



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES  
Département de Biologie  
FES

# Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques

«Bioprocédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

## *Analyse bactériologique d'eau brute et d'eau traitée*

Présenté par :

- BALITERE Khaoula

Encadré par :

- EL FELLAH Mohamed (Ingénieur de qualité ONEE)
- Pr. MAÂZOUZI Nadia (FST Fès Saïs)

Soutenu le : 16/06/2015

Devant le jury composé de :

- Pr. Nadia MAÂZOUZI Présidente
- Pr. Bouchra OUHMIDOU

Année universitaire  
2014/2015



## REMERCIEMENTS

*Au terme de ce projet de fin d'études, je tiens à remercier M<sup>r</sup> M.Abdellaziz HDOJD, Chef de Secteur Production, qui m'a permis d'effectuer ce stage au sein du laboratoire Régionale de Fès situé à Ain Noukbi.*

*Je remercie M<sup>r</sup> EL FALLAH Mohamed mon encadrant à l'ONEE, pour m'avoir accueillie et veillé au bon déroulement de mon stage. J'adresse mes sincères remerciements à Pr. MAÂZOUZI Nadia mon professeur et mon encadrante à la FST, pour son aide précieux, son soutien et sa disponibilité, ainsi que pour ses encouragements.*

*Mes remerciements vont également aux Pr. OUHMIDOU Bouchra et MAÂZOUZI Nadia pour avoir accepté de juger mon travail.*

*Je remercie aussi l'ensemble du personnel du Laboratoire régionale de Fès.*

*Ainsi toute personne qui a participé à l'élaboration de ce travail de près ou de loin.*



## LISTE DES ABRÉVIATIONS

- **ONEE** : *Office Nationale de l'Electricité et de l'Eau Potable.*
- **La RADEEF** : *La Régie Autonome intercommunale de Distribution d'Eau et d'Electricité de la wilaya de Fès.*
- **MES** : *matière en suspension.*
- **NTU** : *Unité turbidité néphélométrie*
- **ASR** : *les anaérobies sulfito-réducteurs.*
- **CF** : *les coliformes fécaux.*
- **CT** : *les coliformes totaux.*
- **SF** : *les streptocoques fécaux.*
- **MOR** : *les micro-organismes revivifiables.*
- **ISO 22000** : *est une norme internationale, relative à la sécurité de denrées alimentaires. Elle est applicable pour tous les organismes de la filière agro-alimentaire.*



# SOMMAIRE

Remerciement.....	1
Abréviation.....	2
Introduction.....	5
Présentation de l'ONEE.....	6-7
Partie 1 : Bibliographie.....	7
i.    Processus de production de production d'eau potable.....	8
1. Station de prétraitement.....	8
a) Dégrillage.....	8
b) Station de relevage.....	8
c) Dessablage.....	9
d) Débourage.....	9
2. Station de traitement.....	9
ii.   Analyse bactériologique de l'eau.....	12
1. Bactéries recherchés.....	12
a) Coliformes totaux.....	12
b) Coliformes fécaux.....	13
c) Streptocoques fécaux.....	13
d) Anaérobies sulfite-réducteurs.....	13
e) Microorganismes revivifiables.....	14
2. Aspect législatif.....	14
Partie 2 : Matériel et Méthode.....	15
i.    Analyse bactériologique de l'eau brute.....	15
Principe de la méthode.....	15
1. Milieux de culture utilisés.....	15
2. Mode opératoire.....	15
a) Analyse des coliformes totaux.....	16
b) Analyse des coliformes fécaux.....	17
c) Analyse des Streptocoques fécaux.....	17
ii.   Analyse bactériologique de l'eau traitée.....	17
Principe de la membrane filtrante.....	18
1. Milieux de culture utilisés.....	18
2. Mode opératoire.....	18
a) Analyse des coliformes fécaux et totaux.....	19
b) Analyse des streptocoques fécaux.....	19



c) Analyse des anaérobies sulfito-réducteurs.....	20
Principe de l'incorporation en gélose.....	20
1. Milieux de culture utilisés.....	20
2. Mode opératoire.....	20
Analyse des bactéries revivifiables à 22°Ce 37°C.....	21
Partie 3 : Résultat et discussion.....	22
I. Résultat d'analyse bactériologique de l'eau brute .....	22
1. Résulta du test expérimental.....	22
2. Analyse et interprétation des résultats.....	22
II. Résultat d'analyse bactériologique de l'eau traitée.....	23
1. Résulta du test expérimental.....	23
2. Analyse et interprétation des résultats.....	23
Conclusion	

# introduction

## L'eau

est indispensable à l'existence, au développement et à la vie de tous les êtres vivants y compris l'homme. Ainsi l'eau est nécessaire à la réalisation des activités humaines qu'elles soient industrielles, domestiques ou pour l'agriculture. L'eau recouvre **72 %** de la surface de la terre mais seulement **0,3 %** des réservoirs globaux en eau sont utilisés comme eau potable.

- Il existe trois ressources disponibles d'eaux naturelles :
  - Les eaux souterraines : (puits, nappe phréatique, infiltration).
  - Les eaux de surfaces : (Lacs, étangs, rivières, fleuves).
  - Les eaux de mer et eaux saumâtres.

Une eau potable est une eau que l'on peut boire sans risque pour la santé. Afin de définir précisément une eau potable, des normes ont été établies qui fixent notamment les teneurs limites à ne pas dépasser pour un certain nombre de substances nocives et/ou de **microorganismes pathogènes** susceptibles d'être présentes dans l'eau.

Pour avoir une eau potable, l'eau doit subir des étapes de traitement précises, ainsi que des analyses microbiologiques, et physico-chimiques.

Afin d'arriver chez chacun d'entre nous, l'eau potable emprunte un circuit fait de canalisations qui la conduit depuis la station de production d'eau potable jusqu'aux réservoirs de stockage puis nos robinets.

J'ai effectué un stage dans la station de traitement de l'eau d'Oued Sebou, (traitement des eaux de surface), dans le but est de connaître les différentes étapes de traitement de l'eau potable et de déterminer la présence ou non de microorganismes pathogènes par différentes **analyses microbiologiques** afin de s'assurer de la qualité de l'eau potable.

Le rapport de mon stage traite trois parties :

- ➔ Etude bibliographique.
- ➔ Matériel et méthodes.
- ➔ Résultats et discussion.



## Présentation de l'ONEE

### 1. Définition :

L'*Office National de l'Eau potable et d'électricité* ou ONEE est un établissement public marocain, à caractère industriel et commercial doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière. L'ONEE a été créée par le dahir en 1929 sous le nom de REIP (régie d'exploitation installation et planification) ; finalement l'ONEE a été Créé en 1972, c'est un acteur principal dans le secteur de l'eau potable et de l'assainissement au Maroc, il assure la planification, la production et la distribution des ressources hydriques du pays.

### 2. Historique :

- 1929 : L'ONEE a été créée par le dahir sous le nom de REIP (régie d'exploitation installation et planification).
- 1972 : c'est un acteur principal dans le secteur de l'eau potable et de l'assainissement au Maroc, il assure la planification, la production et la distribution des ressources hydriques du pays.
- 1978 : l'ONEE a commencé la production d'eaux potables.
- 1978-1984 : deux adductions captant les eaux de 7 forages sont mis en place.
- 1989-1991 : traitement des eaux brutes chargées de matières en suspension à la station de prétraitement.
- 1992-1994 : l'ONEE assure l'alimentation en eau potable de la ville de Fès à partir de 8 forages dans la région de Ras Elma et la Route de Séfrou.

### 3. Les missions principales de l'ONEE :

L'ONEE de Fès assure la production d'eau potable qui est servie par des ressources souterraines (plaine de Sais) ou par des ressources de surface (Oued Sebou) qui est le but de mon projet. L'eau potable produite par l'ONEE est distribuée par la RADEEF.

#### *L'ONEE remplit les fonctions suivantes :*

- 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 la mission.



Pour assurer toutes les missions citées ci-dessus et afin de produire une eau potable, l'ONEE dispose d'une station de prétraitement, d'une autre pour le traitement, et d'un laboratoire régional pour le contrôle de la qualité d'eau finale.

#### **4. Complexe de production d'eau potable : Oued Sebou**

La production d'eau potable peut se faire à partir des eaux de surface. Oued Sebou est considéré comme une source d'eau potable pour la ville de Fès, mais il faut noter que ses eaux sont polluées suite aux mauvaises habitudes de l'être humain (les rejets des micro-industrielles); alors elle doit subir un traitement efficace pour produire une eau conforme aux normes fixées.

##### **a. La station de prétraitement :** située à Sebou.

Cette station de pompage envoie l'eau brute pour l'acheminer à la station de traitement située à 2,5 Km de la station de prétraitement. Le rôle de la station est d'extraire l'eau brute et diminuer le taux de MES en suspension jusqu'à une valeur inférieure à **2g/l** et de l'acheminer jusqu'à la station de traitement.

##### **b. La station de traitement :** située à Ain Noukbi

La station assure le traitement des eaux reçues de la station de prétraitement selon des étapes :

- ✓ Traitement des eaux issues de la station de prétraitement selon une série d'étapes citées ci-dessous.
- ✓ Le contrôle de la qualité des eaux traitées au sein du laboratoire Régional.
- ✓ Refoulement des eaux vers le réservoir BAB ELHAMRA.

##### **c. Laboratoire régional de Fès :**

Le laboratoire régional de Fès effectue le contrôle de qualité des eaux traitées par des analyses:

- **Analyse de type ①** : comprend les paramètres bactériologiques ainsi que certaines analyses physico-chimiques.
- **Analyse de type ②** : des paramètres physico-chimiques et bactériologiques pouvant être liés à la contamination fécale des ressources en eau.
- **Analyse de type ③** : comprend les paramètres organoleptiques, les éléments toxiques indésirables ainsi, un système de contrôle des paramètres analytiques est mis en place.



## Partie 1 : Etude bibliographique

### *i. Processus de production d'eau potable :*

Pour rendre l'eau potable, la station applique des traitements qui peuvent varier suivant la qualité et l'origine de l'eau :

- Si l'eau a un taux de matières en suspension : M.E.S > 2g/l : l'eau doit subir un prétraitement.
- Si l'eau a un taux de matières en suspension : M.E.S < 2g/l : l'eau sera directement pompée vers la station de traitement.

### **1. Station de prétraitement :**

La station de prétraitement de FES est située sur la rive gauche de l'Oued Sebou à la sortie de la ville. Elle est mise en disposition quand les matières en suspension sont comprises entre **2g/l et 50g/l** notamment lors des crues. Elle comporte plusieurs opérations, chacune d'elles a son efficacité et complète les autres qui la précèdent. Le prétraitement comporte les opérations suivantes :

- **Le dégrillage.**
- **La Station de relevage.**
- **Le dessablage.**
- **Le Débourage.**

#### **a) Le dégrillage :**

Cette opération est assurée par une grille métallique à commande automatique qui, par mouvement de va et viens de bas vers le haut, permet :

- De protéger les ouvrages contre l'arrivée de gros objets susceptibles de provoquer des colmatages dans les différentes unités de l'installation.
- De séparer et d'évacuer facilement les matières volumineuses charriées par l'eau brute qui pourraient nuire à l'efficacité des traitements qui suivent.



**Photo 1: le dégrilleur.**

### **b) le relevage :**

C'est une opération qui consiste à pomper l'eau de l'Oued 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**.



**Photo 2 : les Vis d'Archimède.**

### **c) Le déssablage :**

C'est une opération physique qui consiste à retenir les sables entraînés par l'écoulement de l'eau. Le déssablage a pour but d'éviter le colmatage des canaux au cours de l'acheminement de l'eau ; cette opération concerne les particules de granulométrie **supérieure à 200µm**.



**Photo 3 : Le dessableur.**

### **d) Le débouillage :**

C'est une étape qui a pour but d'éliminer certaines matières en suspension. Le débouillage est mis en service lorsque le taux de MES est **supérieur à 2g/l**. Cette étape est précédée par l'addition d'un **poly électrolyte** dans le but est d'agglomérer les petites particules mises en suspension afin de faciliter leur élimination.



**Photo 4 : le débourbeur.**

## **2. station de traitement :**

Cette étape a pour but d'abaisser la turbidité, élimine la pollution chimique et microbiologique par une série de transformations afin d'obtenir une eau potable destinée à l'alimentation humaine. Les principales étapes du traitement sont :

- ***La pré-chloration.***
- ***La coagulation-floculation.***
- ***La décantation.***
- ***La filtration.***
- ***La désinfection.***

### ***a) La pré-chloration :***

La pré-chloration d'eau brute a pour but :

- D'oxyder le fer et le manganèse contenus dans l'eau brute, donc de détruire les matières organiques afin d'améliorer l'odeur et le goût.
- De détruire les micro-organismes, d'inhiber la croissance algale et la formation de biofilm.
- Le produit généralement utilisé est **le chlore**.

### ***b) la coagulation-floculation :***

✓ ***Coagulation :***

Ce traitement consiste à ajouter des produits chimiques ou des coagulants, la charge positive de ces derniers neutralise la charge négative des particules dissoutes dans l'eau. Quand cette réaction se produit les particules se lient et forment des petits floccs qui se séparent lentement de l'eau.

Les coagulants les plus utilisés en traitement des eaux sont :

- Les sulfates d'alumine  $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18 H_2O$
- Le chlorure ferrique  $FeCl_3$ .

✓ *Floculation :*

La taille des floccs déjà formés aux cours de la coagulation n'est pas suffisante pour la décantation, alors on injecte un flocculant accompagné d'une agitation lente, l'agglomérat obtenu aura une taille satisfaisante pour sédimenter dans le bassin. On utilise comme flocculant :

- Les polymères.
- L'alginate.

**c) la décantation :**

La décantation consiste à la séparation de MES qui sont rassemblés sous forme de floccs après l'étape de coagulation –floculation. Il s'agit d'un procédé de séparation solide/liquide basé sur la différence de densité des particules, à la station de traitement il y a six décanteurs, chacun possède un débit de 900 m<sup>3</sup>/h.



**Photo 5 : le décanteur.**

**d) la filtration à sable:**

C'est le type de filtration utilisée à la station ; elle consiste à faire passer l'eau à travers un matériau poreux afin d'éliminer les matières en suspension restantes de l'étape précédentes. A la fin de filtration, la turbidité doit avoir des valeurs inférieures ou égales à 0,5 NTU.



**Photo 6 : les filtres à sable.**

### e) La désinfection :

C'est l'étape finale à la station de traitement, l'objectif recherché à ce stade est la destruction des bactéries pathogènes de l'eau pour éviter les maladies hydriques. Pour les désinfectants, on peut citer à titre d'exemple : l'ozone, dioxyde de chlore, rayonnement UV et le chlore qui est utilisé à la station de traitement. Finalement on obtient une eau potable qui peut être destinée à la consommation humaine. *L'eau est stockée dans les réservoirs de la station puis pompée vers le réservoir de BAB ELHAMRA pour qu'elle soit distribuée par la RADEEF.*

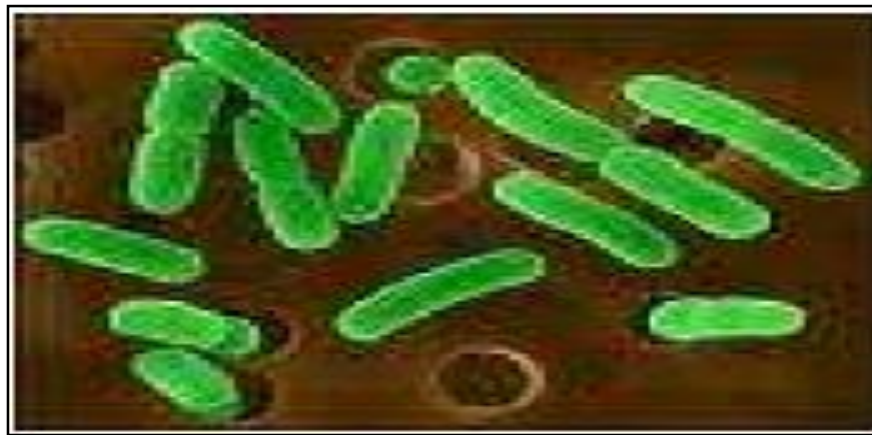
### ii. Analyse bactériologique de l'eau :

#### 1. Les bactéries recherchées :

L'analyse bactériologique de l'eau est indispensable afin de s'assurer de l'efficacité du traitement vis-à-vis des germes ci-dessous :

- **Les coliformes totaux.**
- **Les coliformes fécaux.**
- **Les streptocoques fécaux.**
- **Les anaérobies sulfito-réducteurs.**
- **Les microorganismes revivifiables.**

#### a) Les Coliformes totaux :



**Photo 7: les coliformes totaux.**

Les **coliformes totaux** sont des indicateurs d'une contamination fécale. Ils sont définis comme étant des bactéries en forme de **bâtonnet**, **aérobies ou anaérobies facultatives Gram négatif, non sporulés** ; ils sont capables de croître en **présence de sels biliaires**. Les coliformes totaux possèdent la  **$\beta$ -galactosidase** permettant l'hydrolyse du lactose à **35° C** afin de produire **des colonies rouges** sur un milieu gélosé.

Les coliformes totaux croissent en aérobiose à **37°C** en milieu liquide bilié lactosé au vert brillant en produisant **d'acide et de gaz en 48h**. (Instituts nationale de santé publique Québec 2013).

**b) les Coliformes fécaux :**



**Photo 8 : les coliformes fécaux.**

On parle aussi des **Coliformes thermo tolérants**, capables de fermenter le lactose à une température de **44°C**. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est **l'Escherichia coli**, principale bactérie de contamination fécale. Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique. (Institut national de santé de Québec 2013).

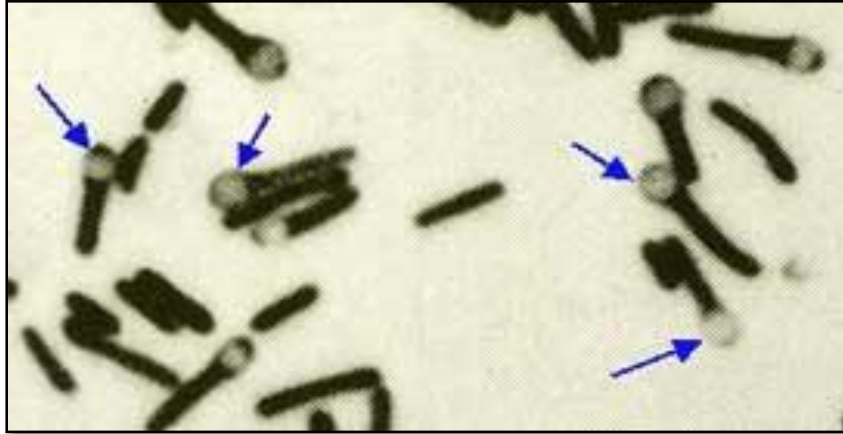
**c) Les Streptocoques fécaux :**



**Photo 9 : les streptocoques fécaux.**

Ce sont des bactéries de forme **sphérique** au **coccoïde**, **Gram+**, disposées en **pair** ou en **chaînette**, **dépourvues de catalase**, capables de croître à **37 °C** en **48h** ; elles font partie de la flore intestinale normale humaine ou d'autres animaux à sang chaud. Ces bactéries constituent un indice de contamination fécale ancienne, capables **d'hydrolyser l'esculine en présence de bile**.

#### d) Les *Clostridium* sulfito-réducteurs :



**Photo 10: des clostridium sporulés.**

Les *clostridium sulfito-réducteurs* sont des germes **anaérobies stricts**, sous formes de **bâtonnet, sporulant, d'origine tellurique** et très **résistants** aux traitements de désinfection, ils constituent un bon indicateur de l'efficacité de la désinfection.

#### e) Les *microorganismes revivifiables* :

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits "revivifiables" permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle. Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des bactéries aérobies anaérobies facultatives, elles nécessitent essentiellement de la matière organique comme source de carbone et une température optimale située entre **20 et 45 °C**.

### 2. Aspect législatif:

Il est important de connaître les différentes normes et les indicateurs de potabilité de l'eau. Le contrôle de la qualité de l'eau est indispensable pour éviter autant de maladies et de mortalité, une eau avant d'être consommée sans danger pour la santé ; elle doit répondre à certaines normes de potabilité telle que la potabilité microbiologique. La présente norme fixe les exigences auxquelles doit satisfaire la qualité des eaux d'alimentation.

**Tableau1: norme marocaine relative à la consommation.**

<i>Germes recherchés</i>	<i>Norme Marocaine fixée</i>
<i>Les coliformes.</i>	<i>0 UFC/100 ml</i>
<i>Entérocoques intestinaux.</i>	<i>0 UFC /100 ml</i>
<i>Les clostridium sulfito-réducteur.</i>	<i>0 UFC /100 ml</i>
<i>Les bactéries hétérotrophes revivifiables.</i>	<i>20 UFC/1 ml à 37C° 100 UFC/1 ml à 22C°</i>



❖ Remarque :

Il faut signaler qu'au sein de laboratoire régionale, des analyses physico-chimiques sont effectuées quotidiennement sur des prélèvements au niveau de l'eau brute, l'eau décantée, l'eau filtrée ainsi que l'eau traitée, (La température, la turbidité, le pH, la conductivité et la teneur en chlore résiduel).





## Partie2 : Méthodologie

Au sein de laboratoire régional, l'analyse bactériologique de l'eau s'effectue au niveau de l'eau brute et d'eau traitée.

### *i. Analyse bactériologique de l'eau brute :*

L'eau brute est analysée en utilisant la méthode **du nombre le plus probable NPP**.

#### ❖ Principe de la technique :

Cette méthode permet de révéler de plus faibles quantités de germes que la plupart des méthodes de numération en milieu solide. Elle repose sur une analyse statistique et fournit par calcul des nombres les plus probables. Cette méthode est applicable aux échantillons ayant une teneur plus ou moins élevée en MES, elle consiste à ensemencer Trois milieux de culture par dilution, les tubes ensemencés contiennent un milieu nutritif, dans notre cas **milieu Rothe** pour les **streptocoques fécaux** ou **Lauryl** pour **les coliformes** avec introduction de cloche de Durham dans ce dernier, après incubation on note la croissance et la production de gaz dans chaque tube, enfin on compte le nombre des tubes positifs pour chaque dilution et on fait la lecture du NPP correspondant en utilisant la table de MAC CRADY.

#### 1) Les milieux de cultures utilisés :

**Bouillon de Rothe** : utilisé pour effectuer **le test présomptif** de recherche et de dénombrement des **entérocoques** dans les eaux d'alimentation. (BIOKAR)

**Bouillon de Litsky** : Le bouillon de Litsky à l'éthyle-violet est utilisé pour effectuer **le test confirmatif** de recherche et de dénombrement des streptocoques fécaux (entérocoques) dans les eaux d'alimentation, par la méthode du nombre le plus probable. (BIOKAR)

**Bouillon de Lauryl** : Ce milieu est utilisé pour **le test présomptif** des coliformes d'enrichissement sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des **coliformes** dans les eaux par la méthode de NPP. Le lauryl sulfate de sodium inhibe le développement de la flore secondaire contaminante.

➡ **Bouillon vert brillant** : Test confirmatif pour les coliformes totaux.

➡ **Bouillon EC medium** : Test confirmatif pour les coliformes fécaux.

#### 2) Modes opératoire :

##### *a) Analyses des coliformes fécaux et totaux :*

- **Test présomptif** : (on utilise un échantillon de volume de 100 ml )

Dans 9 tubes contenant le milieu **Lauryl**, 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 production du gaz dans la cloche sont positifs** .

- **Test confirmatif :**

On procède à la confirmation de chaque culture provenant des tubes ayant donné une réaction positive, en ensemencant 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**.

- **Lectures des résultats :**

Les tubes présentant un trouble avec dégagement du gaz dans la cloche sont positifs, ils confirment la présence des coliformes, On compte le nombre de séries de tubes positifs et le nombre de tubes négatifs et on obtient les résultats en extrapolant sur la table de MAC GRADY. la formule utilisée est la suivante.

$$N = \frac{NPP}{V_{ensemencé}} * FD$$

Avec: NPP: nombre le plus probable trouvé dans la table de MAC CRADY.

FD : le facteur de dilution : égale à l'inverse de la dilution la plus faible.

N : nombre de bactéries exprimée en coliformes/ml.

Si on travaille sans dilution le N sera égale au NPP trouvé sur la table de MAC GRADY.

### **b) Analyse des streptocoques fécaux :**

on utilise le bouillon de Rothe (on procédant le même mode opératoire que les coliformes) pour le test précomptif, les tubes sont incubés à **37°C** pendant **48h**. le bouillon Litsky utilisé pour le test confirmatif.

- **Lectures des résultats :** après 48h d'incubation, les tubes de Litsky présentant un trouble avec **dépôt violet** au fond sont positifs.

### **ii. Analyse bactériologiques d'eau traitée :**

L'analyse bactériologique de l'eau traitée est effectuée par la technique de **la membrane filtrante** et celle de **l'incorporation en gélose**. Cette analyse est effectuée de façon quotidienne afin de s'assurer du fonctionnement correcte de la station de traitement.

#### **❖ Principe de la technique de la membrane filtrante :**

C'est la plus utilisée au laboratoire, elle est applicable à toutes les eaux et en particulier à celles contenant une faible quantité de matières en suspension et un nombre relativement faible de germes (Eaux traitées). Généralement, on procède à une filtration par un appareil de filtration sur membrane. La membrane est en esters de cellulose, de porosité 0,45/ 0,2 µm, susceptible de retenir les bactéries (RODIER et al.1997). Un échantillon de 100 ml d'eau est filtré sur cette membrane, et est déposée à la surface d'un milieu gélosé. Après incubation, on compte le nombre de colonies exprimé en **UFC/100ml**.



**Photo 11:Technique de la membrane filtrante.**

### 1) les milieux de cultures utilisés :

#### ❖ **Le Tergitol 7 TTC :**

Ce milieu permet d'effectuer la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries *coliformes* dans les eaux, notamment celles destinées à la consommation humaine par la méthode de la membrane filtrante. Le Tergitol 7 inhibe la croissance des microorganismes à Gram positif, limite l'envahissement par les Proteus et favorise la récupération des coliformes. Ces derniers présentent des colonies de coloration jaune, à l'intérieur d'un halo jaune visible sous la membrane. Celui-ci est provoqué par l'acidification du lactose en présence de l'indicateur coloré, le bleu de bromothymol. Les germes qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies entourées d'un halo bleu. Les autres microorganismes présentent des colonies dont la coloration rouge est due à la réduction du TTC en formazan insoluble.

#### ❖ **Milieu Slanetz :**

C'est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des entérocoques intestinaux (*streptocoque fécaux*) dans les eaux d'alimentation, par la technique de la membrane filtrante. L'azide de sodium permet d'inhiber la croissance des microorganismes à Gram négatif. Le TTC est un indicateur de la croissance bactérienne. Il est réduit en formazan insoluble à l'intérieur de la cellule. Cette réaction se manifeste par l'apparition de colonies de couleur rouge à marron. (BIOKAR)

#### ❖ **Milieu TSC :**

La gélose Tryptone-Sulfite-Cyclosérine (TSC) utilisée pour l'isolement sélectif et le dénombrement de *Clostridium* dans les eaux destinées à l'alimentation humaine. Ce milieu est également recommandé pour le dénombrement des anaérobies sulfite-réducteurs dans les denrées d'origine animale. Les microorganismes sulfite-réducteurs réduisent le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies. (BIOKAR)

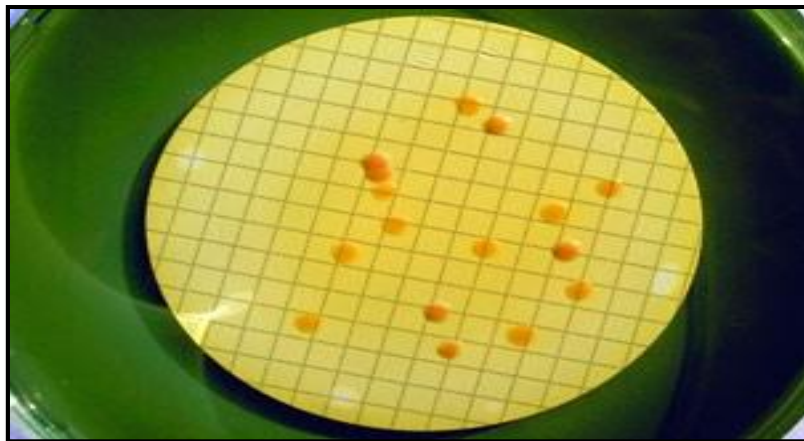
## 2) Mode opératoire :

### a) Analyses des coliformes totaux et fécaux :

100 ml d'eau (de roninet de la station) est filtrée aseptiquement sur une membrane de nitrocellulose de **0,45 µm** de porosité. Cette membrane est déposée sur le milieu gélosé Tergitol 7 TTC.

- les boites des ***coliformes totaux*** ,sont incubées à **37°C** pendant **48h**.
- Les boites des ***coliformes fécaux***, sont incubées à **44°C** pendant **24h**.

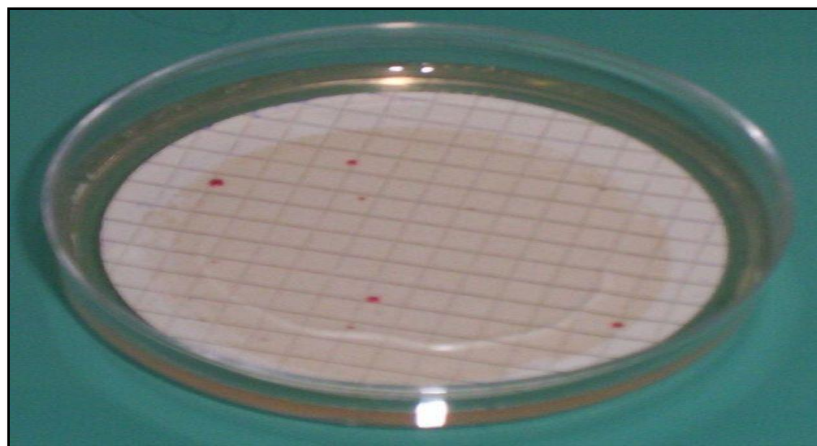
**Lecture des résultats** : Après incubation, sont considérées comme positives, les boites ayant des colonies caractéristiques de couleur jaune avec un halo jaune.



***Photo 12: des colonies jaunes orangés des coliformes.***

### b) Analyse des streptocoques fécaux :

Le mode opératoire est identique à celui des coliformes, 100 ml d'eau est filtrée aseptiquement sur une membrane de nitrocellulose de **0,45µm** de porosité.la membrane est déposée sur le milieu gélosé Slanetz.Les boites sont incubées à **37°C** pendant **48h**. Toutes les colonies présentant **une couleur rouge**, rose à marron sont Considérées positives.

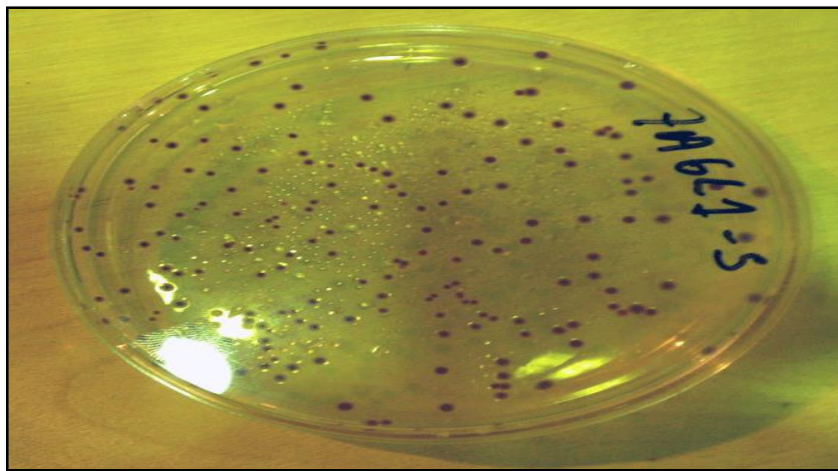


***Photo 13:des colonies rouges des streptocoques fécaux***

### c) Analyse des anaérobies sulfito-réducteurs :

On filtre sur une membrane stérile de **0, 2 $\mu$ m** de porosité, 100 ml d'échantillon d'eau traitée 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.



**Photo 14:des colonies noires des clostridium perfringens.**

### ❖ L'incorporation en gélose :

Les milieux gélosés sont liquéfiés au bain-marie bouillant. **1 ml** de l'échantillon d'eau est introduit au centre de la boîte de Pétri posée bien à plat dans la zone de protection du bec Bunsen. L'inoculum peut être réparti en gouttes sur le fond de la boîte. La méthode est fréquemment utilisée pour la recherche des **bactéries aérobies revivifiables**, elle consiste à mélanger dans une boîte de Pétri 1 ml d'échantillon (ou ses dilutions) et un volume de milieu gélosé, fondu et ramené à une température appropriée. (RODIER et al.1997).

#### 1. Milieu de culture utilisé :

#### ❖ La gélose PCA :

La gélose pour dénombrement, ou PCA standard (pour Plate Count Agar, en anglais), est un milieu utilisé pour le dénombrement des microorganismes aérobies revivifiables, aussi nommés FMAR (Norme AFNOR NF T 90-401 et 402). C'est un milieu nutritif sans inhibiteurs, dont l'intérêt est de favoriser le développement des micro-organismes qu'on y a déposés. L'ensemble de tous les micro-organismes s'appelle la flore totale. (Microbiologie de l'eau)

## 2. Mode opératoire :

- **Analyse des bactéries revivifiables à 22 et 37°C :**

La première étape consiste à liquéfier la gélose à 45-50°C, on introduit 1ml d'échantillon d'eau à analyser à l'intérieur des boîtes de pétri stérilisées puis on coule la gélose dans ces dernières et les laissent solidifier après une agitation lente, les conditions d'incubation sont :

- **22°C pendant 72h.**
  - **37°C pendant 24h.**
- A 22°C : on trouve les bactéries adaptées à la température de l'eau.
  - A 37°C : on trouve les bactéries pathogènes, qui se développent à la température du corps humain.

**Lecture des résultats :** après incubation, les boîtes ayant un nombre de colonies entre 30 et 300 sont seulement pris en considération. Le dénombrement des colonies est effectué par un compteur des colonies à affichage numérique. Nos résultats sont exprimés en unité formant colonie **UFC/ml**.



**Photo 15: des colonies des bactéries revivifiables.**

## Résultats et discussion

### i. Résultat de l'analyse bactériologique d'eau brute :

#### 1) Résultat de l'analyse bactériologique de l'eau brute :

**Tableau 2 : Résultat du test présomptif et confirmatif pour les CF, CT et SF :**

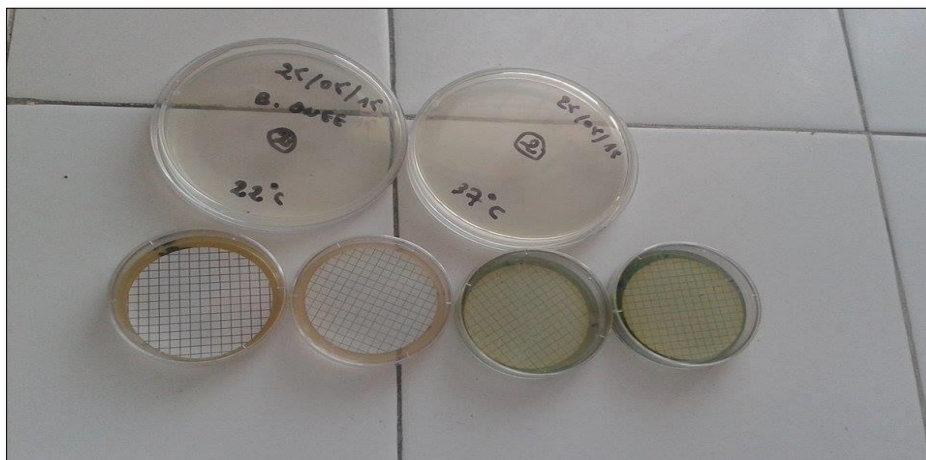
	Nombre de tubes positifs						Résultat	
	Test présomptif			Test confirmatif				
Volume ensemencé (ml)	10	1	10 <sup>-1</sup>	10	1	10 <sup>-1</sup>	NPP	N
CT	3	3	3	3	3	2	110	110
CF	3	3	3	3	3	2	110	110
SF	3	3	3	3	3	1	45	45

#### 2) Analyse et interprétation :

Le nombre le plus probable pour les germes recherchés pour les 3 volumes ensemencés 10ml, 1ml, 10<sup>-1</sup> ml est respectivement 110 coliformes totaux/100 ml, 110 coliformes fécaux /100 ml et 45 streptocoques fécaux/100 ml, donc l'analyse de cette eau révèle qu'elle est polluée à cause de la présence de ces micro-organismes qui témoignent d'une contamination d'origine fécale ou environnementale, alors l'eau brute nécessite un traitement bactériologique rigoureux pour la rendre potable.

### i. Résultat d'analyse bactériologique de l'eau traitée :

#### 1) Résultat d'analyse de l'eau traitée :



**Photo 16: résultat d'analyse bactériologique des CT, CF, SF, ASR et des bactéries revivifiables d'eau traitée.**

**Tableau 1: résultat de dénombrement des indicateurs de contamination fécale et les micro-organismes revivifiables :**

Type de germes recherchés	Nombre de germes trouvés
<i>CT</i>	<i>0 UFC/100ml</i>
<i>CF</i>	<i>0 UFC/100ml</i>
<i>SF</i>	<i>0 UFC/100ml</i>
<i>ASR</i>	<i>0UFC/100ml</i>
<i>MOR à 22°C</i>	<i>0 UFC/1ml</i>
<i>MOR à 37°C</i>	<i>0UFC/1ml</i>

## **2) Analyse et interprétation :**

L'analyse bactériologique d'un échantillon d'eau à la sortie de la station a donné un résultat négatif pour les MO recherchés CT, CF, ASR et MOR, donc ces MO ont disparu au cours de traitement et plus précisément suite au processus de chloration de l'eau ce qui met en évidence l'efficacité des traitements mis en œuvre pour l'adoucissement de l'eau afin qu'elle soit buvable.



# Conclusion

- La charge microbiologique et la composition d'eau brute constituent les facteurs déterminant le type de traitement que l'eau doit subir. Les eaux d'Oued Sebou subissent en premier lieu un traitement physique qui consiste à enlever la matière grossière, suivi d'un traitement chimique pour l'élimination des germes pathogènes suite au processus de chloration ; la qualité organoleptique est améliorée par l'addition de **charbon actif**.
- L'analyse bactériologique d'eau traitée s'effectue quotidiennement au sein de laboratoire régionale de l'ONEE afin de s'assurer de l'efficacité du traitement chimique donc du bon fonctionnement de la station de traitement.
- L'échantillon d'eau brute que j'ai analysé a donné 110 coliformes fécaux/100 ml, 110 coliformes totaux/100 ml et 45 streptocoques fécaux/100 ml ; après chloration ; et sa sortie de la station de traitement, cette charge microbiologique s'annule et devient conforme à la norme marocaine.
- ***A noter*** que l'unité de production d'eau potable de Sebou-Fès de l'Office National de l'Electricité et de l'Eau Potable a obtenu le 07 Janvier 2014 la certification NM ISO 22000-V 2006 des activités de traitement et de production d'eau potable pour une durée de 3 ans.
- ***Le*** stage que j'ai effectué à l'ONEE m'a permis d'une part d'appliquer les principes scientifiques que j'ai acquis durant mon parcours universitaire, et d'autre part de me familiariser avec le monde professionnel afin de développer mon sens de responsabilité, d'adaptation au travail collectif et de la recherche scientifique.



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- *Encyclopédie Wikipédia.*
- *BIOKAR.*
- *Institut national de QUEBEC.*
- *Norme Marocaine :*  
*élaborée par le comité technique de normalisation des eaux d'alimentation humain*  
*éditée et diffusée par le Service de Normalisation Industrielle Marocaine (SNIMA)*
- <http://www.wikiwater.fr/e26-analyse-et-qualite-de-l-eau.html>.
- *Microbiologie de l'eau (livre d'ONEE).*
- <http://www.laease.com/eau-aerobies.html>.
- <https://www.google.com/search?q=la+table+de+mcgrady&hl=fr&biw=1366&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=G7dqVemtCMH4Uv3HqLqM&sqi=2&ved=0CAcQAUoAq&dpr=1#imgrc=>.
- <http://csenv.free.fr/expos%E9s/analyse%20de%20l'eau/04%20les%20param%E8tres%20bact%E9riologiques.htm>.
- <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieus.html>.



















