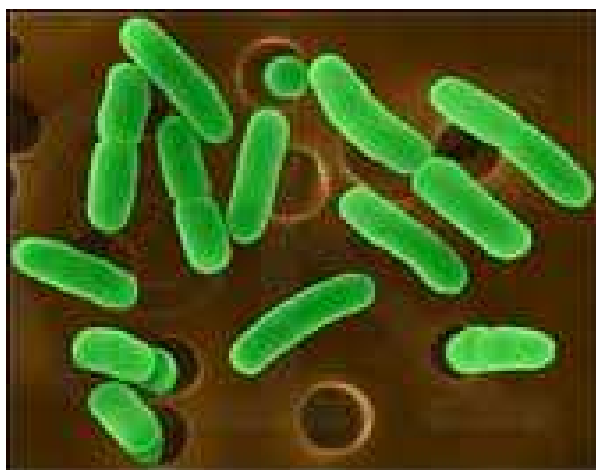




PROJET DE FIN D'ETUDES

Contrôle de la qualité analytique des paramètres
bactériologiques
au laboratoire régional de l'ONEP Et
Analyse bactériologique des eaux de l'Oued Sebou destinées
à la Consommation humaine



Présente le 16/06/2011

Par: Houda Tadlaoui Habibi

Encadré par:

Fatima Fadil

Devant le jury composé de:

M^m.Fatima Fadil

M^f.Saad Rachiq

M^f.Salm Diouri

REMERCIEMENT

Au terme de ce travail, j'aime adresser mes plus sincères remerciements

**A MONSIEUR SALEM DIOURI
CHEF DU LABORTOIRE DE L'OFFICE NATIONAL DE L'EAU
POTABLE** d'avoir accepté de m'accueillir, afin de passer mon stage de fin
d'étude.

Je souhaite que vous trouviez dans ce travail l'expression de ma considération et
mon profond respect.

**A MADAME FATIMA FADIL
PROFESSEUR A LA FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES** pour
l'aide, les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport et pour ses
orientations durant la rédaction du rapport.

**A M^M.FOUZIA ANNOUH, M^M.KELTOUM ALAMI , M^R.DRISS
HAMDANI, M^R.RACHID ELFILALI et M^R.FELLAH** pour l'aide précieuse,
l'orientation, la grande compréhension, la disponibilité et le soutien durant la
période du stage.

A TOUS LES MEMBRES DE JURY d'avoir bien voulu accepter de faire partie
de la commission d'examineur.

A TOUTE PERSONNE qui a participé de près ou de loin pour
l'accomplissement de ce modeste travail.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	7
PRESENTATION DE L'ONEP.....	9
BIBLIOGRAPHIE.....	12
I. Pollution de l'eau.....	13
II. Les différents types de pollution.....	13
1. Pollution chimique.....	13
2. Pollution organique.....	14
3. Pollution biologique.....	14
4. Pollution physique.....	14
III. Les maladies hydriques.....	15
IV. Le prétraitement et traitement de l'eau brute.....	16
1. Prétraitement.....	17
a. Dégrillage (traitement physique).....	17
b. Dessablage.....	17
c. Débourage.....	17
2. Traitement.....	17
a. Pré chloration.....	18
b. Coagulation-floculation.....	18
c. Décantation.....	19
d. Filtration sur sable.....	19
e. Désinfection.....	19

PROJET DE FIN D'ETUDES

V.	Contrôle bactériologique de l'eau.....	20
1.	Bactéries recherchées.....	20
a.	Coliformes totaux.....	21
b.	Coliformes fécaux.....	21
c.	Clostridiuims sulfito-réducteurs.....	22
d.	Bactéries hétérotrophes revivables.....	22
2.	Prélèvement et conservation des échantillons.....	23
VI.	Méthodes d'analyses bactériologiques des eaux.....	23
1.	Méthode de la membrane filtrante.....	24
2.	Méthode du nombre le plus probable.....	24
3.	Méthode de l'incorporation en gélose.....	24
VII.	Facteurs influants la fiabilité des analyses bactériologiques.....	24
VIII.	Analyses physico-chimiques.....	25
1.	Analyses physiques.....	25
a.	Turbidité.....	25
b.	Température	26
c.	Mesure du PH.....	26
d.	Conductivité.....	26
2.	Analyses chimiques.....	27
a.	Détermination de l'alcalinité.....	27
b.	Oxydabilité.....	27
c.	Dureté de l'eau.....	28
IX.	Normes de qualité de l'eau de consommation humaine.....	28
	MATERIELS ET METHODES.....	30
I.	Contrôle de la qualité des paramètres analytiques bactériologiques..	31
1.	Contrôle de la salle bactériologie.....	31

PROJET DE FIN D'ETUDES

a. Qualité de l'air ambiant.....	31
b. Qualité de surface de travail.....	32
2. Contrôle de qualité du matériel du secteur de la bactériologie.....	33
3. Contrôle de la qualité des milieux de culture	34
II. Analyses microbiologiques de l'eau.....	34
1. Analyse des coliformes totaux et fécaux.....	35
2. Analyse des streptocoques fécaux.....	38
3. Analyse des bactéries hétérotrophes aérobies anaérobies à 22 et 37°C....	39
4. Analyse des Clostridiuims.....	40
RESULTATS ET DISCUSSION.....	41
I. Résultat du contrôle de qualité des paramètres analytiques.....	42
II. Résultat des analyses microbiologiques de l'eau.....	43
CONCLUSION.....	46
Références Biographiques	47
Liste d'abréviation	51

INTRODUCTION

Nous vivons sur la planète bleue. L'eau joue un rôle déterminant dans la vie des hommes, des animaux et des plantes. Mais seulement la plus petite partie, 0,3% des réserves globales en eau, sont utilisables comme eau potable. Et c'est juste cette petite partie qui est en danger. Les scientifiques attirent notre attention sur l'augmentation inquiétante de la pollution des réserves d'eau potable. Une réorientation radicale concernant notre environnement est donc nécessaire de toute urgence.

L'eau potable propre et non polluée devient de plus en plus rare. La pollution chimique par des eaux usées de l'industrie et de l'agriculture, les eaux d'égout des ménages chargées de détergents et de lessive ainsi que l'infiltration de substances toxiques ont déjà atteint la nappe phréatique. Les distributeurs d'eau sont par conséquent confrontés à des gros problèmes concernant le respect des limites de pollution.

Des scientifiques nous avertissent du danger de nouvelles bactéries pathogènes, qui sont devenues résistantes à cause de l'utilisation accrue des antibiotiques par la médecine et l'élevage. On constate aussi avec inquiétude des résistances contre les produits, utilisés pour le traitement des eaux (chlore, ozone et rayons UV). D'où la nécessité d'un traitement des eaux.

A cause de cette pollution, l'utilité de procéder à des contrôles fréquents et d'établir des laboratoires pour effectuer ces contrôles, devient nécessaire.

A l'égard des autres pays, il existe au Maroc des laboratoires de contrôle et de surveillance de qualité de l'eau potable, où j'ai eu l'occasion d'effectuer mon stage de fin d'études.

C'est dans cette thématique que nous avons réalisé ce stage de projet de fin d'études à l'ONEP, dans le but de mettre en valeur l'importance et l'efficacité des différentes étapes de traitement, l'ONEP a mis en œuvre des analyses physico-chimiques et bactériologiques des eaux.

PROJET DE FIN D'ETUDES

Le travail de ce stage comporte de deux étapes :

- Contrôle de la qualité des paramètres analytiques du laboratoire d'analyses microbiologiques de l'ONEP.
- Analyses bactériologiques des eaux brutes destinées à la production d'eau d'alimentation humaine (eau en sortie de station de prétraitement), et des eaux traitées destinées à l'alimentation humaine (eau traitée en sortie de station de traitement).

DESCRIPTION DU LIEU DE STAGE

L'office national de l'eau potable (ONEP) est un établissement à caractère commercial et industriel, doté de la personnalité et de l'autonomie financière depuis 1995, placée sous la tutelle du ministère des travaux publics et soumis au contrôle du ministère des finances :

La création de L'ONEP par dahir a été en 1929 sous le nom de REIP (Régie d'exploitation installation et planification), puis RFI (Régie d'exploitation et planification), et en fin le nom ONEP en 1972. L'ONEP est chargé de:

- **Planifier:** L'approvisionnement en eau potable du Royaume et la programmation des projets.
- **Etudier:** L'approvisionnement en eau potable et assurer l'exécution des travaux des unités de production et de distribution.
- **Gérer:** La production d'eau potable et assurer la distribution pour le compte des communes qui le souhaitent.
- **Contrôler:** La qualité des eaux produites et distribuées et la pollution des eaux susceptibles d'être utilisées pour l'alimentation humaine.
- **Assister:** En matière de surveillance de la qualité de l'eau.
- **Participer :** Aux études, en liaison avec les ministères intéressés, des projets de textes législatifs et réglementaires nécessaires à l'accomplissement de sa mission.

Pour les contrôles, l'ONEP dispose d'un laboratoire central et de 43 laboratoires décentralisés répartis sur l'ensemble du Royaume.

L'office national de l'eau potable-Fès

L'alimentation en eau potable de la ville de Fès est assurée par l'ONEP et la RADEEF, alors que la distribution est assurée totalement par la RADEEF. L'ONEP de Fès couvre 40% de la production actuelle de la de Fès.

Le complexe de production d'oued Sebou:

Ce complexe comprend:

La station de prétraitement située sur l'oued Sebou: sa mise en œuvre remonte à 1989, le rôle de la station est d'extraire l'eau brute et de diminuer le taux de matière en suspension jusqu'à une valeur inférieure à 2g/l et de la refouler jusqu'à la station de traitement.

La station de traitement Ain Noukbi. Edifiée le 19mars 1987. La station assure:

- Le traitement des eaux reçues de la station de prétraitement selon une série d'étapes.
- Le contrôle de la qualité des eaux traitées (dans le laboratoire régional).
- Refoulement des eaux vers le réservoir bab hamera.
- Le laboratoire régional de Fès procède dans le cadre du contrôle des eaux potables aux 3 types d'analyses définis par la norme marocaine, selon la nature du point d'eau à contrôle
- **Analyse de type I:** Comprend les paramètres bactériologiques et un nombre réduit de paramètres physico-chimiques.
- **Analyse de type II:** En plus de l'analyse de type I, d'autres paramètres physico-chimiques et bactériologiques pouvant être liés à la contamination fécale des ressources en eau.
- **Analyse de type III :** Comprend, en plus de l'analyse de type II, les paramètres organoleptiques, les éléments toxiques et indésirables et les éléments majeurs autres que ceux déterminés pour l'analyse de type II.

En plus de ces analyses normalisées le laboratoire assure la surveillance du réseau d'approvisionnement en eau potable tout entier, de la prise d'eau brute jusqu'aux points de livraison aux consommateurs en passant par les ouvrages et

PROJET DE FIN D'ETUDES

les produits de traitement. Cette surveillance destinée à protéger la santé du consommateur est basée sur des normes et règlements nationaux en vigueur régissant la qualité de l'eau potable avec recours, au besoin, aux directives internationales.

Parallèlement à cette activité de contrôle et de surveillance de la qualité des eaux, le laboratoire régional de Fès développe d'autres activités aussi importantes que nécessaires notamment:

- La mise en place d'un système de contrôle de la qualité analytique
- Le contrôle des réactifs de traitement
- Le contrôle des matériaux en contact avec l'eau

MOYENS MATERIELS

- Le laboratoire est doté d'un équipement moderne qui lui permet de procéder à la détermination de plus de 200 paramètres. ces déterminations sont réalisées sur des échantillons d'eaux (traitées, brutes), produits de traitement, etc...

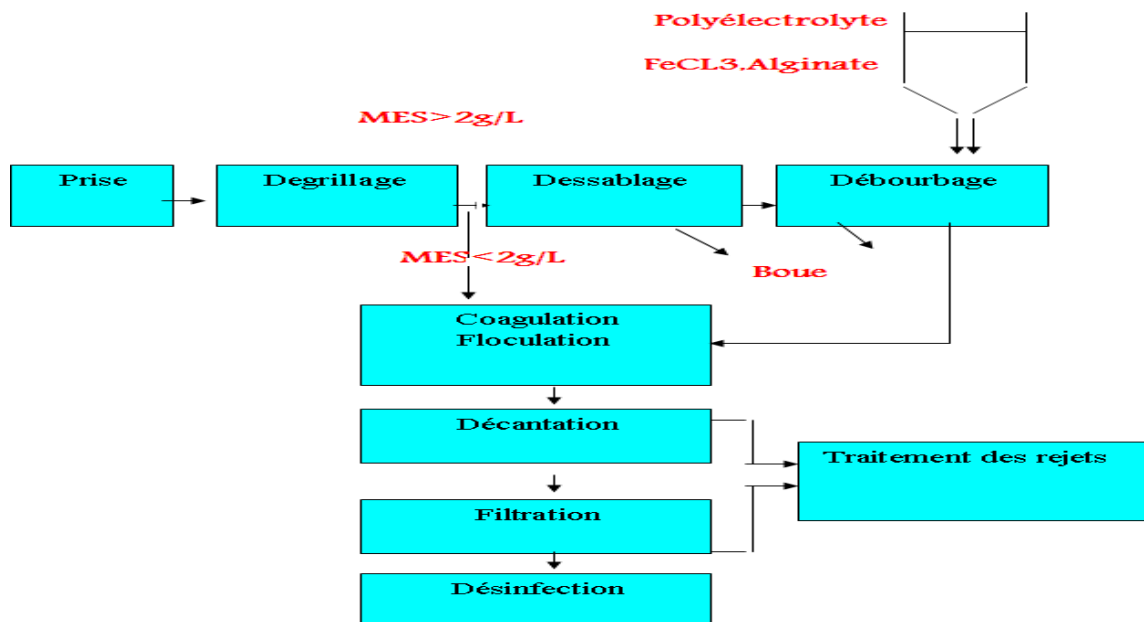


Figure 1 : Filière du traitement des eaux de surface

BIBLIOGRAPHIE

I. POLLUTION DE L'EAU

La **pollution de l'eau** est une altération qui rend son **utilisation dangereuse** et (ou) **perturbe l'écosystème aquatique**. Elle peut concerner les eaux **superficielles** (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux **souterraines**. Elle se manifeste principalement, dans les eaux de surface par une pollution **chimique** ou par des **virus** et des **bactéries pathogènes**.

1- Les différents types de pollutions

a. La pollution chimique :

La pollution chimique est due à des produits toxiques qui atteignent directement un cours d'eau ou qui pénètrent dans le sol pour atteindre les eaux souterraines. Elle peut être provoquée par le rejet de métaux lourds (cadmium, mercure, plomb ...) ou d'autres substances rejetés par l'industrie, l'agriculture ou les décharges de déchets domestiques ou industriels. Les pesticides utilisés dans l'agriculture, ont une place importante dans la pollution chimique, puisqu'on estime que près d'un quart des eaux jugées impropres à l'alimentation des populations sont dues aux pesticides.

Certaines substances toxiques, déversées dans un cours d'eau, peuvent avoir des conséquences immédiates sur les êtres vivants. D'autres peuvent pénétrer dans les chaînes alimentaires, c'est le phénomène de **la bioamplification**. Une faible partie de ces substances est évacuée par excrétion, mais le reste s'accumule dans certains organes (foie, muscles, graisse...) des poissons herbivores. Ceux-ci sont mangés par les poissons et les oiseaux carnivores, qui sont contaminés à leur tour, concentrant encore davantage les substances toxiques.

Les espèces qui se trouvent à l'extrémité supérieure de la chaîne alimentaire, y compris l'homme, sont ainsi exposées à des teneurs en substances toxiques beaucoup plus élevées que celles qui se trouvent au départ dans l'eau.

b- La pollution organique

La pollution organique est due aux rejets d'eaux usées ou d'eaux riches en déchets provenant des industries agro-alimentaires. Ces matières peuvent être **dégradées** par des bactéries qui, pour ce faire, vont consommer beaucoup d'oxygène. La diminution de la concentration en oxygène occasionnée, peut provoquer la mort de nombreux animaux aquatiques. La présence excessive de phosphates et de nitrates dans l'eau (liée à l'activité agricole) provoque un développement intensif des plantes aquatique. Le développement de ces plantes nécessite également beaucoup d'oxygène. Ceci rend impossible la vie des autres organismes vivant dans l'eau. Ce phénomène est appelé eutrophisation.

c- La pollution biologique

Cette pollution est liée aux agents provoquant des maladies que sont les bactéries, les virus, les protozoaires et les vers parasites qui se développent dans les égouts et les eaux usées non traitées. Les foyers domestiques, les hôpitaux, les élevages et certaines industries agro-alimentaires sont à l'origine des éléments dangereux pour la santé évoqués précédemment. On peut donc combattre cette pollution, par le traitement des eaux usées via les stations d'épuration.

d- La pollution physique

Il existe aussi des pollutions physiques de l'eau. Des matières en suspension provenant des mines ou des cimenteries peuvent modifier la turbidité de l'eau, c'est-à-dire réduire la transparence de l'eau, en masquant la lumière du soleil, elles empêchent la croissance des plantes aquatiques. Elles bouchent aussi les branchies des mollusques et des poissons qui filtrent l'eau.

La pollution de l'eau avec la diversité de ses sources, menace la santé de l'Homme, en étant responsable de plusieurs problèmes sanitaires et de maladies graves.

II. Les maladies hydriques:

Les maladies hydriques sont celles causées par la consommation d'eau contaminée par des fèces animales ou humaines, qui contiennent des microorganismes pathogènes.

L'eau de surface (pluie, ruisseaux, rivières, lacs etc.), qui peut être contaminée par des personnes ou des animaux infectés. L'écoulement des décharges, des eaux usées, des eaux industrielles ou résidentielles peut parfois contaminer les eaux de surface. Ceci a été la cause de nombreuses manifestations dramatiques de maladies fécale telles que le choléra et la typhoïde.

Cependant, il existe de nombreux chemins possibles par lesquels les matières fécales peuvent atteindre la bouche, par exemple sur les mains ou sur la nourriture contaminée. En général, la nourriture contaminée est le chemin le plus courant par lequel les personnes sont contaminées.

Dans les pays en développement, 4/5 de toutes les maladies sont causées par les maladies hydriques, où la **diarrhée** est la principale cause de la mort des enfants. L'eau propre est un préalable pour réduire la diffusion des maladies hydriques. On reconnaît bien que la prédominance des maladies hydriques peut être considérablement réduite par la fourniture d'eau potable propre et l'élimination sûre des fèces.

L'eau est désinfectée pour tuer tous les pathogènes pouvant être présent dans les approvisionnements en eau et pour empêcher leur développement dans les systèmes de distribution. La désinfection est alors utilisée pour empêcher la croissance des organismes pathogènes et pour protéger la santé publique. Le choix du désinfectant dépend de la qualité de l'eau individuelle et du système d'approvisionnement en eau. Sans désinfection, le risque des maladies hydriques augmente. Les deux méthodes les plus courantes pour tuer les microorganismes dans l'approvisionnement en eau sont : l'oxydation avec des produits chimiques tels que le chlore, le dioxyde de chlore ou l'ozone, et l'irradiation par les UV.

D'où la nécessité d'un bon traitement.

III. Le prétraitement et traitement de l'eau brute :

On peut envisager plusieurs types de traitement de l'eau brute d'après sa qualité :

- Si la quantité des matières en suspension est **supérieure à 2g/l**, l'eau brute passe d'abord par l'étape de prétraitement ensuite il passe au traitement.
- Si la quantité des matières en suspension est **inférieure à 2g/l**, l'eau brute passe directement au traitement.

1. Prétraitement :

C'est un traitement préliminaire qui permet d'alléger les traitements ultérieurs, en enlevant de l'eau brute la plus grande quantité des matières en suspension, des matières organiques, des gaz ou autres éléments.

Le prétraitement comporte les opérations suivantes :

a) **Le dégrillage :**

Première véritable étape dans le prétraitement, a pour rôle de faire passer l'eau à travers des grilles qui retiennent les gros objets du type tronc d'arbre, bidon et des matières de taille plus faible (branches, feuilles, objets métalliques).

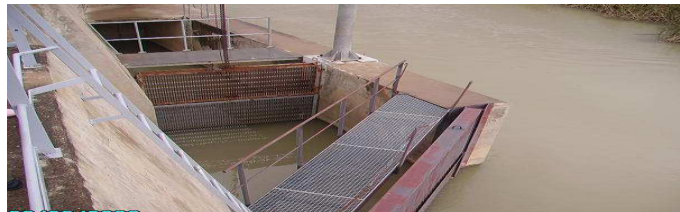


Figure 2: opération de dégrillage dans la station de prétraitement

b) **Le relevage :**

C'est une opération qui consiste à pomper l'eau du fleuve vers les dessableurs (6,5m de hauteur) par l'intermédiaire d'un système de trois vis d'Archimède dont le débit normal de chacun est de 750 l/s.

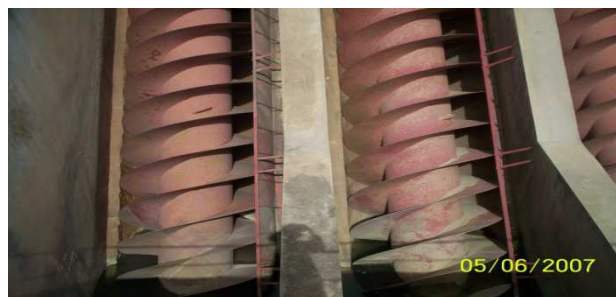


Figure 3: opération de relevage dans la station de prétraitement

c) Le dessablage :

Prétraitement physique qui consiste à retenir les sables, entraînés avec l'écoulement de l'eau.

Le dessablage concerne les particules de granulométrie supérieure à 200 μm , si la granulométrie est inférieure à 200 μm , on parle de débouage.



Figure 4: opération de dessablage dans la station de prétraitement

d) Le débouage :

C'est une opération de pré-décantation qui a pour but d'éliminer certaines matières en suspension.

Cette technique est utilisée quand la teneur en matières en suspension est supérieure à 2 g/l.



Figure 5: opération de débouage dans la station de prétraitement

2. Traitement :

Après les préparations de prétraitement qui permettent à l'eau d'être moins chargée en matière en suspension (MES(2g/l)), vient la phase de traitement qui permet de rendre l'eau potable, cette phase se fait dans la station de traitement.

Le traitement comporte cinq étapes :

a. Pré-chloration:

C'est une opération qui permet :

- D'oxyder le fer et le manganèse contenus dans l'eau brute. (En général responsable de la couleur).
- De détruire les matières organiques afin d'améliorer le goût et l'odeur de l'eau.
- De détruire les micro-organismes et d'inhiber la croissance algale.

Le produit généralement utilisé est le chlore Cl_2 (Jerome et al.2004).

b. Coagulation-floculation :

C'est un procédé qui permet de rassembler les très fines particules contenues dans l'eau afin de créer des "flocs", plus grosses particules qui décanteront ou flotteront plus facilement.

➤ Coagulation :

La coagulation est un traitement visant à neutraliser les charges électrostatiques en surface des particules colloïdales. En effet, ces matières en suspension portent des charges généralement négatives induisant des forces de répulsion entre les particules.

La coagulation est un traitement produisant des flocs, décantant beaucoup plus rapidement que les particules individuelles.

Mais ces flocs sont fragiles, petits et se séparent encore lentement de l'eau.

Les coagulants les plus utilisés sont :

- Les sulfates d'alumine $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3, 18 \text{H}_2\text{O}$.
- Le chlorure ferrique FeCl_3 .
- Le sulfate ferreux FeSO_4 oxydé par le chlore.

➤ Floculation :

Une fois les flocs sont formés, on injecte un flocculant ou adjuvant de floculation qui aura pour effet d'agglomérer tous ces flocs formés.

Les flocculants les plus utilisés sont :

- Les polymères.
- L'alginate.

c. Décantation :

La décantation est une phase très importante de traitement de l'eau pour récupérer tous ou une grande partie des floccs.

Il existe de nombreux types de décanteurs, ceux utilisés à la station sont au nombre de six, chacun possède un débit à traiter de 900 m³/h.

La décantation a pour but d'éliminer les particules en suspension.



Figure 5: opération de décantation dans la station de traitement

d. La filtration sur sable :

C'est le type de filtration le plus répandu. L'eau à filtrer passe donc à travers le lit de sable et se débarrasse des particules en suspension non éliminés par la décantation



Figure 6: opération de filtration sur sable dans la station de traitement

e. Désinfection :

La désinfection permet d'éliminer ou de désactiver des microorganismes pathogènes. On utilise pour cela soit des désinfectants chimiques tels que le chlore, l'ozone ou le permanganate de potassium, soit des désinfectants physiques tels que les rayonnements ultraviolets ou la chaleur. (REGNAULT et al.1990).

IV. CONTROLE BACTERIOLOGIQUE DE L'EAU

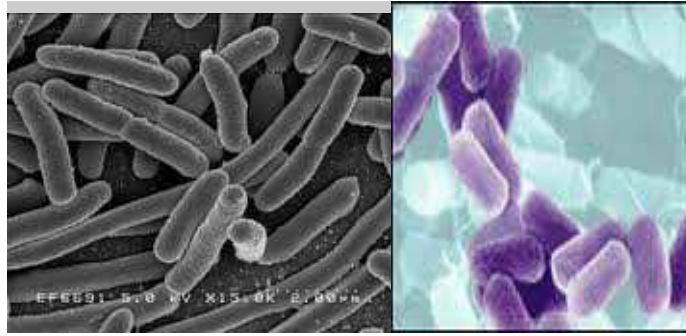
1) Les bactéries recherchées:

Les bactéries recherchées dans les eaux traitées ne sont qu'exceptionnellement celles qui ont un caractère pathogène. En dehors On se contente de rechercher ce qu'il est convenu d'appeler les "germes indicateurs de contamination fécale. Le raisonnement est le suivant: s'il y a présence de germes pathogènes dans une eau, ils seront peu nombreux car hors épidémie, le nombre de sujets potentiellement infectant est très faible. En revanche, le nombre de bactéries banales, hotes obligés de l'intestin de l'homme et des animaux, est considérablement plus élevé car provenant de la totalité de la population. La probabilité de trouver un germe pathogène dans l'échantillon analysé est donc infiniment faible s'il y a eu insuffisance de désinfection, alors que celle de rencontrer des germes banals est infiniment plus élevée.

Les germes recherchés sont:

- Les coliformes totaux.
- Les coliformes fécaux.
- Les streptocoques fécaux.
- Les clostridium sulfite-réducteurs.
- L'analyse est complétée généralement par la recherche de BHR (ou bactéries hétérotrophes revivables).

a) Les coliformes totaux

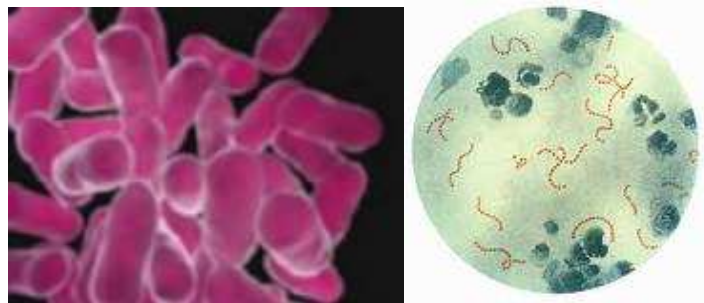


Figuer7 :les colifrmes totaux

Le terme coliformes totaux” regroupe plusieurs espèces bactériennes de la famille des entérobactéries.

Microorganismes aérobies et anaérobies facultatifs, en forme de bâtonnets, gram négatif, non sporogènes, et ils sont capables de croître en présence de sels biliaries ou autres agents de surface ayant des propriétés inhibitrices de croissance analogues, ils sont capables de croître en aérobiose à 37°C en milieu liquide bilié lactosé au vert brillant avec production d’acide et de gaz en 48h.

b) Les coliformes fécaux



Figrer8 :les coliformes fécaux

Ils ont la même définition que les coliformes totaux. Ces coliformes sont capables de se développer à 44°C, alors qu’aucune croissance n’est observée à cette température pour les souches non fécales. La principale bactérie coliforme spécifiquement d’origine fécale est *Escherichia coli* (E.coli).

La présence de coliformes fécaux indique le contact de l’eau avec des matières fécales et peut générer des problèmes de santé. Cette eau ne doit pas être consommée avant être bouilli de 1 à 5minutes. (BENABDALLAH 2000).

c) Les clostridium sulfito- réducteurs

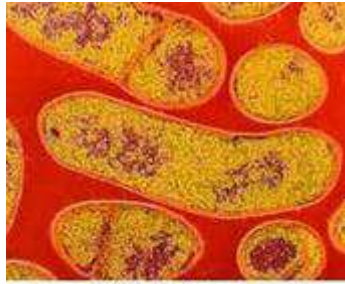


Figure9 :les clostridiuims sulfito-réducteurs

Les clostridium sulfito-réducteurs sont des germes capables de sporuler et de se maintenir longtemps dans l'eau sous une forme végétative. Ils sont donc les témoins d'une pollution ancienne. Plus difficilement tués que les coliformes par les désinfectants, ils constituent aussi un bon indicateur de l'efficacité de la désinfection

d) Les bactéries hétérotrophes revivables:

Ils sont des bactéries aérobies anaérobies facultatives, elles requièrent essentiellement de la matière organique comme source de carbone et une température optimale située entre 20 et 45 °C avec ou sans oxygène.

Le dénombrement des BHAA, vise à estimer la densité de la population bactérienne générale dans l'eau potable. Il permet ainsi une appréciation globale de la salubrité générale d'une eau, sans toutefois préciser les sources. De manière générale, la présence de BHAA en quantité anormalement élevée peut être indicatrice de difficultés de traitement ou d'un entretien inadéquat du réseau. (BENABDALLAH 2000).

e) Les Streptocoques fécaux:



Figure9 : les streptocoques fécaux

PROJET DE FIN D'ETUDES

Le terme “streptocoques fécaux” désigne dans ce document l’ensemble des bactéries de forme sphérique au coccoïde; gram+, disposés en pair ou en chaînette, ne possédant pas de catalase capable de croître à 37 °c en 48h et faisant partie de la flore intestinale normale de l’homme ou d’autres animaux à sang chaud. (BENABDALLAH 2000).

V. Le prélèvement et conservation des échantillons

Le prélèvement doit être effectué dans des conditions d’asepsie Satisfaisantes par un agent qualifié .il se fait en flacon de verre stérile de 500 ml. Il est donc nécessaire de respecter certaines conditions pour un diagnostic précis et exact. Pour les eaux de distribution, il est parfois nécessaire d’éliminer la contamination due aux conduits :

Le robinet doit être désinfecté et flambé, l’eau doit s’écouler un certain temps avant le prélèvement

L’échantillon doit être acheminé rapidement au laboratoire, et réfrigéré si la température excède 10°C. L’analyse doit être effectuée dans les 12 h qui suivent le prélèvement

L’agent responsable du prélèvement devra recueillir un maximum de renseignements en relation avec la qualité bactériologique de l’eau: origine de l’eau, nature du captage, nature du traitement éventuel, causes probables de contamination, importance des pluies avant le prélèvement, température lors du prélèvement.

VI. Méthodes d’analyses bactériologiques des eaux

Un jugement sur la qualité bactériologique d’une eau ne peut être porté une fois pour toute, à la suite d’une analyse initiale; il doit au contraire dépendre d’une surveillance analytique qui doit comporter une fréquence souvent importante d’examen. Les méthodes d’analyse et du dénombrement des indicateurs de contamination de l’eau sont:

La méthode dite de la membrane filtrante

La méthode du nombre le plus probable

La méthode de l’incorporation en gélose

1) La méthode de la membrane filtrante

C'est la technique la plus utilisée au laboratoire, elle est applicable à toutes les eaux et en particulier à celles ne contenant qu'une faible quantité de matière en suspension et un nombre relativement faible de germes (eaux traitées).

La plus utilisée au laboratoire, elle est applicable à toutes les eaux et en particulier à celles ne contenant qu'une faible quantité de matière en suspension et un nombre relativement faible de germes (eaux traitées).

Le plus générale, on procède à une filtration par un appareil de filtration sur membrane cette dernière est en esters de cellulose, de porosité 0,45 µm, susceptible de retenir les bactéries. (RODIER et al.1997).

2) La méthode du nombre le plus probable

Cette méthode est une évaluation par calcul statistique du nombre le plus probable d'unité infectieuse, après répartition de l'inoculum dans un certain nombre de tubes de milieu de culture liquide, et en tenant compte du nombre respectif de culture positive ou négative obtenue. Elle est applicable à toutes les eaux et en particulier les eaux brutes, riches en matière en suspension et en nombre élevé de germes. (RODIER et al.1997).

3) La méthode de l'incorporation en gélose

La méthode est fréquemment utilisée pour la recherche des bactéries aérobies revivables, elle consiste à mélanger dans une boîte de Pétri 1 ml d'échantillon (ou ses dilution) et un volume de milieu gélosé, fondu et ramené à une température de 45°C environ. (RODIER et al.1997).

VII. Facteurs influants la fiabilité des analyses bactériologiques

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'analyse bactériologique, parmi lesquels:

Equipements: devraient répondre aux normes.

Matériel de laboratoire: Qualité des réactifs, qualité des milieux de culture, verrerie, flacons lavés....

Prélèvements : doit être adéquat, bien conservé, bien identifié et bien transporté...

Le contrôle de la qualité de ces facteurs constituera l'objectif de la deuxième partie de ce travail.

VIII. Les analyses physicochimiques :

Les analyses physicochimiques sont effectuées quotidiennement sur des prélèvements au niveau de l'eau brute, l'eau décantée, l'eau filtrée ainsi que l'eau traitée.

Les analyses pratiquées sont les suivantes :

- L'analyse physique consiste à mesurer la température, la turbidité, le pH et la conductivité.
- L'analyse chimique consiste à mesurer le TA, TAC, l'oxydabilité, dureté de l'eau, le chlore résiduel et l'oxygène dissous.

1. Analyses physiques

a) La turbidité :

La turbidité désigne l'état d'un fluide trouble, opaque à la lumière et/ou la teneur des matières en suspension qui absorbent, diffusent et/ou réfléchissent la lumière. Son principe est basé sur la comparaison de l'intensité de la lumière diffractée (effet de tyndall) par l'échantillon à celle de référence dans les mêmes conditions (longueur d'onde, angle entre le rayon incident et le rayon diffracté)

La mesure de la turbidité se fait à l'aide d'un turbidimètre, elle est exprimée en NTU (**nephelometric turbidity unit**).



Figure 7 : turbidimètre.

b) Température :

La température joue un rôle important dans la solubilité des sels et surtout des gaz, elle conditionne les équilibres de dissociations.

Elle agit sur la conductivité électrique et le pH, elle influe sur la densité, la viscosité, la tension de vapeur saturante à la surface, la solubilité de gaz, les réactions chimiques et biochimiques, l'effet catalytique des enzymes, la teneur en oxygène dissout

La température doit être mesurée in situ. Les appareils de mesure de la conductivité ou du pH possèdent généralement une Sonde de température intégrée.

c) Mesure de pH :

La mesure du pH d'une eau se fait par mesure potentiométrique à l'aide d'un ph-mètre, en déterminant l'activité des ions hydrogènes par utilisation d'une électrode de verre et d'une électrode de référence au calomel plongeant dans un même échantillon. La différence de potentiel existant entre les deux électrodes, est une fonction linéaire du pH. ⁺

On peut classer les eaux selon leurs pH suivant le tableau suivant :

Tableau1 : classification des eaux d'après leur pH

pH < 5	Acidité forte => présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
pH = 7	pH neutre
7 < pH < 8	Neutralité approchée => majorité des eaux de surface
5,5 < pH < 8	Majorité des eaux souterraines
pH = 8	Alcalinité forte, évaporation intense

d) Conductivité :

- **Définition**

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques. Elle est fonction de la concentration totale en ions, de leur mobilité, de leur valence, de leur concentration relative et de la température. L'unité de conductivité est le siemens par mètre (s/m), mais dans le cas de l'eau on utilise généralement le micro siemens par centimètre ($\mu\text{s/cm}$)

2. Analyses chimiques :

a. Détermination de l'alcalinité : Dosage de TA et TAC :

L'alcalinité des eaux est essentiellement due à la présence des hydroxydes OH^- , des bicarbonates (CO_3^{2-}) et des hydrogénocarbonates (HCO_3^-).

La détermination du TAC permet d'évaluer les teneurs en bicarbonates, en carbonates et en hydroxydes alcalins et alcalino-terreux, la connaissance des titres alcalimétriques est essentielle pour l'étude d'une eau et spécialement de son agressivité ou de sa tendance à être incrustante, puisque ces deux phénomènes dépendent de l'équilibre entre l'acide carbonique et les carbonates.

b. Oxydabilité :

Oxydabilité au permanganate de potassium dit indice permanganate.

- **définition**

L'indice permanganate d'une eau correspond à la quantité d'oxygène exprimée en mg/l cédée par l'ion permanganate (MnO) et consommée par les matières oxydables contenues dans un litre d'eau.

- **principe**

Oxydation, par un excès de permanganate de potassium en milieu acide et à ébullition (13min), des matières oxydables contenues dans l'échantillon.

Réduction du permanganate de potassium par de l'oxalate de sodium et titrage en retour de l'excès d'oxalate de sodium par le permanganate de potassium.

c. Dureté de l'eau :

- **définition**

La dureté totale est la concentration en ions Ca^{2+} , Mg^{2+} et autres ions bivalents et trivalents.

La dureté calcique est la concentration en ion Ca^{2+} d'une eau.

- **principe**

Le calcium et le magnésium présents dans l'eau sont complexés par l'éthylène diamine tétra acétique (EDTA). Le noir ériochrome T qui donne une couleur rouge foncée ou violette en présence des ions calcium et magnésium est utilisé comme indicateur pour la détermination de la dureté totale.

IX. Normes de qualité de l'eau de consommation humaine

L'eau d'alimentation humaine ne doit contenir en quantités dangereuses ni microorganismes, ni substances chimiques nocives pour la santé; en outre, elle doit être aussi agréable à boire que les circonstances le permettent. Les eaux d'alimentation humaine doivent satisfaire aux exigences de qualités spécifiées dans le tableau suivant:

Tableau 2: les normes de qualité de l'eau de consommation humaine

Paramètres	Unités	Valeurs maximales admissibles
Potentiel d'hydrogène	pH	$6.5 \leq \text{pH} \leq 8.5$
Conductivité	$\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20°C	2700
Turbidité	Néphélométrique (NTU)	5
Odeur	Seuil de perception à 25°C	3

PROJET DE FIN D'ETUDES

Saveur	Seuil de perception à 25°C	3
Couleur réelle	Pt mg/l	20
Chlorure	mg/l	750
Oxydabilité au $KMNO_4$	mg O_2 /l	5
Cuivre	mg/l	1
Fer	mg/l	0.3
Zinc	mg/l	3
Potassium	mg/l	12
Sodium	mg/l	200
Sulfates	mg /l	400
Nitrates	mg/l	50
Nitrite	mg/l	0,5
Ammonium	mg /l	0,5
Fluorures	mg /l	1,5
Plomb	$\mu g/l$	10
Mercure	$\mu g/l$	1
Cyanure	$\mu g/l$	70

MATERIELS ET METHODES

I. CONTROLE DE QUALITE DES PARAMETRES ANALYTIQUES BACTERIOLOGIQUES:

Le contrôle de la qualité analytique est un ensemble d'activités et de vérification intra laboratoires qui s'appliquent d'une façon régulière à l'ensemble des opérations d'un laboratoire et qui visent à s'assurer que les données produites soient le plus fiables possibles.

Ce contrôle comporte une série de vérification et contrôle qui concernent:

- contrôle de l'asepsie des salles de travail (qualité de l'air ambiant)
- contrôle des appareils
- contrôle de la qualité des milieux de culture
- contrôle de l'efficacité du lavage et de la stérilisation de la verrerie.

RQ: les procédures de contrôle analytique sont applicables avec une fréquence variable, soit quotidienne ou hebdomadaire.

1. Contrôle de la salle de bactériologie:

a) Qualité de l'air ambiant:

Prélèvement:

Les endroits choisis pour cette évaluation sont:

Réfrigérateur

Incubateurs

Surfaces de travail

Protocole analytique:

Vérification mensuelle de la qualité bactériologique de l'air ambiant lors des activités analytiques. Un résultat inférieur à 15UFC/1000cm² est jugé satisfaisant.

La méthode consiste à exposer à l'air une boîte de pétri sans couvercle et contenant le milieu approprié, pendant une période de temps déterminé, permettant de calculer les bactéries de l'air se déposant sur une surface précise.

b) Qualité de surface de travail:

L 'entretien des surfaces de travail s'effectue par un nettoyage humide. Les surfaces de travail sont aseptisées à l'aide de solution désinfectante avant et après chaque manipulation.

La méthode d'écouvillonnage:

Consiste à frotter les surfaces sur une dimension donnée avec un écouvillon humide et d'inoculer celui-ci sur un milieu propice au développement des microorganismes



Figure 8: écouvillons

Mode opératoire:

On identifie un tube pour chaque point de prélèvement, on écouvillonne à l'aide d'un écouvillon stérile dans la solution de rinçage, 4 autres surfaces de 25cm² du même endroit de prélèvement, en ayant soin de rincer l'écouvillon dans le tube de solution de rinçage entre chaque prélèvement, puis on remet l'écouvillon dans la solution de rinçage et on lui coupe le tige avec des ciseaux stériles.

On referme le tube et on le conserve à 4°C.

Pour l'analyse, on agite vigoureusement le tube contenant l'écouvillon et on prélève aseptiquement 1ml et 0,1ml de la solution de rinçage afin de faire le dénombrement par incorporation à la gélose MTC

2. Contrôle de qualité du matériel du secteur de la bactériologie

a) Vérification des membranes filtrantes:

Vérification des caractéristiques suivantes:

- Bonne diffusion du milieu de culture (filtre doit être humecté après 15s de contact avec le milieu de culture)

- Non –diffusion du l'encre du quadrillé
- Absence de région hydrophobe

b) Vérification des entonnoirs:

Les entonnoirs gradués jetables utilisés doivent être vérifiés à l'aide d'une fiole jaugé de 100ml.

Si le niveau de l'eau n'est pas égal au trait prédéterminé de l'entonnoir, on rejette tout le lot dont les entonnoirs ne sont pas conformes

c) Contrôle de stérilité des boîtes de pétri:

Les boîtes de pétri doivent être stériles au moment de leur utilisation au labo, l'évaluation de la stérilité se fait dans le milieu de culture Plate Count Agar

Mode opératoire:

On introduit dans chaque boîte de pétri de la gélose Plate Count Agar, puis on incube ces boîtes de pétri pendant 3jours à 37°C et 22°C.

S'il y a une apparition des colonies, c'est-à-dire que les boîtes de pétri sont stériles

Si non il faut prévenir le fournisseur et/ou rejeter le lot.

d) Vérification de la verrerie et des flacons de prélèvement:

La verrerie (tube, erlenmeyers, flacon de prélèvement...), utilisée en microbiologie doit être exempte de tout produit bactéricide après son lavage. On doit s'assurer qu'elle ne contient pas de résidu acide ou alcalin, cause éventuelle d'inhibition de la croissance bactérienne.

Mode opératoire:

On utilise un volume déterminé de bouillon trypticase soya avec lequel, on mouille les parois intérieures du flacon ou de la verrerie, puis on incube à 37°C et à 22°C pendant 3jours.

S'il y a apparition de turbidité, c'est-à-dire que le flacon est stérile, sinon le flacon est non stérile, donc il faut prévenir le fournisseur ou/et jeter le lot.

3. Contrôle de qualité des milieux de culture:

Milieux déshydratés:

A chaque réception d'un nouveau lot de milieu de culture, vérification

- Etat physique du contenant (bien fermé, absence de déformation et présence d'anneau de sécurité)
- Milieu non pris en masse
- Date de préemption
- N° du lot
- N° du code

Milieux préparés:

Une mesure de pH et un contrôle de stérilité doivent être effectués à chaque préparation de milieu de culture et inscrit dans un registre, nous évaluons également la sélectivité des milieux à l'aide des souches de contrôle positives et négatives.

II. ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU

Nous avons recherché et dénombré les bactéries indicatrices de contamination au niveau des:

-Eaux brutes destinées à la production d'eau d'alimentation humaine (eau à la sortie de station de prétraitement).

-Eaux traitées pour l'alimentation humaine (eau traitée à la sortie de la station de traitement).

L'eau brute est analysée en utilisant la méthode du nombre le plus probable, l'eau traitée est analysée en utilisant la méthode de la membrane filtrante et la méthode par incorporation dans la gélose.

1. Analyse des coliformes totaux et fécaux

- *Méthode de la membrane filtrante*

La technique normalisée pour l'analyse des eaux destinées à la consommation humaine est la filtration sur membrane. 100ml d'eau bien homogénéisée sont filtrées aseptiquement sur une membrane de nitrocellulose de porosité 0,45µm. Cette

PROJET DE FIN D'ETUDES

membrane est mise à incuber sur un milieu sélectif **des coliformes**. Le milieu utilisé est le tergitol7 TTC

L'incubation de ce milieu à 37°C pendant 24h permet le dénombrement des coliformes

L'incubation à 44°C±0,5°C conduit au dénombrement des coliformes fécaux.



Figure 9 : technique de la membrane filtrante

- *Milieu de culture:*

Le tergitol 7 inhibe la croissance des microorganismes Gram+, limite l'envahissement par les proteus et favorise la récupération des coliformes. L'acidification due au métabolisme du lactose, en présence de l'indicateur coloré le bleu de bromothymol permet d'énumérer et d'identifier les coliformes caractéristiques de couleur jaune et d'un halo jaune.

Le TTC ajouté (chlorure de 2-3-5 Triphényl- Tetrazolium), permet la reconnaissance rapide d'*E.coli*.



Figure12 :tergitol 7

- *Incubation:*

Pour les coliformes fécaux, l'incubation se fait à une température de 44°C pendant 24h.

PROJET DE FIN D'ETUDES

Les boites des coliformes totaux sont incubées à 37°C pendant 48h.

- *Lecture des résultats:*

Après incubation, sont considérées comme positives, les boites ayant des colonies caractéristiques de couleur jaune avec un halo jaune.

Par convention, chaque colonie est considérée comme ayant été engendrée par un microorganisme.

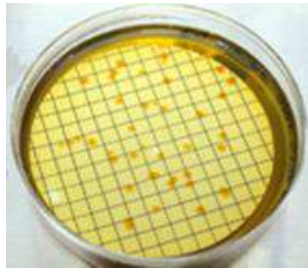


Figure13 : résultats après incubation

RQ: les membranes dénombrées sont ceux qui sont compris entre 20 et 80 colonies.

- *Méthode du nombre le plus probable:*

Pour l'eau brute, il s'agit d'ensemencer une prise d'essai de l'échantillon dans une série de tube de bouillon lauryl et d'incuber ensuite ces tubes pendant 48h à 37°C.

- *Mode opératoire:*

Préparation des dilutions

On prépare sur un portoir le nombre de tubes stériles correspondant au nombre de dilutions choisies, on introduit dans chacun d'eux 9ml d'eau distillé, ou eau distillée stérile. Puis on agite l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes et on transfère immédiatement a l'aide d'une pipette stérile 1ml de cet échantillon homogénéisé dans le premier des tubes contenant 9ml d'eau distillé. Cette dilution représente la dilution 10^{-1} avec une nouvelle pipette stérile, on transfère 1ml de cette dilution, homogénéisé, dans le deuxième tube 10^{-2} . Et ainsi de suite.

a-Test présomptif

PROJET DE FIN D'ETUDES

- *Mode opératoire*

Dans 9 tubes contenant le milieu de culture, on transfère avec une pipette stérile, respectivement 10ml, 1ml, 0,1ml de l'échantillon bien homogénéisé, et on mélange le contenu de ces 9 tubes de façon à obtenir une répartition homogène de l'inoculum et du milieu. Finalement les tubes sont incubés à 37°C pendant 48 h. Les tubes présentant un trouble avec du gaz dans la cloche sont positifs.

b-Test confirmatif

On procède à la confirmation de chaque culture provenant des tubes ayant donné une réaction positive, en ensemençant à l'aide d'une anse bouclée le bouillon lactosé au vert brillant pour les coliformes totaux et l'ECmedium pour les coliformes fécaux.

- Les coliformes totaux sont incubés à 37°C pendant 48h
- Les coliformes fécaux sont incubés à 44°C pendant 24h

- *Résultats*

Les tubes présentant un trouble avec dégagement du gaz dans la cloche sont positifs;

Toutes les bactéries éventuellement présentes sont révélées par des propriétés caractéristiques qui leur sont propres. (Exemple pour les coliformes leur présence est révélée par du trouble du milieu et la présence de gaz dans la cloche). On compte ensuite le nombre de séries de tubes positifs et le nombre de tubes négatifs et on obtient les résultats en extrapolant sur une table statistique appelée: table de MAC CRADY (voir annexe)

Ces microorganismes sont recherchés dans l'eau brute en utilisant la méthode du NPP

Le nombre de coliformes totaux ou fécaux par 100ml d'échantillon est donné par l'expression suivante:

$$N=NPP/t$$

Avec: NPP:nombre le plus probable dans la table de MAC CRAY

t: taux de dilution correspondant à la dilution la plus forte retenue

2. Analyse des streptocoques fécaux

La filtration sur membrane 100mL d'eau est la plus généralement pratiquée pour l'eau traitée. Le milieu le plus utilisé est la gélose de slanetz (voir annexe), utilisant le TTC pour la caractérisation des colonies. L'incubation a lieu à 37°C pendant 48h.

Méthode de la membrane filtrante:

- Mode opératoire:

Le mode opératoire est le même que celui des coliformes. Un volume de 100ml est filtré aseptiquement sur une membrane filtrante stérile.

- Milieu de culture

Le slanetz permet d'inhiber la croissance des microorganismes Gram-.

Le TTC ajouté permet de mettre en valeur des colonies de couleur rouge à marron.

- Lecture des résultats

Toutes les colonies présentant une couleur rouge, rose à marron sont considérées positives, don il est indispensable de confirmer la présence des streptocoques fécaux par un test confirmatif.

Méthode du nombre le plus probable:

- Milieu de culture

On utilise le bouillon de Roth pour le test présomptif et le bouillon Litsky pour le test confirmatif.

a-test présomptif

- Incubation

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 48h

- Résultat

Les tubes présentant un trouble avec dépôt violet au fond sont positifs.

3. Analyse des bactéries hétérotrophes aérobies anaérobies à 22 et 37°C (BHAA)

La recherche se fait par inclusion en gélose standard plate count agar (PCA) (voir annexe). Pour l'énumération des micro-organismes revivables à 37°C, on ensemence 1ml d'eau. S'il y'a présomption de forte contamination, il est possible d'ensemencer des volumes plus réduits.

Pour le dénombrement à 20°C (micro-organismes mésophiles), on incorpore les mêmes volumes que précédemment en milieu PCA

- Milieu de culture

La gélose PCA est utilisée pour le dénombrement des germes aérobies anaérobies totaux dans les eaux.

- Mode opératoire

On liquéfie la gélose vers 45-50°C, on place 1ml de l'eau à tester dans des boîtes de pétri stériles, puis on coule la gélose fondue sur ces dernières, et on les laisse solidifier, après une bonne agitation. L'incubation se fait à:

- 22°C pendant 72h.
- 37°C pendant 24h.

- Lecture des résultats

Le dénombrement des colonies est effectué par un compteur des colonies à affichage numérique. Seules les boîtes présentant entre 30 et 300 colonies sont prises en compte.

Le résultat est exprimé en unité formant colonie (UFC)/ml

N=nombre de colonies dénombrées/volume d'échantillon analyse en ml

4. Méthode de recherche de clostridium:

Après destruction des formes végétatives par chauffage à 80°C, l'échantillon est ensemencé sur la gélose TTC (voir annexe), et on incube dans des conditions d'anaérobiose. La présence de clostridium se traduit par la formation de sulfure de fer donnant des colonies noires après incubation.

- Mode opératoire

On introduit 100ml d'échantillon d'eau traitée dans un flacon stérile, on place ce flacon dans un bain –marie bouillant (80°C) pendant 10 min, puis on le refroidit à 47°C.

On filtre sur une membrane stérile (de 0,2µm de porosité) 100ml échantillon d'eau traitée dont on a préparé et on dépose la membrane sur la boîte de pétri, face retournée sur la gélose, en évitant toute incorporation d'air.

On place la boîte préparée dans la jarre d'anaérobiose. Puis on l'incube à 37°C pendant 48h.

- Lecture des résultats

On fait la lecture après 48h, en considérant toute colonie noire comme résultat d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice.

III. Evolution du nombre de bactéries indicatrices de contamination au cours des étapes de traitement

Pour s'assurer de l'efficacité du traitement effectué à l'ONEP, nous avons réalisé des analyses microbiologiques de l'eau durant les différentes étapes de traitement.

Donc nous avons prélevé 2 échantillons, en respectant les conditions d'échantillonnage:

- Échantillon d'eau brute (entrée de la station de traitement)
- Échantillon d'eau traitée (sortie de la station de traitement)

Ensuite nous les avons analysés selon les méthodes décrites précédemment

RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS DU CONTROLE DE QUALITE DES PARAMETRES ANALYTIQUES:

1. Résultat du Contrôle de la salle de bactériologie

a) Contrôle des surfaces de travail (1fois/mois/place)

Tableau 4: résultat du contrôle de la salle de bactériologie

Lieux	Point de contrôle	Date de contrôle	Heure de contrôle	Résultats bactériologiques en UFC/25cm ²	Méthodes utilisés	Conformité
	Paillase1	17/04/11	11H00	1	Ecouvillonnage	C
	Paillase2	17/04/11	11H00	1	Ecouvillonnage	C
Réfrigérateur		17/04/11	12H00	2	Ecouvillonnage	C
Etuve 37°C		17/04/11	12H07	0	Ecouvillonnage	C
Etuve 44°C		17/04/11	12H13	6	Ecouvillonnage	C

Résultats attendus:

<25UFC/25cm² ⇒ conforme

>25UFC/25cm² ⇒ non conforme

PROJET DE FIN D'ETUDES

b) Contrôle de l'air ambiant;(1fois/mois par point)

Tableau 5: résultat du contrôle de l'air ambiant

Lieux	Point de contrôle	Date de contrôle	Heure de contrôle	Résultats en UFC /100cm ²	Conformité
Salle bactériologique	P1	23/04/11	11H00	11	c

Résultats attendus:

<15UFC/1000cm²⇒ conforme

>15UFC/1000cm²⇒ non conforme

c) Contrôle de la stérilité de la verrerie et des flacons:

Les conditions aseptiques sont fortement demandées dans la bactériologie, on est donc obligé d'utiliser des flacons, verrerie.... stériles.

La lecture après incubation, de la verrerie contenant de la gélose MTC, montre qu'elles sont toutes négatives et cela indique que la verrerie a été stérilisée correctement

d) Contrôle de stérilité des milieux de culture:

Les boîtes de pétri et les tubes contenant les milieux de culture testés, ne présentent ni trouble ni changement de couleur, cela montre que la distribution des milieux de culture dans les boîtes a été faite dans des conditions aseptiques.

e) Contrôle de température des appareils:

D'après le tableau (voir annexe), la température varie dans l'intervalle de la norme, ce qui nous assure des conditions thermiques convenables pour l'incubation.

II. Résultat des analyses microbiologiques de l'eau:

PROJET DE FIN D'ETUDES

1. Bactéries indicatrices de la contamination microbienne dans l'eau brute

- *Coliformes totaux, fécaux et streptocoques fécaux:*

Au niveau de l'eau brute, nous avons obtenu :

Les Coliformes totaux: 75 colonies.

Les Coliformes fécaux: 150 colonies.

Les Streptocoques fécaux: 75colonies.

Tableau 6: résultats des tests présomptifs et confirmatifs pour les coliformes totaux, fécaux et les strepto fécaux

	Nombre des tubes positifs						Résultats		
	Test présomptif			Test confirmatif			dilution	Npp	Résultats
	10	1	10 ⁻¹	10	1	10 ⁻¹			
CT	3	3	2	3	1	1	1	75	75
CF	3	3	2	3	2	1	1	150	150
SF	3	3	2	3	1	1	1	75	75

2. Bactéries indicatrices de la contamination microbienne dans l'eau traitée:

- *Coliformes totaux, fécaux; strepto fécaux et les clostridium*

Les résultats obtenus sont négatifs; il n'y a aucune colonie que ce soit dans les boites des CF et SF ou celles des CT et clostridium.

Tableau 7: résultats de la recherche des CT, CF, SF et C dans l'eau traitée par la méthode de la membrane filtrante

Germes	Le nombre des germes
CT	0 CT/100ml
CF	0 CF/100ml
SF	0 SF/100ml

PROJET DE FIN D'ETUDES

CLOSTRIDIUM	0 C/100ml
--------------------	------------------

- *Les bactéries revivables (BHAA):*

Les résultats obtenus sont négatifs; il n'y a aucune colonie que ce soit dans les boîtes incubées à 22°C ou à 37°C.

Tableau 8: résultats obtenus lors de la méthode d'incorporation en gélose

	Eau traitée	témoin
BHAA 22°C	0UFC/ml	0UFC/ml
BHAA 37°C	0UFC/ml	0UFC/ml

Selon les résultats obtenus, on constate une chute du nombre de bactéries indicatrices de la contamination des eaux, au cours des étapes de traitement.

Le nombre des CF, CT et SF passe respectivement 75, 150 et 75 colonies dans l'eau brute et un nombre nul dans l'eau traitée

Cette importante diminution remarquée, grâce au processus de chloration, est témoin du rendement élevé du traitement.

Conclusion

Le contrôle de la qualité analytique, effectué au laboratoire de l'ONEP, est très satisfaisant. La réalisation de ce contrôle au cours de l'analyse bactériologique, était indispensable pour nous garantir la fiabilité des résultats de l'analyse.

L'évaluation de la charge bactériologique des eaux brutes par l'analyse bactériologique permet d'apprécier le type de traitement qu'il faut mettre en œuvre.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que l'eau brute, en sortie de la station de prétraitement de "oued Sebou", à une concentration en CF, CT et SF respectivement de 75 ,150 et 75 germes par 100ml. Donc il s'agit d'une eau contaminée par les germes de pollution.

En effet, il ne s'agit pas d'un signal d'alarme, mais plutôt, d'une évaluation de l'importance de la pollution fécale, dans le but d'apprécier le traitement qu'il faut mettre en œuvre. En effet, quand une eau n'est pas apte à être distribuée comme eau potable, on doit y remédier par un traitement, le type de traitement à appliquer dépend de la charge bactérienne de cette eau.

L'eau brute doit subir un traitement pour la rendre potable. Ce type de traitement consiste à passer l'eau via une chaîne de traitements au niveau de la station de traitement "ain noukbi", dans laquelle plusieurs étapes sont mises en œuvre pour éliminer d'abord mécaniquement la matière en suspension dans l'eau à l'aide d'un

procédé physico-chimique, puis détruire ou inactiver les microorganismes par un autre procédé de désinfection

Enfin, on peut dire que l'analyse bactériologique constitue un contrôle préventif du danger mais, elle reste encore une analyse d'indicateurs, dont il convient de mettre en œuvre d'autres procédés chimiques, physiques et microbiologiques pour s'assurer de la potabilité des eaux avant sa distribution, pour qu'elles soient bonnes et incapables de nuire à la santé du consommateur.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIE

BENABDALLAH S., 2000. Evaluation de qualité bactérienne des eaux. Germes à rechercher selon le type et l'usage de l'eau. ONEP. Rabat, 3-21.

JEROME J.P., JAMES T.S., STEPHEN L.2004 : MICROBIOLOGIE. DUNOD, Sinauer associate, 850-853.

REGNAULT J.P. 1990 : MICROBIOLOGIE GENERALE. Dacarie Vigot, 599-601.

RODIER T., BAZIN C. , BROUTIN JP., CHAMPSAUR H., RODI L. 1997 : Analyse de l'eau : Eaux naturelles , Eaux Résiduaires ,Eaux de mer. Dunod. Paris, 753-771 ; 1107-1117.

www.onep.org.ma.

Documents et archives de l'ONEP.

ANNEXES

Tergitol-7 agar

Peptone pancréatique de viande.....	10g/l
Extrait de viande.....	5g/l
Extrait autolytique de levure.....	6g/l
Lactose.....	20g/l
Tergitol -7.....	0,1g/l
Bleu de bromothymol.....	0,05g/l
Agar agar bactériologique.....	10g/l

Gélose Slanetz:

Tryptose.....	20g/l
Extrait autolytique de levure.....	6g/l
glucose.....	2g/l
Phosphate di potassique.....	4g/l
Azide de sodium.....	0,4g/l

PROJET DE FIN D'ETUDES

Agar agar bactériologique.....10g/l

Gélose PCA

Tryptose.....5g/l

Extrait de levure.....2,5g/l

Glucose.....1g/l

Agar agar bactériologique.....15g/l

E.C.Médium

Tryptose.....20g/l

lactose.....5g/l

Sels biliaires n°3.....1,5g/l

Phosphate dipotassique.....4g/l

Phosphate monopotassique.....1,5g/l

Chlorure de sodium.....5g/l

Lauryl sulfate de sodium

Tryptose.....20g/l

lactose.....5g/l

Phosphate dipotassique.....1,5g/l

Phosphate monopotassique.....4g/l

Chlorure de sodium.....1,5g/l

Lauryl sulfate de sodium.....5g/l

Bouillon lactosé bilié au vert brillant

Tryptone.....10g/l

Bile de boeuf bactériologique.....20g/l

Lactose.....10g/l

Vert brillant.....0,0133g/l

Milieu de Rothe

PROJET DE FIN D'ETUDES

Tryptone.....45g/l
 Extrait de viande.....7,5g/l
 Glucose de soduim.....7,5g/l
 Azide de sodium.....0,2g/l

Milieu litsky

Poly peptone.....20g/l
 Glucose.....5g/l
 Phosphate dipotassique.....2,7g/l
 Phosphate monopotassique.....2,7g/l
 Azide de sodium.....;.....0,3g/l
 Ethyl-violet.....0,0005g/l

Tableau: résultats du contrôle de la température des étuves et des réfrigérateurs

Mois	Jours	Etuve 22°C (22±1°C)	Etuve 37°C (37 ±1°C)		Etuve 44°C (44±1°C)		Réfrigérateur1 (4±1°C)	Réfrigérateur II (4±1°C)
			T°C	T°C	T°C	T°C		
			1	2	1	2		
Avril	20	23	35	37	44	43	4	3
Avril	21	22,5	36	35,5	44	44	4	3
Avril	22	22	35,5	36	44,5	43,5	4	3
Avril	23	22	36	36,5	45	44,5	3,5	4
Avril	24	22,5	35,5	36,5	44	43,5	3	4
Avril	25	23,5	36	36	44	45	3	4

PROJET DE FIN D'ETUDES

Avril	26	22,5	36	37	43,5	44	3	4
Avril	27	22	36	36,5	44	44	4	4
Avril	28	23	35	37	44,5	44	4,5	4

LISTE D'ABREVIATIONS

CF : coliformes fécaux
CT : coliformes totaux
SF : streptocoques fécaux
UFC : unité formant colonies
BHAA : bactérie hétérotrophe aérobie anaérobie
C : conforme
PCA : Plat count agar