et <i>Helicobacter</i>	Infections à <i>Campylobacter</i> . Infections pyogènes maladies diarrhéiques.	Transmission à l'homme par des aliments crus ou insuffisamment cuits ou par contact direct avec des animaux infectés ; ingestion de volaille contaminée insuffisamment cuite, de lait cru non pasteurisé ou d'eau non traitée	Tube digestif de nombreux animaux consommés par l'homme.

## La pollution microbiologique

### La flore bactérienne des matières fécales



### FLORE ET ECOSYSTEME INTESTINAL

Le tube digestif de l'homme héberge  $10^{14}$  micro-organismes soit 1 à 10 milliards de germes par gramme de matières fécales. Le tube digestif et les populations microbiennes qu'il abrite forme "un écosystème". Toute modification de l'un ou de l'autre de ses constituants perturbe l'équilibre et le fonctionnement de l'ensemble de l'écosystème avec les conséquences qui découlent.

*NOTE : L'intestin et tout particulièrement le colon, apparaît donc comme un grand réservoir de flore commensale. Il ne faudrait pourtant pas croire que le reste du tube digestif soit stérile. Bien au contraire chacun de ses segments anatomiques, estomac y compris, possède sa propre flore, variable par le nombre et la nature des espèces en cause.*

### Flore normale

- plus de 400 espèces au sein de la flore intestinale de l'homme ; 99% des espèces de bactéries fécales cultivables sont des espèces anaérobies strictes.
- variations qualitatives en fonction de l'âge, de la nourriture et de l'étage du tube digestif considéré avec un gradient croissant dans le sens oral-anal.

Cette flore contient trois types de microorganismes, à la destinée bien différente :

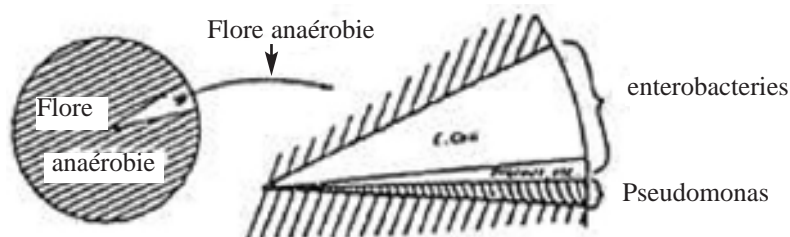
- LES ESPECES APPELEES " DOMINANTES " en majeure partie anaérobies strictes ; Bactéroïdes, Eubactérium, Clostridium, Plectridium... sont particulièrement abondantes et stables ; chaque espèce représente une population de  $10^7$  à  $10^{10}$

bactéries/gramme de selles. Véritables habitants de l'intestin, ces espèces constituent la " flore de barrière" qui régit l'implantation et la multiplication des autres espèces.

LA FLORE SOUS-DOMINANTE,  $10^5$  à  $10^6$  bactéries par gramme de selles- ; Entérobactéries dont *Escherichia coli* (colibacille), *Entérocoque* (entérocoque) ... quoique implantée, elle voit sa multiplication limitée par la flore barrière.

LA FLORE "SECONDAIRE" : (*Pseudomonas*...)

LES BACTERIES EN TRANSIT, apportées par l'alimentation, ne peuvent habituellement s'implanter et sont rapidement éliminées.



Répartition schématique de la flore des selles

*La présence dans une eau de certaines bactéries existant en abondance à l'état normal dans l'intestin de l'homme et des animaux, permet de conclure à une pollution de l'eau par des matières fécales. Une telle constatation permet de supposer que des microorganismes dangereux, responsables d'infections d'origine digestive, ont pu accompagner ces bactéries-tests : on parle de " péril fécal". C'est sur cette hypothèse qu'est basé le contrôle hygiénique de l'eau et des denrées alimentaires en général.*

### 1° Les coliformes "thermotolérants"

Les coliformes sont des bacilles gram négatif identifiables par certaines propriétés biochimiques (voire fiches techniques sur la colimétrie). Les coliformes "thermotolérants" représentés surtout par *Escherichia coli* ( le colibacille) ont les mêmes propriétés à 44°, leur présence doit être confirmée pour affirmer une contamination fécale humaine. Il faut noter que certaines souches d'*Escherichia coli* peuvent avoir un pouvoir pathogène propre.

### 2° Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Cette recherche des streptocoques fécaux (entérocoques), témoins sensibles, assez résistants et d'une bonne spécialité, est le complément de la colimétrie. Elle est importante pour le dépistage des contaminations fécales des eaux de qualité suspecte, destinées à des utilisations nouvelles ; l'interprétation des coliformes s'avère en effet parfois difficile. Si elle est inutile pour l'étude des eaux traitées, cette recherche est indispensable pour l'étude des eaux non traitées des régions rurales : puits de campagne.

Cette technique comprend deux temps : test présomptif et test confirmatif.

### 3° Recherche et numération des " Clostridium" sulfito-réducteurs

Ces bactéries anaérobies sporulées appartenant à l'espèce *Clostridium perfringens* sont très résistantes grâce à leur spore. Leur présence peut témoigner :

dans une eau  
non traitée

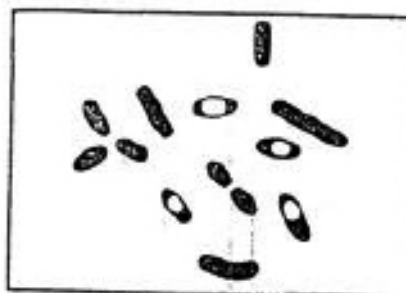
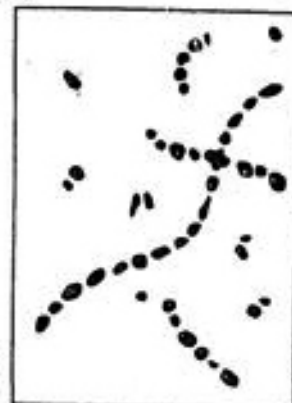
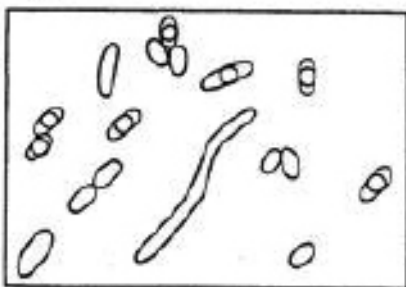
-d'une contamination organique dangereuse mais ancienne ou intermittente.

L'interprétation doit être nuancée : la présence possible de *C. perfringens* d'origine tellurique (venant du sol) peut rendre une conclusion difficile.

Leur présence abondante ou permanente peut indiquer une malpropreté du système de distribution ou une défaillance du processus de filtration (naturelle ou artificielle).

Dans une eau  
traitée

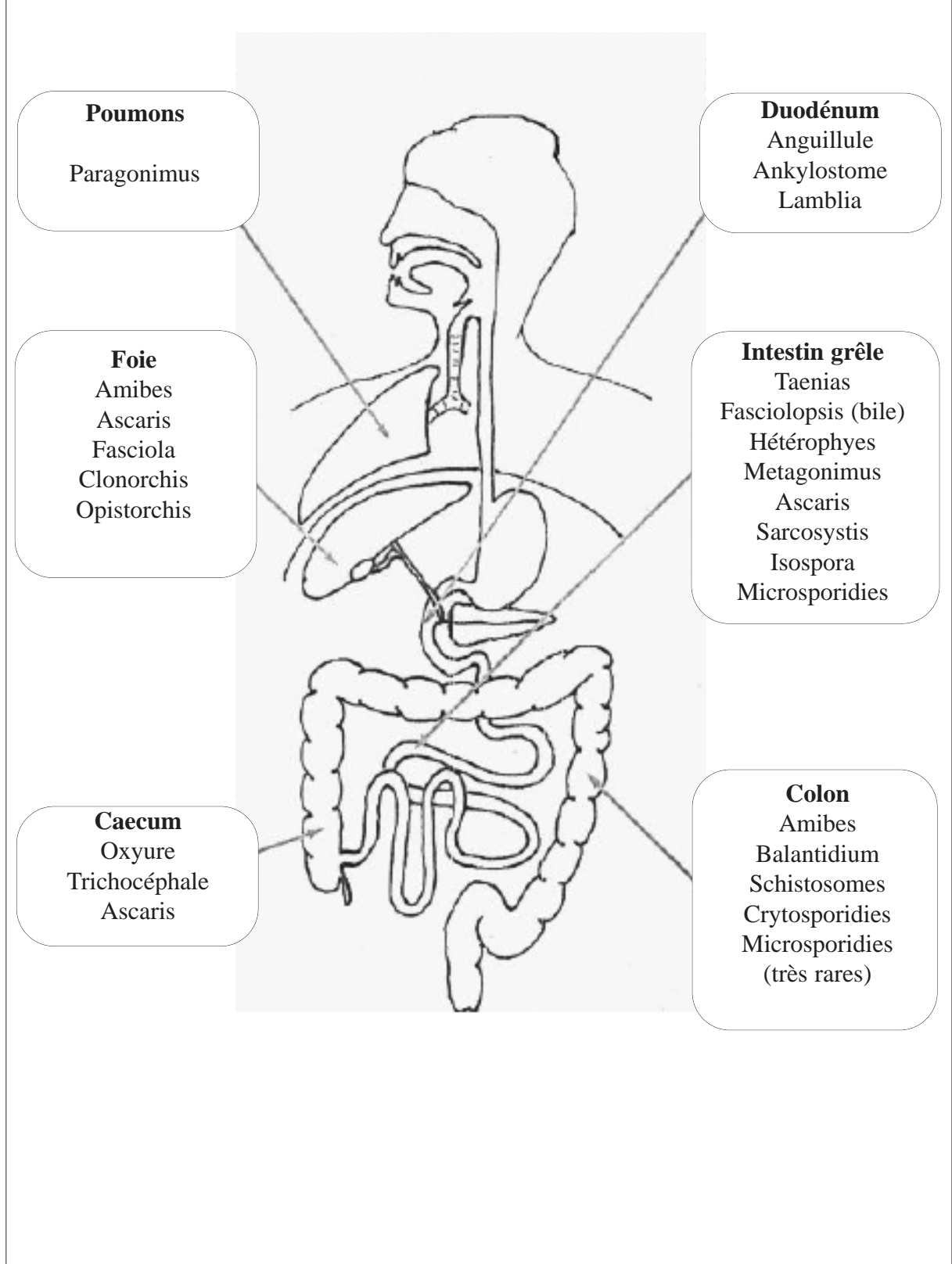
la présence de ces bactéries en petit nombre est possible



## 3.1.3. Parasitoses intestinales

Agents pathogènes (Types de virus)	Affections	Modalités de transmission	Localisation anatomique
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amibiase	Ingestion de kystes viables provenant d'eau, d'aliments ou de mains contaminées par des matières fécales	Lumière intestinale, paroi colique cellules hépatiques ;
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiase maladie intestinale et de diarrhées endémiques et épidémiques	Ingestion de kystes	Épithélium intestinal
<i>Cryptosporidium</i>	Cryptosporidiose, maladie diarrhéique	Ingestion d'ooocystes	Cellules de l'épithélium intestinal
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	Cyclosporoze, maladie diarrhéique, syndrome grippal des éructations	Transmission hydrique et par des framboises importées	Cellules épithéliales des échantillons du biopsiques du grêle ;
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiase maladie colique	Transmission de personne à personne. Ingestion de kystes provenant de fèces de porcs.	Côlon
<b>Nématodes intestinaux</b>			
<i>Ascaris lumbricoïdes</i>	Ascariotose	Ingestion d'œufs infestants mains souillées de matières fécales	Lumière de l'intestin grêle
<i>Ancylostoma duodenale</i> et <i>Necator et americanus</i>	Ankylostomiase	Pénétration cutanée de la larve strongyloïde	Muqueuse du grêle
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Anguillulose ou strongyloïde	Pénétration entamée de la larve filariforme	Muqueuse duodé-nojejunaie
<i>Trichuris trichiura</i>	Trichocephalose, Syndromes gastro- intestinaux	Ingestion d'œufs infestants	Côlon et caecum
<i>Enterobius vermicularis</i>	Oxyurose = Enterobiase ; Prurit anal	Ingestion d'œufs présents sur les mains ou sous les ongles	Lumière intestinale ; région périanale

**PRINCIPALES LOCALISATIONS DES ORGANISMES  
DIAGNOSTIQUES EN COPROLOGIE PARASITAIRE**



## 3.1.4. Distomatoses, ténias et schistosomoses

<b>DISTOMATOSES</b>			
<i>Fasciolopsis buski</i> <i>Heterophyes heterophyes</i>	Distomatoses intestinales : diarrhées, douleurs abdominales	Ingestion de métacercaires fixées sur des plantes aquatiques ou enkystées dans des poissons	Intestin
<i>Clonorchis sinensis</i> <i>Opisthorchis felneus</i>	Distomatoses hepato-biliaires	Ingestion de poisson d'eau douce porteur de métacercaires	Canalicules biliaires
<i>Fasciola hepatica Fasciola gigantica</i>	Fasciolase	Ingestion de métacercaires fixées à certaines plantes aquatiques ; consommation d'eau contaminée ou ingestion d'aliments lavés avec une telle eau	Voies biliaires
<i>Paragonimus sp.</i>	Distomatoses pulmonaires	Ingestion de métacercaires vivantes enkystées dans les muscles et les viscères d'écrevisses et de crabes d'eau douce.	Poumons ; système nerveux central ; cavité abdominale
<i>Taenia saginata</i>	Teniase à <i>T. saginata</i>	Ingestion avec la viande de bœuf crue ou insuffisamment cuite de <i>Cysticercus bovis</i>	Partie haute du jejunum
<i>Taenia solium</i>	Teniase à <i>T. solium</i> et Cysticercose	Ingestion de la viande de porc insuffisamment cuite contenant des cysticerques Ingestion d'œufs de <i>T. solium</i> contenus dans des aliments contaminés par des matières fécales. Une autre infestation peut se produire si un individu ayant un ténia produisant des œufs ingère des œufs provenant de ses selles.	Ténia adulte dans l'intestin ; larves dans les tissus
<i>Hymenolepis nana</i>	Hymenolepiase	Voie fécale-orale.	Iléon proximal
<i>Diphyllobothrium latum</i>	Bothriocephalose	Ingestion de poisson cru infesté par la larve plérocercarioïde	Muqueuse iléale parfois muqueuse jejunaie
<i>Schistosoma mansoni</i> ; <i>S. japonicum</i> ; <i>S. melongi</i> ; <i>S. intercalatum</i> ; <i>S. haematobium</i>	Schistosomoses intestinales  Schistosomose vésicale	Pénétration à travers la peau de furcocercaires	Veines intestinales, veines végétales



### **3.2. Précautions hygiéniques à respecter par les usagers des ouvrages ECOSAN et les manipulateurs des produits**

Il est important

- De connaître les risques sanitaires liés à la mise sur pied d'un système d'assainissement écologique.
- De savoir pourquoi les excréta sont contaminés, d'être en mesure de les hygiéniser.

Il est plus important d'empêcher ou de limiter la contamination des usagers, des manipulations et des agriculteurs.

La prévention est l'affaire de tous.

La meilleure prévention est l'éducation pour la santé.

Prenant en compte les problèmes des excréta, il faut :

- Expliquer comment les germes responsables des affections bactériennes, parasitaires et virales pénètrent dans l'organisme humain.
- Améliorer les conditions d'hygiène pour empêcher ou limiter la pollution
  - Par une bonne utilisation des ouvrages qui doivent être entretenus proprement.
  - Par une bonne conservation des produits agricoles
  - Par le lavage fréquent des mains.

#### *3.2.1. Utilisation des latrines*

Quand les habitants disposent de latrines, il faut s'assurer qu'elles sont utilisées correctement, c'est-à-dire que :

- Des excréments ne souillent pas les sièges et la dalle qui recouvre les latrines
- Les latrines sont régulièrement récupérés et nettoyés
- Un stock de cendre est toujours disponible dans l'enceinte.
- Tous les membres du ménage utilisent la latrine
- La fosse est toujours fermée par un couvercle quand les latrines ne sont pas utilisées.
- Les usagers ont constamment à leur disposition des matériaux pour se nettoyer (eau, feuilles, papier)
- La fosse pleine est remplacée par une nouvelle, de même que les bidons d'urines pleins sont enlevés et remplacés par un nouveau.

#### *3.2.2. Hygiène générale et hygiène des mains*

Si l'on ne se lave pas soigneusement les mains après être allé à la selle ou après avoir travaillé, celles-ci peuvent transporter les germes responsables de maladies.

Se laver soigneusement les mains à l'eau et au savon systématiquement dans les cas suivants :

- Après être allé à la selle ou à la fin du travail.
- Avant de préparer les repas, de les servir ou de manger
- Avant de donner à manger aux enfants.

### 3.2.3. Hygiène alimentaire

Les aliments ou les produits agricoles peuvent contenir des germes pathogènes lorsque :

- Ils ne sont pas frais
- Ils sont conservés dans un endroit chaud
- Ils sont exposés aux animaux notamment aux mouches et autres insectes et aux rats.
- Les cultures sont arrosées avec des eaux douteuses. Eviter de préparer et de manger des aliments ainsi exposés.
- Protéger tous les aliments contre la contamination
- Laver et désinfecter les produits de récoltes qui peuvent être consommés crus (laitue, poivron, tomate)
- Toujours bien cuire les aliments et les consommer immédiatement.

### 3.2.4. Prévention de la contamination du local

- Prévoir des ouvertures de vidange qui seront fermées avec une dalle ou une plaque chauffante. La plaque chauffante fera augmenter la température dans la fosse.
- Protéger les portes et les tuyaux d'aération avec des grillages pour éviter que les mouches, les moustiques et les cafards entrent et déposent leurs œufs dans les fosses
- Bien fermer les récipients de collecte et de stockage des urines.
- Ajouter de la cendre au contenu de la fosse après chaque défécation pour faire augmenter le pH des fèces en fosse. Cela permet d'accélérer la destruction des agents pathogènes et de supprimer les mauvaises odeurs.

### 3.2.5. Protection des manipulateurs des excréta

- Mettre à leur disposition des outils adéquats : marteau, pelles, récipients, gants, cache-nez, bottes ou des cuissardes ;
- Respecter les délais d'hygiénisation des excréta avant de procéder à la vidange et à leur utilisation dans les champs
- Composter les matières fécales.

## 3.3. *Analyses à effectuer au labo ou sur le terrain avec des instruments : valeurs limites et périodicité*

Dans la première partie de ce document, nous avons présenté en détail les différentes analyses bactériologiques, parasitologiques et physico-chimiques à réaliser par des professionnels de l'assainissement écologique. Dans ce volet, nous nous limiterons à présenter aux personnes moins avantagées laissées à leur propre jugement, les analyses clés à réaliser dans la mise sur pied d'un système d'assainissement écologique. Le texte répondra aux trois questions : qu'est-ce qu'on va faire, comment va-t-on le faire et pourquoi doit-on le faire ?

### 3.3.1. Examen des selles

La fréquence des affections intestinales en zone tropicale met l'examen de selles au premier rang des activités en laboratoire.

L'étude parasitologique des selles par des techniques simples :

- examen direct
- enrichissement par la méthode de Kato donne de très bons résultats du fait de l'intensité du parasitisme.

L'étude bactériologique des selles limitée aux techniques de coloration, simples :

- bleu de méthylène
- Gram

Dans le cadre du système d'assainissement Ecosan, il s'avère nécessaire de faire aussi une étude physique-chimique. En effet, la température, le pH et l'azote des excreta jouent un rôle important dans le processus d'hygiénisation et la qualité fertilisante des excreta.

### 3.3.1.1 Parasitologie des selles

Tout examen parasitologique des selles doit comporter obligatoirement :

- Un examen direct d'un mince étalement pour la recherche des formes végétatives et kystiques des protozoaires et des flagellés, la mise en évidence des larves d'anguillule
- Un examen enrichi par la méthode de Kato, pour la recherche des œufs d'helminthes

### 3.3.1.2 Bactériologie des selles

Une étude bactériologique simple des selles reposant sur l'examen direct à l'état frais, la coloration par le bleu de méthylène et le Gram, est d'un intérêt certain dans l'enquête étiologique des diarrhées.

## 3.3.2 Examen des urines

### 3.3.2.1 Parasitologie des urines

La recherche des œufs de *Schistosoma haematobium* peut se faire par examen à l'état frais du culot urinaire après centrifugation. Cependant, le rendement est nettement meilleur avec la technique de filtration des urines.

### 3.3.2.2 Bactériologie des urines

Une infection urinaire peut facilement être détectée par simple coloration au bleu de méthylène.

Une contamination fécale des urines est indiquée par la présence dans l'urine de certaines bactéries existant en abondance à l'état normal dans l'intestin de l'homme et des animaux. L'OMS recommande de rechercher et de dénombrer quatre indicateurs bactériens :

- Les coliformes totaux
- Les coliformes fécaux
- Les streptocoques fécaux
- Les clostridium sulfito-réducteurs

Les coliformes "thermotolérants" représentés surtout par *Escherichia coli* (le colibacille) ont

les mêmes propriétés à 44° ; leur présence doit être confirmée pour affirmer une contamination fécale humaine. La recherche des coliformes (colimétrie) comprend deux temps : tests présomptifs, et test confirmatif

### 3.3.3. Analyses physico-chimiques des excréta

On peut se servir d'un multiparamètre MULTI 340 i WTW capable de mesurer la température, le pH et la conductivité (paramètres physiques). La conductivité qui traduit la minéralisation globale des échantillons est mesurée à l'aide d'une électrode Tetracon 325.

La mesure de température peut être faite à l'aide d'une électrode combinée de pH avec sonde de température du type Santrox 41-3.

Les paramètres chimiques qui caractérisent les éléments nutritifs du milieu, à savoir  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{N}_t$  sont mesurés par la méthode dite Kjeldahl .

### 3.3.4. Valeurs limites et périodicité

Nous référant aux recherches effectuées par les 7 Représentations nationales (Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée, Mali, Sénégal et Togo) ainsi que par le CREPA-Siège (Sabtenga) nous recommandons la durée d'hygiénisation des fèces de 12 mois pour les pays côtiers et de 6 à 8 mois pour les pays sahéliens selon les conditions locales.

Pour ce qui concerne les urines conservées dans un récipient de 25 litres hermétiquement fermé, la durée d'hygiénisation est de 30 jours.

### Les périodicités des mesures sont les suivantes :

- pour les urines

T 0 = Temps zéro : remplissage et fermeture du bidon

T10 = Temps 10 : 10 jours après la fermeture

T20 = Temps 20 : 20 jours après la fermeture

T30 = Temps 30 : 30 jours après la fermeture

T45 = Temps 45 : 45 jours après la fermeture

- pour les fèces

T 0 = Temps zéro : fermeture de la fosse

T15 = Temps quinze = quinze jours après la fermeture

T30 = Temps 30 = 30 jours après la fermeture

T45 = Temps 45 = 45 jours après la fermeture

et ceci jusqu'à 6 à 8 mois pour les pays sahéliens et 12 mois pour les pays côtiers à forte pluviométrie.

**Valeurs limites**

Les experts ayant participé à la première réunion au projet sur l'utilisation sans risque des déchets d'origine humaine en agriculture et aquaculture (Engelberg, Suisse 1985) ont passé en revue les observations épidémiologiques sur cette pratique en agriculture et ont établi des critères dits d'Engelberg pour la qualité microbiologique des eaux résiduaires traitées destinées à l'irrigation. D'après leurs recommandations, ces eaux devraient contenir :

- Moins de 1 œuf viable de nématode intestinal par litre (en moyenne arithmétique) pour l'irrigation avec ou sans limitation ;
- Moins de 1000 coliformes fécaux pour 1000 millilitres (en moyenne géométrique) pour l'irrigation sans limitation.

L'irrigation sans limitation concerne les arbres, le fourrage et les plantes industrielles, les arbres fruitiers et les pâturages, tandis que l'irrigation avec limitation concerne les plantes comestibles, les terrains de sport et les parcs publics.

Les critères ci-dessus sont également applicables en agriculture lorsqu'on utilise les excréta par exemple sous forme de gadoues liquides, comme engrais pendant la période de croissance végétale. Nous pensons que ces critères peuvent l'être également dans le cadre du système d'assainissement écologique où l'on utilise les excréta en agriculture.

La valeur recommandée pour les œufs de nématodes intestinaux vise à protéger la santé des ouvriers agricoles comme celle des consommateurs et elle suppose que les œufs soient éliminés des eaux résiduelles dans une forte proportion (plus de 99%). Le critère est conforme aux recommandations antérieures et aux normes actuelles en vigueur pour les eaux de baignade, par exemple et suffit largement à protéger la santé du consommateur.

Des recommandations sur la qualité microbiologique des excréta et des eaux résiduelles traités destinés à être utilisés en aquaculture ont été formulées lors de la seconde réunion organisée à Adelboden (Suisse) en juin 1987. Il a été recommandé que le nombre d'œufs viables de trématodes soit égal à zéro par litre ou par kilogramme (en moyenne arithmétique) et que le nombre de coliformes fécaux soit inférieur à 10.000 pour 100 millimètres ou 100 grammes (en moyenne géométrique). Le critère extrêmement rigoureux fixé pour les trématodes est indispensable car ces agents pathogènes prolifèrent chez leur premier hôte aquatique intermédiaire. Le critère recommandé pour les coliformes fécaux implique une réduction de 90% du nombre de ces bactéries dans les bassins, de façon que les poissons et les plantes aquatiques comestibles ne soient pas exposés à plus de 1000 coliformes fécaux pour 100 millilitres.

**3.3.5. Analyses bactériologiques et parasitologiques des produits agricoles****3.3.5.1. Analyses bactériologiques**

Le contrôle microbiologique sur les légumes frais est tout à fait exceptionnel. Les germes présentant un intérêt hygiénique ne sont que rarement rencontrés. Cependant, les légumes peuvent être récoltés d'un sol contaminé et traités par des moyens inadéquats avant leur consommation.

Dans ces conditions, on peut assister à l'apparition de maladies après consommation des légumes contaminés. C'est pourquoi il s'avère important d'évaluer le degré de pollution superficielle. Cela nous amène à rechercher et à dénombrer les indicateurs de contamination fécale

dont les coliformes fécaux et totaux, les streptocoques qui peuvent se trouver sur les légumes au moment de leur récolte et/ou de leur consommation.

### ***Echantillonnage***

Analyser des échantillons prélevés dans les champs ou les jardins et sur les marchés. Prendre les échantillons dans des sachets neufs. Bien emballer les échantillons de façon à éviter une contamination ultérieure et les transporter directement au laboratoire.

### ***Préparation de l'échantillon pour analyse***

Dans un Erlenmeyer stérilisé, peser 25 g de l'échantillon et ajouter 225 ml d'eau distillée pour le lavage de l'échantillon. En lavant convenablement l'échantillon, on peut éliminer les micro-organismes qui peuvent se retrouver dans l'eau de lavage. C'est cette eau qu'il faudra analyser pour déterminer la pollution superficielle.

### ***Méthodes d'analyse***

Les paramètres étudiés sont :

- les germes mésophiles totaux ;
- les indicateurs de contamination fécale dont :
  - les coliformes totaux et fécaux,
  - les streptocoques fécaux,
  - les anaérobies sulfite-réducteurs (ASR),

Les techniques utilisées varient en fonction des paramètres :

## DILUTION

Elle a pour but d'obtenir dans l'innoculum, une distribution homogène des germes recherchés. Le diluant utilisé est l'Eau peptonée tamponnée (EPT).

Dans un tube à essai contenant 9 ml de diluant (EPT), nous ajoutons 1ml d'échantillon et nous homogénéisons pour obtenir une dilution au  $1/10^e$ . 1ml de cette dilution est ajouté à 9ml de diluant pour obtenir une dilution au  $1/100^e$ , ainsi de suite pour obtenir la dilution à  $1/10^{nième}$ .

Dans nos recherches, nous pouvons nous arrêter à  $1/10^5$ .

## NUMERATION DES GERMES MESOPHILES TOTAUX OU ETUDE DE LA POPULATION BACTERIENNE

Pour la numération des germes mésophiles totaux, on utilise la gélose Plant Count Agar (PCA).

Cette numération permet d'apprécier l'importance de la population bactérienne dans les échantillons. La technique est la suivante :

- Introduire 1 ml d'échantillon brut ou de ses dilutions dans 4 boîtes de pétri stérilisées ;
- Couler dessus 15 à 20 ml de gélose PCA maintenue en surfusion à la température de  $44^{\circ}\text{C}$  ;
- Homogénéiser par rotation de la boîte de pétri sur un plan horizontal ;
- Laisser solidifier sur ce plan ;
- Porter les boîtes, les couvercles dessous, à étuve : deux à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures et les deux autres

- à 30°C pendant 48 heures ;
- Compter les colonies qui se sont développées dans chaque boîte et porter le nombre à la dilution.

***NB*** : Les colonies des deux boîtes de chaque dilutionensemencées et incubées à la même température sont énumérées. La moyenne arithmétique des colonies comptées dans les 2 boîtes de la même dilution constitue le résultat.

La variation de la température, 30 et 37°C, permet d'avoir une idée sur l'origine probable de la contamination. Les germes de l'environnement se développent mieux à 30°C tandis que ceux d'origine humaine ou animale préfèrent 37°C.

## TESTS DE CONTAMINATION FECALE

Les tests de contamination fécale sont la recherche et la numération des germes indicateurs de contamination fécale ou des germes qui vivent généralement dans l'intestin de l'homme ou des animaux à sang chaud.

## COLIMETRIE

La colimétrie est la recherche et la numération des coliformes totaux avec identification des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux. Les coliformes sont des entérobactéries Gram négatif avec aptitude caractéristique de fermenter plus ou moins rapidement le lactose avec production d'acide et de gaz à 30 - 37°C.

Pour leur numération, nous avons utilisé la technique de tubes multiples qui nous permet de donner les résultats en Nombre le plus probable (NPP) pour 100 ml d'échantillon.

La colimétrie passe par 2 tests :

- **Test présomptif**

Le test présomptif consiste à ensemencer l'échantillon suivant la technique des tubes multiples. Après 24 – 48 heures, les tubes présumés positifs présentent une turbidité et une production de gaz visible dans la cloche de Durham.

- **Test confirmatif**

Au test de confirmation, on caractérise les coliformes dans leur ensemble (coliformes totaux) et les coliformes fécaux ou coliformes thermotolérants :

### Coliformes totaux

A partir du tube présumé positif au test présomptif, on repique une anse bouclée de culture en Mac Conkey ou de bouillon lactosé billé au vert brillant (BLBVB) que l'on incube à 37°C pendant 24 heures. S'il y a pousse, c'est-à-dire trouble dans le milieu et production de gaz, on considère que le test de confirmation est positif.

### Coliformes fécaux

A partir du tube présumé positif au test présomptif, on repique une anse bouclée de culture en

Mac Conkey que l'on incube à 44 +0,5°C pendant 24-48 heures et le milieu urée indole que l'on incube à 37°C pendant 24-48 heures. S'il y a pousse, c'est-à-dire trouble dans le milieu Mac Conkey et production de gaz, on conclut à la présence de coliformes thermotolérants ou fécaux dans l'échantillon.

#### RECHERCHE ET NUMÉRATION DES STREPTOCOQUES FÉCAUX

Les streptocoques fécaux sont des aérobies-anaérobies facultatifs faisant partie des indicateurs de contamination fécale mais plus résistants dans le milieu extérieur que les coliformes. Pour leur mise en évidence dans les échantillons, nous avons utilisé la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

- **Présomption**

L'échantillon brut estensemencé dans une série de 9 tubes contenant 10ml de milieu de Rothe. Après 24 heures d'incubation à 37°Cn, le tube présentant une louche microbienne est considéré comme suspect.

- **Confirmation**

A partir du tube présumé positif, et après agitation, nous ensemencions par stries avec une anse bouclée une boîte de pétri contenant le milieu d'identification des streptocoques : D-Coccosel. La lecture est faite 24 heures après l'incubation à 37°C. Les streptocoques du groupe D se présentent sous forme de petites colonies translucides entourées d'un halo noir sur le milieu.

#### RECHERCHE ET NUMÉRATION DES ANAÉROBIES SUFFITO-RÉDUCTEURS (ASR)

Les sulfito-réducteurs sont des bactéries anaérobies strictes Gram positifs appartenant au genre Clostridium.

Pour leur mise en évidence dans les échantillons, on procède de la façon suivante :

L'échantillon brut et ses dilutions sontensemencées dans un tube contenant de la gélose viande-foie (v.f) en surfsusion et stérilisé auquel on ajoute extemporanément 0,5 ml de citrate ammoniacal de fer et 0,5ml de disulfite de sodium. Dans 10 ml de gélose viande-foie, nous ensemencions 1 ml de l'échantillon brut ou de ses dilutions puis refroidissons immédiatement le tube à l'eau de robinet et incubons pendant 24-48 heures à 37°C.

Après 24-48 heures d'incubation, nous procédons à la numération des colonies caractéristiques, distinctes, formant des points noirs. Le nombre rapporté à la dilution donne le nombre de colonies.

#### 3.3.5.2. Examens parasitologiques de l'eau de lavage des produits agricoles

- Introduire dans un tube à centrifuger un volume de 50 ml d'échantillon (de préférence 2 tubes par échantillon);
- Centrifuger pendant 10 min à 4000 tr/min ;
- Jeter d'un seul coup le surnageant ;
- Homogénéiser le dépôt ;
- A l'aide d'une pipette Pasteur, déposer une goutte de dépôt sur une lame ;



- Couvrir avec une lamelle ;
- Porter le dispositif à l'observation au microscope.

### ***3.4. Indicateurs pour l'estimation visuelle, tactile et olfactive de l'hygiénisation des excréta hygiénisés et des produits agricoles***

#### *3.4.1. Indicateurs pour l'estimation de l'efficacité de l'hygiénisation des fèces*

Il s'agit de s'attarder ici, sur l'appréciation macroscopique surtout et dire que les fèces bien hygiénisés doivent être secs, friables et inodores, dont la consistance rappelle un sol friable.

#### *3.4.2. Indicateurs pour l'estimation visuelle, tactile et olfactive de l'hygiénisation des produits agricoles*

L'évaluation sensorielle est une discipline scientifique chargée d'évaluer, de mesurer, d'analyser et d'interpréter les réactions aux caractéristiques des aliments et des matières tels que perçus par les sens de la vue, de l'odorat, du goût et de l'ouïe. Cette évaluation est réalisée par des consommateurs potentiels ou par des gens bien sélectionnés pour les divers tests ou épreuves.

Il existe :

- des techniques sensorielles de différenciation
- des techniques sensorielles de notation et de cotation
- des techniques sensorielles analytiques ou descriptives.

Nous présentons les différentes techniques d'évaluation sensorielles dans les différents tableaux ci-dessous.

Les résultats des tests sensoriels seront traités par ANOVA

Ce n'est qu'en utilisant différentes techniques d'évaluation sensorielle des produits cultivés que l'appréciation des consommateurs sera évaluée de manière scientifique.

Tableau 1 : Techniques sensorielles de différenciation

LES METHODES DE DIFFERENCIATION			
NOM	MODALITES DE MISE EN ŒUVRE	AVANTAGES	INCONVENIENTS ET PRECAUTIONS
L'épreuve triangulaire	Elle consiste à présenter 2 produits dont l'un est répété. Le sujet reçoit donc 3 produits codés et il est invité à déterminer les produits non répétés	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aisée à comprendre</li> <li>- Résultats faciles à interpréter</li> <li>- Epreuve type de discrimination quand la (ou les) caractéristique(s) modifiée(s) n'est (ne sont) pas supposée(s) à priori.</li> <li>- Les différences recherchées entre produits sont généralement très faibles (sinon l'animateur ferait appel à une épreuve plus économique telle que l'épreuve par paire).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Veiller à présenter les échantillons un nombre égal de fois dans chacune des trois positions</li> <li>- Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations entre les échantillons (différence de température, quantité présentée..)</li> <li>- Codage des produits. Eviter les associations implicites entre codes.</li> <li>- Comme cette épreuve consiste à demander de déterminer l'échantillon non répété, le sujet prendra en compte toutes les informations sensorielles dont il peut disposer.</li> </ul>
L'épreuve A – non A	Elle consiste à apprendre au sujet à reconnaître le produit A (sauf s'il est supposé le connaître au préalable) et à lui proposer ensuite, une série de produits, le sujet étant invité à déterminer pour chaque produit s'il est ou non identique à A	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elle est recommandée pour les échantillons alimentaires ayant un arrière-goût tenace</li> <li>- Economique puisqu'elle peut être réalisée avec deux produits seulement.</li> <li>- Adaptée à la détermination des seuils.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations entre les échantillons (différence de température, quantité présentée,...)</li> <li>- Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences perçues.</li> </ul>

Tableau 1 : Techniques sensorielles de différenciation (suite)

LES METHODES DE DIFFERENCIATION			
NOM	MODALITES DE MISE EN ŒUVRE	AVANTAGES	INCONVENIENTS ET PRECAUTIONS
L'épreuve duo - trio	Elle consiste à présenter 2 produits dont l'un est répété et représenté comme témoin. Le sujet reçoit donc 3 produits, l'un est indiqué explicitement comme témoin et le sujet est invité à déterminer parmi les produits celui qui est identique au témoin.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elle est recommandée pour les échantillons alimentaires présentant un arrière-goût intense, car elle exige moins de prise d'échantillons que l'épreuve triangulaire.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations entre les échantillons (différence de température, quantité présentée..)</li> <li>- Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences perçues.</li> </ul>
L'épreuve 2 / 5	5 produits sont proposés au sujet : il doit les répartir en deux classes de 3 produits et de 2 produits.	Excellente épreuve de sélection puisqu'il n'existe que peu de chances pour qu'un individu ne percevant aucune différence entre échantillons, obtienne un résultat correct	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Difficile lorsque le sujet est peu modifié</li> <li>- Implique que la nature des différences soit spécifiée.</li> <li>- Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner les échantillons (différence de température, quantité présentée.)</li> <li>- Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences perçues.</li> </ul>
L'épreuve par paire	C'est une épreuve de classement qui porte sur deux produits.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Facile à pratiquer</li> <li>- Efficace du point de vue sensoriel.</li> <li>- Adaptée aux petits enfants et aux illettrés.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Doit être impérativement utilisée à la place de l'épreuve triangulaire si la différence recherchée peut être déterminée par l'expérimentateur.</li> </ul>

Tableau 1 : Techniques sensorielles de différenciation (suite)

LES METHODES DE DIFFERENCIATION			
NOM	MODALITES DE MISE EN ŒUVRE	AVANTAGES	INCONVENIENTS ET PRECAUTIONS
L'épreuve duale standard	Proche de l'épreuve duo-trio mais au lieu de présenter au sujet un témoin, on lui présente un témoin et un autre échantillon. Après les avoir examinés attentivement, les produits lui sont retirés puis représentés à nouveau comme inconnus. Il doit alors les identifier.	- Interprétation aisée	- Les produits testés doivent présenter des différences peu marquées. - Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations (différence de température, quantité présentée...) - Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences perçues.
L'épreuve multiple standard	Utilisée quand le témoin ne peut être représenté par un seul produit, par exemple quand il existe une variabilité importante. On présente au sujet plusieurs standards représentant le produit type (présentant des facettes légèrement différentes du produit type) ainsi que l'échantillon inconnu. Le sujet est alors invité à choisir l'échantillon qui diffère le plus de tous les autres.	- Résultats assez fins	- Les produits testés doivent présenter des différences marquées. - Interprétation délicate. - Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations entre les échantillons (différence de température, quantité présentée...) - Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences perçues

Tableau 1 : Techniques sensorielles de différenciation (suite)

LES METHODES DE DIFFERENCIATION			
NOM	MODALITES DE MISE EN ŒUVRE	AVANTAGES	INCONVENIENTS ET PRECAUTIONS
L'épreuve quadrangulaire ou tétraédrique	Ce test est identique à l'épreuve triangulaire si ce n'est que les deux produits sont tous deux répétés	- Aisée à comprendre. - Résultats assez faciles à interpréter. - Epreuve de discrimination quand la (ou les) caractéristique(s) modifiée(s) n'est (ne sont) pas supposée(s) a priori. - Les différences recherchées entre produits sont généralement très faibles (sinon l'animateur ferait appel à une épreuve plus économique telle que l'épreuve par paire).	- Les produits testés doivent présenter des différences peu marquées. - Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations entre les échantillons (différence de température, quantité présentée...) - Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences perçues.
L'épreuve de quantification Parmi les échantillons-essais, un ou deux témoins cachés sont généralement introduits sans que le sujet en soit informé. Dans ce cas, tous les résultats sont interprétés par rapport aux témoins cachés.	Elle consiste à quantifier sur un axe, les différences par rapport à un témoin	- Assez facile à interpréter - Résultats assez fins.	- Les produits présentés doivent présenter des différences peu marquées. - Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations entre les échantillons (différence de température, quantité présentée...) - Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences.

Contrairement à ce que nous avons pu recueillir lors des trois entretiens sus-nommés, les tests sensoriels ne peuvent prétendre remplacer les tests de produits car :

- Ils ne remplissent pas les mêmes objectifs ;
- Ils ne s'adressent pas aux mêmes individus.

Un détournement des objectifs des tests de produits consiste, entre autres, en l'insertion de questions sensorielles dans les tests de produits.

Selon les responsables d'études interrogés, cette prise de position s'explique par :

- une recherche de diminution des coûts des études réalisées. Associer des questions sensorielles aux tests de produits permet de réaliser deux tests en un ;

**Tableau 2 : Techniques sensorielles de notation et de cotation**

LES METHODES DE NOTATION ET DE COTATION			
NOM	MODALITES DE MISE EN ŒUVRE	AVANTAGES	INCONVENIENTS ET PRECAUTIONS
<b>L'épreuve de classement</b>	Elle consiste à présenter une série de produits. Le sujet doit classer ces produits par ordre d'intensité ou de degré selon un critère donné.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aisée à comprendre</li> <li>- Correspond à une pratique courante chez l'individu habitué à hiérarchiser son univers.</li> </ul>	- Ne permet pas la comparaison de deux jeux de résultats même lorsque les témoins sont insérés dans chaque jeu.
<b>L'épreuve de classement en blocs incomplets</b>	Elle consiste à présenter un grand nombre de produits. Le sujet doit classer.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adaptée quand le nombre de produits à juger est trop important. En fonction du nombre de sujets et de produits, on indique le nombre de répétitions par produit et par sujet.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Assez lourd.</li> <li>- Délicat à interpréter.</li> <li>- Eliminer toutes les causes qui pourraient entraîner des variations entre les échantillons (différence de température, quantité présentée.)</li> <li>- Utile d'ajouter une question complémentaire portant sur la nature des différences perçues.</li> </ul>
<b>Les épreuves de cotation</b>	<p>Le sujet est invité à attribuer à un produit des catégories qui sont proposés.</p> <p>Dans la cotation, les catégories sont ordonnées sur une échelle (ex : recherches de différents défauts d'un produit).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aisée à comprendre</li> </ul>	- Délicat à interpréter.
<b>Les épreuves de notation</b>	Le sujet est invité à attribuer à un produit des catégories qui sont proposées.		
<b>Les épreuves d'intervalle à échelle structurée</b>	Le sujet attribue une note selon un barème préétabli (échelle structurée).	Démarche assez naturelle	Veiller à proposer une échelle adaptée

Tableau 2 : Techniques sensorielles de notation et de cotation

LES METHODES DE NOTATION ET COTATION			
NOM	MODALITES DE MISE EN ŒUVRE	AVANTAGES	INCONVENIENTS ET PRECAUTIONS
Les épreuves d'intervalle à échelle non structurée : l'épreuve de l'estimation de la grandeur ou « magnitude estimation » de Stevens Moskowitz (1980)	Le sujet dispose d'un produit de référence auquel il attribue une note. Il est ensuite invité à donner des valeurs chiffrées proportionnelles aux intensités de sa réaction face à chaque stimulus qui lui est présenté. La valeur attribuée au produit témoin est laissée au libre choix de l'individu. Il convient donc de ramener toutes les valeurs de chaque sujet à une même valeur témoin, lors de l'analyse statistique.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Maîtrise rapide de la technique par le sujet après une courte période d'entraînement</li> <li>- Remplace l'utilisation de la méthode d'échelle, d'intervalle avec laquelle le sujet a souvent une certaine répugnance à utiliser les deux points extrêmes. Le sujet est parfaitement libre dans sa notation.</li> <li>- Elle est sensible et permet la mesure de faibles différences de perception.</li> <li>- Elle est fidèle et ne se déforme pas au cours du test même quand celui-ci est long.</li> <li>- Elle permet d'obtenir des notes d'attributs comparables, traitables par l'outil statistique.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Interprétation statistique difficile ou discutable lorsque l'épreuve est conduite comme si les conditions d'une échelle d'intervalle étaient respectées.</li> <li>- On peut s'interroger sur la phase d'apprentissage : l'association « degré » est-elle toujours réfléchie et réalisée selon une démarche similaire chez chaque individu ?</li> <li>- Ces associations sont-elles stables au cours du test ?</li> <li>- Tout individu est-il capable de procéder correctement à cette association et reste-t-il cohérent dans le temps ?</li> </ul>

Tableau 3 : Techniques sensorielles analytiques ou descriptives

Elles sont souvent dans la pratique des épreuves de classification ou de cotation, puisqu'elles consistent à identifier les propriétés d'un ou de plusieurs échantillons. Elles présentent toutefois deux traits particuliers :

- l'ordre dans lequel les propriétés sont perçues est imposé
- les catégories ne sont pas toujours définies dans le détail ; parfois, seules les grandes classes sensorielles sont définies (aspect, parfum, saveur, texture, couleur) et le sujet doit trouver lui-même les catégories utiles.

Si le juge est invité non pas à coter mais à noter chaque caractéristique, l'épreuve descriptive relève de l'épreuve de notation.

- Les demandes répétées des spécialistes en marketing qui souhaitent multiplier le nombre de questions dans les tests de produits et de recueillir ainsi des informations variées et précises. Cette tendance, soulignée par neuf experts interrogés sur douze, répond à un besoin de sécurité ;
- L'interrogation fréquente de « pseudo-experts » remplace les consommateurs novices dans certains tests de produits. Comme l'explique un des coordinateurs d'études interviewés : « Un consommateur fidèle à un produit est un expert dans le sens où il perçoit tout changement éventuel mais n'en est pas un dans l'acceptation sensorielle du terme car il manque de vocabulaire pour « décrire » les variations ».

---

## REFERENCES

- BOUREE, P. (1987) : Examens de laboratoire en médecine tropicale  
Masson
- BOUREE, P (1994) : Aide-mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale  
2è Edition : Médecine-Sciences
- DUNCAN Mara et CAIRNCROSS Sandy (1991) : Guide pour l'utilisation sans risques des eaux résiduaires et des excréta en agriculture et aquaculture  
Organisation Mondiale de la Santé – Genève
- GREGOR (1996) ; Techniques sensorielles de différenciation  
IAE de Paris. Université de Paris 1 – Panthéon – Sorbonne
- MARCHAL Nelly (1992) : Initiation à la microbiologie  
DUNOD
- KAOURITCHEV I. Manuel pratique de pédologie  
Edition MIR- Moscou
- KONING (de) H.W. (1989) : La fixation des normes en matière d'environnement  
Recommandations à l'intention du décideur  
Organisation Mondiale de la Santé – Genève
- PERILLA Mindy J. MPH : Manual for the laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of public Health importance in the developing world
- Les dangers de l'eau et leur prévention  
Journées d'information scientifique et technique inter-Etats  
Lomé (Togo) 27 – 28 mars 1992
- SIMONS Jacques ; SIMONS Sotty (1991) : Risques biologiques : Prévention en laboratoire de recherche  
CNRS-INSERM-INRA-Institut Pasteur
- Standard methods for the examination of water and wastewater including bottom sediments and sludges  
American PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, Inc.  
1740 Broadway, New York, N.Y. 10019
- STRENGER Ch. : Coprologie parasitaire. UNATEB – ASSITEB
- Projet Assistance au laboratoire. USAid/Niamey – INRA. Texas A et M University : Méthodes d'analyses physiques des sols au laboratoire de sols de l'INRA
- J. Fleurette et coll. : Guide pratique de l'antisepsie et de la désinfection  
Editions ESKA, Editions Alexandre Lacassagne
- Heinz MELHORN (1989) : Parasitology in focus
- Info CREPA N°41-42 – juillet-décembre 2003

**Réalisation technique et Impression**

- Secrétariat de Rédaction/Maquette : **Sié Offi SOME**

- Réalisation technique et Impression : **Studio YIPIN Créations : +226 50 31 23 20 Ouaga. Burkina Faso**