



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence sciences et techniques :

<< Biologie et Santé >>

INDICATEURS BACTERIOLOGIQUES DE LA NON CONFORMITE DES EAUX ANALYSEES AU L.R.D.E.H.M DE LA PREFECTURE DE FES DURANT L'ANNEE 2009

Présenté par : Mme BTISSAM ARHOUNE

Encadré par :

Dr. SANAE BERRADA (LRDEHM)

- Pr. AMAL AZZOUZI (FST)

Soutenu le : 18 / 06 / 2010 Devant le jury composé de :

Pr. A.AZZOUZI : présidente
 Dr. S.BERRADA : Encadrante
 Pr. K. FIKRI BENBRAHIM : Examinatrice
 Dr. A. EL OUALI LALAMI : Examinateur

Année: 2009/2010

<u>Dédicaces</u>



A mes très chers parents

Aucune dédicace ne serait exprimée à sa juste valeur, ma vive reconnaissance et mon indéfectible attachement pour toute tendresse, patience, compréhension et affection dont vous m'avez toujours comblées, pour tous les efforts et les sacrifices consentis pour mon éducation et ma formation. Je vous dédie ce modeste travail qui est le résultat de votre soutien en témoignage de ma profonde considération

A mon mari:

Respect, amour, reconnaissance, et remerciements, sont les moindres sentiments que je puisse vous témoigner. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits pour moi. Que ce modeste travail soit l'expression de mon amour éternel

A mes sœurs, à mon frère, et à ma petite fille Chams :

Avec mes souhaits d'un avenir plein de prospérité, de réussite et de bonheur

A toute la famille :

Et surtout ma tante Latifa de m'avoir tendu main forte tout au long de mes études universitaires qu'il me soit permis de leur exprimer tout mon respect et amour

Remerciements:



Au terme de ce mémoire, mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont participé de prés ou de loin à sa réalisation.

✓ Je tiens à remercier énormément mon encadrante : **Mme Amal AZZOUZI**, professeur de à la faculté des sciences

et techniques de Fès, qui a accepté de diriger ce mémoire

pour ses précieux conseils et son aide inestimable qui ont

permis l'amélioration de ce travail.

- ✓ Je remercie de tout mon cœur Mr EL Abdelhakim OUALI LALAMI, Docteur biochimiste et responsable du Laboratoire de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène de Milieu (L.D. E.H.M) de la préfecture de Fès, qui m'a aimablement accueilli dans son laboratoire, pour les précieux conseils qu'il n'a jamais cessé de fournir.
- ✓ Mes remerciements les plus profonds à Madame Sanae BERRADA. Docteur microbiologiste au L.D.E.H.M. Pour le grand honneur qu'elle m'a fait en bien acceptant le suivi de ce travail, et pour son aide bienveillante qu'elle m'a offerte pour le réaliser.
- ✓ Je tiens à remercier également : Mme **Benbrahim Kaoutan**, professeur de à la faculté des sciences et techniques de Fès d'avoir accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon respect et de ma profonde gratitude.
- √ Mes remerciements les plus profonds à Mr Aabouch M, Ingénieur au L.D.E.H.M, pour toutes les explications concrètes, les conseils et l'aide qu'il m'a fourni durant la réalisation de la saisie et le traitement des données

✓ Je remercier également Mr Sabrei 74., Infermier Major du LDEMH et tous les techniciens et personnels du LRDEHM, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

LISTE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Cycle de l'eau	05
Figure 2 : Principe de la technique de filtration	21
Figure 3 : Le pourcentage de la non-conformité des eaux analysées au laboratoire	22
Figure 4 : Variation de la non-conformité des échantillons analysés en fonction des	
sous classes d'eaux	23
Figure 5 : Répartition du pourcentage de non-conformité en fonction du service expéditeur	24
Figure 6 : Répartition du pourcentage de non-conformité en fonction du taux de chlore	
Présent dans les échantillons	25
Figure 7 : Répartition des germes retrouvés	26
Figure 8 : Répartition de la non-conformité des eaux analysées durant le mois de mai	
de l'année 2010	28
Figure 9 : Répartition de la non-conformité des échantillons analysés par sous classes	
d'eaux	28
Figure 10 : Distribution du pourcentage de non-conformité par service expéditeur	29
Figure 11 : Répartition du pourcentage de non-conformité en fonction du taux de chlore	
présent dans les échantillons	30

Licence	Sciences	et i	technia	1166
LICCHICE	SCICILCES	Cι	techiliy	ucs

Figure 12 : Logiciel de l'Epi info version 3.3.2.	36
Figure 13 : Exemple de grille de saisie	37
TABLEAUX	
Tableau 1 : Récapitulation des méthodes d'analyse selon la classe d'eau	18
Tableau 2 : Répartition des échantillons reçus par en fonction de la classe et de la sous	
Classe d'eau	22
Tableau 3 : Distribution de la non-conformité des échantillons analysés par sous classes	
d'eaux	23
Tableau 4 : Distribution de la non-conformité en fonction du service expéditeur	24
Tableau 5A : Fréquence des germes retrouvés par classe d'eau	26
Tableau 5B : Fréquence des germes retrouvés par sous classe d'eau d'alimentation	
humaine	26
Tableau 6 : Répartition des échantillons reçus en fonction de la classe d'eau	27
Tableau 7 : Distribution de la non-conformité par sous classes d'eaux analysés	29
Tableau 8 : Fréquence des germes retrouvés par classes et sous classes d'eau	30

ABREVIATIONS

L.R.D.E.H.M : Laboratoire Régionale de Diagnostique Epidémiologique et d'Hygiène du

Milieu.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

FAO : Food and agriculture organisation

BAD : Banque africaine de développement.

GT 22° : germes totaux à 22°

GT 37° : germes totaux à 37°

CF : Coliformes fécaux.

CT : Coliformes totaux.

EI : Entérocoques intestinaux.

ASR : micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs.

E.coli : Escherichia coli

Salm : Salmonelles

Pseud : Pseudomonas aeruginosa

Vib : Vibrio cholerae

EAH : les eaux d'alimentation humaine

EMN : les eaux minérales naturelles

EB : les eaux de baignades

EU : les eaux usées

ES : les eaux de surface

C : conforme

NC : non conforme

E : eau

SOMMAIRE

PRESEN	TATION DU L.R.D.E.H.M.	01		
INTROD	DUCTION GENERALE			
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES				
1- Cycle	e de l'eau	05		
	essources en eau	05		
a-	Les eaux de surface	06		
b-	Les eaux souterraines	07		
3- Les u	sages de l'eau			
a-	L'eau domestique			
b-	L'eau agricole			
c-	L'eau industrielle			
4- La po	ollution de l'eau	09		
a-	La pollution chimique			
b-	La pollution organique			

C-	La pollution biologique	10
d-	La pollution physique	10
5- Les c	lasses d'eau	10
a-	L'eau d'alimentation humaine	
b-	L'eau minérale naturelle	11
C-	L'eau de source	11
d-	L'eau de table	11
e-	Les eaux naturelles d'intérêt médical	11
6- Indica	ateurs de la non-conformité microbiologique d'eau	11
a-	Germes indicateurs de la contamination fécale	11
b-	b Les Germes pathogènes	12
	ateurs de la non-conformité physico-chimique	
	es sels minéraux	
b- L	Les composés toxiques	14
MATER	IELS ET METHODES	16
1- Type	d'étude	16
3- Prélè	evements d'eau	16
4- Maté	riels d'étude	16
	- Etude rétrospective	
	- Etude prospective	
•	yse statistique	
6- Meth	ode d'analyse	1/
RESULT	CATS	21
1- Etuc	de rétrospective	21
2- Etuc	de prospective	27
DISCUS	SIONS	31
CONCL	USION ET RECOMMANDATIONS	33
REFERE	ENCES BIBLIOGRAPHIQUES	34
ANNEYI	4¹	26

PRÉSENTATION DU L.R.D.E.H.M



LABORATOIRE REGIONAL DE DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE ET D'HYGIENE DU MILIEU DE LA VILLE DE FES

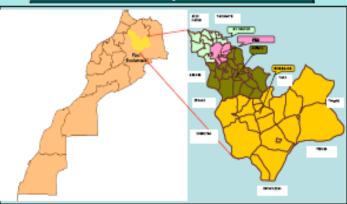


HISTORIQUE

En 1977 Le Ministère de la Santé a créé des laboratoires "à visée préventive": les Laboratoires de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LDEHM). Ils constituent une structure d'appui indispensable pour la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses et transmissibles et pour les pour les constituents de la Sonté d programmes sanitaires du Ministère de la Santé dans le cadre de l'Hygiène de l'environnement.

Actuellement il existe 42 LDEHM, Le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 80. Il est implanté à l'Hôpital EL GHA55ANI et est individualisé des Laboratoires d'analyses cliniques et de transfusion.

SITUATION GÉOGRAPHIQUE DE LA VILLE DE FÈS



Organisation fonctionnelle du LRDEHM

LABORATOIRE REGIONAL DE DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE ET D'HYGIENE DU MILIEU DE FES

Cellule d'Assurance Qualité et de Statistique

Cellule de Santé et Environnement

Unité d'Hygiène

Unité de toxicologie

- Fooicologie des aliments scherches aflatoxines par CCM)

Unité des Maladies Parasitaires

croscopie du paludisme, de

Unité d'Entomologie

Mission du LRDEHM

- □Soutien au programme de prévention et de lutte contre les maladies infectieuses et transmissibles,
- ☐ Appui technique (Diagnostic et confirmation des maladies) pour les structures de soins de santé de base (RSSB).

Rattachement du LRDEHM

Le LRDEHM est rattaché au SIAAP et à la Direction Régionale de la Santé de Fès. Il est également en étroite relation avec l'Institut National d'Hygiène et la Direction d'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies de Robat.

Assurance qualité au LRDEHM

- □ Une politique d'assurance qualité est mise en œuvre par le LRDEHM pour obtenir et garantir la qualité des analyses qui social social social.
- □ Un système statistique informatisé est mis en place par le LRDEHM pour le traitement des résultats des analyses.

Clients du LRDEHM

Le LRDEHM couvre les besoins des délégations médicales des provinces et préfectures de la région Fès-Boulemane (vegres de provinces et préfectures de la région Fès-Boulemane (vegres de partire de Mille Santiff Agrille (M. 1988) que ceux des Bureaux Communaux d'Hygiène, CHU Hassan II.

Perspectives

- > Structurer la collaboration et la coopération du laboratoire avec son environnement pag vapin qui agri
- Développer et réaliser des études épidémiologiques en relation avec ses activités
- > Installer d'autres analyses:
 - · Analyses toxicolorioues de l'eau (recherches des nesticides et métaux lourds-). · Parasitolore des eaux-

 - Sérologie et PCR du paludisme.
 - · Entomologie du thilébotome vecteur des leishmanioses-



Le laboratoire régional du diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de la délégation médicale de la préfecture de Fès comporte :

\Rightarrow	En infrastructure :
•	Une unité de parasitologie,
•	Une unité d'hygiène alimentaire,
•	Une unité de l'environnement hospitalier,
•	Une unité d'entomologie,
•	Une unité d'analyse physico-chimique,
•	Une cellule d'assurance qualité et de statistiques,
•	Un bureau du chef du service,
•	Un bureau pour l'infirmier chef,
•	Une salle de stock des réactifs et du matériel
⇒	En personnel:
•	Un chef de service (de profil docteur scientifique),
•	Un infirmier chef,
•	3 Docteurs biologistes,
•	3 ingénieurs d'état,
•	Une technicienne,
•	2 infirmiers,
•	2 secrétaires,
•	Un agent de service

L'eau constitue un élément essentiel pour le développement de la vie. (Morija, 2009; Direction générale de la Santé, 2005). C'est l'élément vital pour tous les êtres vivants (Homme, animaux, végétaux) (Alaoui Mrani, 2009).

Chez l'Homme, le corps d'un adulte est composé de 60 % d'eau et une consommation minimale de 1,5 Litres d'eau par jour lui est nécessaire (Direction générale de la Santé, 2005).

En raison de son caractère vital, l'eau consommée doit être de bonne qualité sanitaire et ne doit contenir ni microbes, ni bactéries pathogènes, ni virus afin d'éviter la survenue de pathologies d'origine hydrique comme la fièvre typhoïde, les gastro-entérites, la dysenterie, les entérites, l'Hépatite A, le Choléra, la Poliomyélite (Direction générale de la Santé, 2005).

Cependant, l'eau propre et non polluée est devenue rare en raison de l'accroissement démographique et de l'urbanisation que connaît le monde actuellement (Khallaayoune, 2009).

Selon la communauté Européenne en 2002, plus que 1,2 milliards d'habitants ne disposent d'aucun accès à l'eau potable, et plus de 2,2 millions d'individus, des enfants pour la plupart, meurent chaque année de maladies dues au manque d'accès à l'eau potable (Sommet de JOHANNESBURG, 2002). Environ 5 millions de personnes meurent chaque année dans le monde à cause de la mauvaise qualité de l'eau (Raetz, 2005).

En effet, la pollution de l'eau par les eaux usées de l'industrie et de l'agriculture, les eaux d'égouts de ménage 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 de graves problèmes concernant le respect des limites de pollution admissibles (ALAOUI Mrani, 2009).

La mise à disposition de la population d'une eau potable de bonne qualité sanitaire constitue une préoccupation permanente des autorités sanitaires. L'assurance de la qualité et de l'hygiène de l'eau sont des exigences prioritaires de santé publique (Raetz, 2005).

Dans ce cadre, des contrôles d'eaux à titre sanitaire se font régulièrement au sein de tous les laboratoires d'hygiènes du Ministère de la santé.

En raison de l'importance vitale de l'eau et dans le cadre de notre module, est né ce travail intitulé : « Indicateurs bactériologiques de la non-conformité des eaux analysées au laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de la préfecture de Fès durant l'année 2009».

Objectifs

Réalisé au L.R.D.E.H.M durant la période allant du mois d'Avril au mois Mai 2010, notre travail comporte deux volets :

- Une étude rétrospective des échantillons d'eau enregistrés au L.R.D.E.H.M durant l'année 2009
- Une étude prospective des échantillons d'eau acheminés au laboratoire durant la période du stage

Les objectifs de ces deux études sont :

- La détermination de la non-conformité des échantillons d'eau.
- La détermination de la nature des germes dans les différentes classes d'eau

1- Cycle de l'eau

Le cycle de l'eau, appelé aussi cycle hydrologique, est l'ensemble des cheminements que peut suivre une particule d'eau. Ces mouvements, accompagnés de changements d'état, peuvent s'effectuer dans l'atmosphère, à la surface du sol et dans le sous-sol. Chaque particule n'effectue qu'une partie de ce cycle et avec des durées très variables : une goutte de pluie peut retourner à l'océan en quelques jours alors que sous forme de neige, en montagne, elle pourra mettre des dizaines d'années.

L'eau, élément sous trois formes (liquide, gazeux et solide), parcourt un cycle éternel.

L'évaporation lente et incessante des fleuves, des lacs et des mers provoque la formation dans la haute atmosphère, de nuages qui par condensation se transforment en pluie. Une fraction des eaux de pluie ruisselle à la surface du sol et va grossir les cours d'eau et les lacs, d'où elle est sujette d'une part à l'évaporation, d'autre part à l'infiltration à travers le sol. Une partie des eaux d'infiltration est reprise par la végétation qu'elle alimente avant d'être rejetée dans l'atmosphère c'est l'évapotranspiration. L'autre partie s'accumule dans le sous sol pour former des nappes souterraines qui, à leur tour peuvent former des sources émergentes à la surface du sol (Elhaissoufi, 2009) (figure 1).

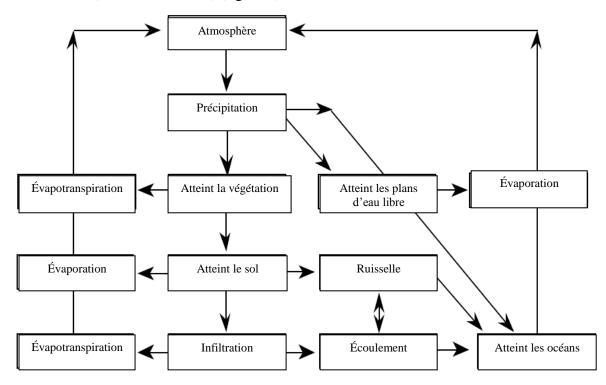


Figure 1 : Cycle de l'eau (Elhaissoufi, 2009).

2- Les ressources en eaux au Maroc

L'irrégularité spatiale et temporelle des conditions climatiques, de l'impact des sécheresses, la distorsion entre les courbes de progression démographique et celles de la production agricole et la nécessité absolue d'amélioration du bien être des populations, sont

des facteurs qui font de la maîtrise de l'eau une voie privilégiée pour le développement socioéconomique (Hartemann, 2004).

Au Maroc, la maîtrise et la mise en valeur des ressources en eau sont pratiquées depuis longtemps, elles sont considérées comme facteur déterminant de la structuration de l'espace et du développement des terroirs car le contexte et les conditions climatiques y sont variables et irrégulieres. Le Maroc a en effet adopté dès les années 1960 une stratégie de maîtrise de l'eau et de sa valorisation, il s'est inscrit dans la politique pertinente de valorisation de ses ressources naturelles par la gestion planifiée et intégrée de l'eau et le développement de l'irrigation (Soussane, 1999).

La pluviométrie est inégalement répartie sur le territoire, elle est abondante le long des côtes et diminue généralement du nord-ouest au sud-est.

La moyenne annuelle des précipitations varie de 700 mm à Tanger à 200 mm au sud le long des côtes, elle est de 1 000 mm dans les montagnes à proximité de Tanger et dans le Moyen Atlas et inférieure à 200 mm dans les zones désertiques.

Le volume moyen annuel des précipitations est estimé à 150 milliards de m³ et les ressources en eau renouvelables sont évaluées à 29 milliards de m³. De ce volume, on estime que 20 milliards de m³ sont mobilisables, dont 16 milliards de m³ comme eaux de surface et 4 milliards de m³ comme eaux souterraines. La mobilisation se fait à travers 97 barrages pour un volume utile initial d'environ 15 milliards de m³, et par des puits et des forages. On estime aujourd'hui que plus de 80% des ressources sont mobilisées et que l'augmentation de l'offre approche ses limites (BAD, 2004).

Il s'ajoute à cela que les meilleurs sites pour la construction des barrages sont déjà utilisés, la réalisation de nouveaux ouvrages deviendra de plus en plus coûteuse. Les ressources par habitant et par an s'élèvent à environ 1 000 m³, mais ce volume varie entre 180 m³/habitant/an dans le sud du pays et 1 800 m³/habitant/an pour les zones les plus favorisées comme le Loukkos. Avec l'accroissement de la population, ces chiffres baisseront à un taux moyen de 700 m³/habitant/an en 2020 et à cet horizon, 35% de la population du pays disposera de moins de 500 m³/habitant/an.

Les ressources en eau non conventionnelles sont peu développées. Le dessalement des eaux saumâtres et de l'eau de mer est utilisé dans le sud du pays, pour un volume de 2,67 millions de m³/an. Il faut également citer l'utilisation des eaux usées brutes ou partiellement traitées pour l'irrigation, sur une surface évaluée à environ 8 000 ha, ce qui correspond à un volume annuel de l'ordre de 250 millions de m³ (BAD, 2004).

2-1- Les eaux de surface

Le Maroc dispose de quantités appréciables d'eau de surface (2/3 du potentiel total), qui subit des fluctuations d'apports importantes selon l'hydraulicité de l'année.

La politique des grands barrages et des adductions régionales de transfert d'eau a permis de maîtriser les apports d'eau des années humides pour pouvoir faire face aux besoins en eau des années sèches.

• En 1966, la capacité de stockage des barrages était à peine 2,2 Milliards de m³.

Durant les années 2000 et 2001, la qualité globale des eaux de surface a été bonne au niveau de 46% des stations (bassins du Souss et du Bouregreg), moyenne au niveau de 9 % et

mauvaise au niveau de 45 % (bassins du Sebou et du Loukkos). La qualité dégradée est souvent liée aux rejets urbains et industriels (Elhaissoufi, 2009).

• En 2004, le Maroc disposait de 109 barrages d'une capacité de stockage de plus de 15,6 mm³ avec un volume régularisé de plus de 9,5 mm³, et de 13 systèmes de transfert d'eau d'une longueur totale de 785 km et d'un débit total de l'ordre de 175 m³/s (Elhaissoufi, 2009).

2-2- Les eaux souterraines

Les eaux de puits, grâce au gaz carbonique qu'elles recèlent, dissolvent les roches qu'elles traversent durant leur cheminement vers les aquifères jusqu'à l'obtention des caractéristiques physiques et chimiques stables qui définissent la qualité de l'eau des nappes qu'elles alimentent. La minéralisation d'une eau dépend, en conséquence, de la nature des roches traversées et de leur solubilité dans l'eau, du temps de contact avec les différents matériaux, et, enfin, du temps de renouvellement des nappes.

Les eaux souterraines peuvent être classées en trois catégories :

- •Les nappes phréatiques, peu profondes, sont les premières rencontrées lors du creusement de puits. Elles sont aussi les plus vulnérables à la pollution. À côté de ces nappes phréatiques dites « vraies », qui sont alimentées par les eaux météoriques et les eaux de ruissellement, il y a les nappes « alluviales » qui sont alimentées par les fleuves et les rivières :
- Les nappes profondes : plus profondes que les nappes phréatiques, elles sont mieux protégées et peu influencées par la variation de la qualité des eaux de surface ;
- Les eaux d'origine karstique. Elles proviennent de sols calcaires ou crayeux où l'eau dissout le carbonate de calcium et peut constituer un véritable réseau de galeries souterraines ; il arrive qu'elles soient de qualité tout à fait variable et même, en cas d'orage, qu'elles se mélangent à des eaux de ruissellement qui s'engouffrent et arrivent dans ces rivières souterraines.

Présentant des avantages de par leur bonne répartition géographique, leur facilité de captage et leur moindre vulnérabilité aux aléats climatiques et à la pollution, les eaux souterraines jouent un rôle important dans le développement socio-économique (approvisionnement en eau potable et irrigation).

Sur l'ensemble de ces ressources, le potentiel mobilisable s'élève à près de 4 Milliards de m³ réparti sur 80 nappes dont 48 sont superficielles.

Durant les années 2000 et 2001, la qualité globale des nappes d'eau souterraines a été bonne au niveau de 20 % des stations, moyenne sur 29 % et dégradée sur 51 %. Les paramètres responsables de cette dégradation sont la forte minéralisation de ces eaux et la présence de nitrates en teneurs élevées (Amraoui, 2007).

3- Les usages l'eau

Les usages de l'eau sont nombreux et les quantités nécessaires ne cessent d'augmenter, même si de nouvelles technologies permettent d'en rationaliser son utilisation et de maximiser le rendement de l'eau utilisée. On dénombre trois principales utilisations : l'eau domestique, l'eau agricole, l'eau industrielle (Batalla Roger et coll., 2008).

a- L'eau domestique

Les usages domestiques de l'eau ne se résument pas uniquement à l'eau que nous buvons. L'eau est également utilisée pour assurer l'hygiène corporelle, pour le lavage et la cuisson des aliments, et pour les tâches ménagères. Afin de mener ces activités à bien, il est nécessaire de disposer d'une eau potable et non contaminée.

La consommation d'eau domestique est longtemps restée stable car elle n'était pas aussi facilement disponible que de nos jours. En effet, l'eau potable à domicile est une invention récente. Du reste, bon nombre de personnes doivent encore aller chercher l'eau à la source, au puits ou à la fontaine. Ce n'est qu'à partir de l'essor de l'accès direct à l'eau potable à domicile que sa consommation a fortement augmenté. A titre d'exemple, à Paris, la consommation d'eau potable a été multipliée par 35 entre le XVIIIe siècle et aujourd'hui (Batalla Roger et coll., 2008).

b- L'eau agricole

Étant donné que les plantes ont une teneur en eau oscillant entre 80 et 95% de leurs poids, l'importance de l'utilisation de grandes quantités d'eau dans le monde agricole est aisément compréhensible. Plusieurs sources d'eau sont disponibles. Il y a bien évidemment l'eau de pluie, mais l'impossibilité de contrôler sa fréquence et ses quantités ont poussé l'Homme à chercher des alternatives. Ainsi est née l'irrigation. Cette technique permet d'augmenter les rendements et surtout de ne pas être à la merci des caprices météorologiques. Pour ce faire, l'Homme a fait preuve d'imagination et d'ingéniosité. Des bassins artificiels de rétention des eaux de pluie permettent son stockage de même que la construction de barrages. Le détournement de cours d'eau à l'aide de perçage de canaux artificiels permet d'amener directement l'eau sur les lieux de culture. Le forage de puits rend possible l'extraction de l'eau contenue dans les sous-sols. Le pompage mécanique permet d'aller puiser l'eau de plus en plus profondément. Malheureusement, ces techniques ne résolvent pas le problème fondamental d'une consommation trop importante et sans cesse croissante. Pire encore, l'irrigation utilisée à mauvais escient est source d'érosion des sols, d'appauvrissement de la qualité de la terre ou de modification de ces propriétés initiales (Batalla Roger et coll., 2008).

c- L'eau industrielle

De part ses propriétés de solvant, l'eau est abondamment employée dans l'industrie. On l'utilise pour dissoudre, laver, rincer, blanchir, colorer. Son utilisation est quasi infinie. De l'industrie du textile en passant par l'industrie métallurgique, par l'industrie du papier, par l'industrie agroalimentaire (hors agriculture), il est impossible d'énumérer la liste entière de ses utilisations tant les activités industrielles sont devenues dépendantes de l'eau.

La capacité de l'eau à emmagasiner la chaleur fait qu'elle est indispensable à l'industrie nucléaire soit pour refroidir soit pour transporter de la chaleur. L'eau constitue également une formidable source d'énergie mécanique.

En dévalant les pentes, l'eau se charge d'une puissance qui permet d'actionner des turbines. De nos jours, on se sert de cette énergie pour créer de l'électricité. Cette énergie a également été utilisée durant la révolution industrielle afin de faire fonctionner les machines des chaînes de production.

Finalement, les propriétés thermiques de l'eau sont actuellement au centre de vastes recherches. En effet, les scientifiques cherchent à exploiter les sources de chaleur géothermiques. À l'heure où la limitation des émissions de CO2 est au centre de nos préoccupations et où le besoin d'énergies plus propres afin de ralentir le réchauffement climatique se fait sentir, l'exploitation de ces sources constitue un enjeu important pour l'avenir de l'homme.

Ces utilisations contribuent à la diminution de la pureté des cours d'eaux et par conséquent, l'eau devient de plus en plus polluée (Batalla Roger et coll., 2008)

4- La pollution de l'eau

La pollution de l'eau est une réalité complexe et multiforme, qui peut se définir par : Toute modification chimique, physique ou biologique de la qualité de l'eau qui perturbe les conditions de vie et l'équilibre du milieu aquatique (écosystème). Elles sont provoquées par l'Homme et ses activités et à ce titre, on distingue les pollutions d'origine agricole, domestique, urbaine ou industrielle (Alaoui mrani, 2009).

L'eau des rivières ou de la mer est naturellement capable d'éliminer certaines pollutions. Cette capacité de l'eau est due aux bactéries qui dégradent la matière organique. Si la pollution n'est pas trop forte, l'environnement est modifié localement mais peut retrouver son état normal. Ces mécanismes d'autoépuration sont rapidement saturés en cas de pollution accidentelle ou de forte pollution chronique (habituelle).

Il existe plusieurs sortes de pollutions des eaux douces (rivières, lacs, nappes phréatiques) très différentes les unes des autres par leurs origines et par leurs conséquences (Moumouni Djermakoye Hamsatou, 2005).

4.1. 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 (Jean-Christophe Bligny et coll., 2004). 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 (Alaoui mrani, 2009).

4.2. 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 aquatiques. Le développement de ces plantes nécessite également beaucoup d'oxygène. Ceci rend impossible la vie des autres organismes vivant dans l'eau (Alaoui mrani, 2009).

4.3. La pollution biologique

Cette pollution est liée aux agents provoquant des maladies qui 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 (Alaoui mrani, 2009).

4.4. 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 (Alaoui mrani, 2009).

5- Les classes d'eau

a- L'eau d'alimentation humaine

On comprend par, "eaux d'alimentation humaine"

- 1- toute eau destinée à la boisson quelque soit le mode de production et de sa distribution :
- **2-** les eaux utilisées pour la préparation, le conditionnement ou la conservation des denrées alimentaires destinées au public. (NM.03.7.001)

b- L'eau minérale naturelle

Appellation codifiée par divers textes réglementaires (en particulier l'arrêté du 6 juin 1989), désignant une eau naturelle (non traitée), d'origine profonde et de composition physicochimique constante dans le temps, qui satisfait à la consommation humaine.

c- L'eau de source

Appellation codifiée par l'arrêté du 6 juin 1989, désignant une eau naturelle, le plus souvent d'origine profonde et dont la qualité physico-chimique et microbiologique doit respecter sans traitement les critères de potabilité des eaux destinées à la consommation humaine.

d- L'eau de table

Appellation ancienne et aujourd'hui interdite désignant une eau embouteillée d'origine naturelle mais rendue potable par traitements (filtrations). Sur les bouteilles doit figurer la mention « eau rendue potable par traitements », il n'en existe plus que deux autorisées en France.

e- Les eaux naturelles d'intérêt médical

Les eaux naturelles d'intérêt médical sont les eaux qui, indemnes de nocivité, peuvent être utilisées comme agents thérapeutiques en raison de leur degré de chaleur et des caractéristiques de leur teneur en calcium, en gaz et en matières radioactives.

6- Indicateurs de la non-conformité microbiologique d'eau

a- Germes indicateurs de la contamination fécale

Généralement, les indicateurs les plus spécifiques de la contamination fécale directe sont les coliformes et les entérocoques (Elhouari, 2006).

a-1- Les Coliformes

Ce sont des bactéries gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* qui sont capables de fermenter le lactose. Les coliformes sont rencontrés largement dans les fèces d'origine animales et humaines et leur présence dans l'eau indique une contamination récente par des matières fécales.

Le groupe des coliformes comprend deux catégories de bactéries : les coliformes totaux et les coliformes fécaux (Elhouari, 2006).

£- Les coliformes totaux

Ce sont des bacilles Gram négatif, en forme de bâtonnets, ne formant pas de spores, ne possédant pas d'oxydase, aérobies ou anaérobies facultatives et fermentant le lactose avec production de gaz en 48h à 37°C (Elhouari, 2006).

\$- Les coliformes fécaux

Ils ont les mêmes caractéristiques que les coliformes totaux mais la fermentation du lactose avec production du gaz se fait à 44°C. Ils indiquent généralement une pollution récente de l'endroit ou ils ont été décelés. *Escherichia coli (E.coli)* est l'indicateur spécifique d'une origine fécale (Moumouni Djermakoye Hamsatou, 2005 ; Chapuis et coll, 2004).

a-2- Les Entérocoques

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae* en genre *streptococcus* et au groupe sérologique D de Lance field (Sharpe, 1979). Elles sont définies comme étant des cocci sphériques légèrement ovales, Gram positifs. Elles se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes, mésophiles, avec une température de croissace optimale de 37°C et possèdent le caractère homofermentaire avec production de l'acide lactique sans gaz (Bergey's manuel, 1984).

b- Les Germes pathogènes

Ces germes se divisent en trois types : les bactéries, les virus et les parasites

b-1- Les bactéries

b-1-1- Les Salmonelles

Les espèces du genre Salmonella appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, leur réservoir est principalement le tube digestif des vertébrés. C'est un bacille gram négatif mobile. Il se multiplie dans le tissu lymphoïde puis diffuse dans la lymphe thoracique. Aprés une phase d'incubation variable de 7 à 15 jours, la maladie débute classiquement par des troubles digestifs modérés (douleurs abdominales, parfois diarrhée), des troubles nerveux (insomnie vertiges) et surtout une fièvre atteignant 39 à 40°C.

Les porteurs de *S.typhi* jouent un rôle particulièrement important pour la diffusion de la fièvre typhoïde; ils peuvent excréter jusqu'à 10⁹ bacilles/g de matières fécales (François-Xavier, 2009).

b-1-2- Vibrio cholerae

Le genre *Vibrio* comprend des bacilles Gram négatif, qui sont soit mobiles grâce à une ciliature péritriche contenue dans une gaine, soit immobiles. Les *Vibrio* possèdent une oxydase, ce qui les distingue des *Entérobactéries*. Aéro-anaérobies, ils fermentent le glucose sans gaz, ce qui les différencie du genre *Pseudomonas*.

L'espèce *Vibrio* cholerae est la plus connue du genre *Vibrio*, elle ne se trouve pas à l'état naturel dans l'eau propre, mais elle est introduite par les eaux usées non traitées.

Vibrio cholerae une fois ingérée, produit une exotoxine protéique qui est responsable de la maladie. Le cholera est donc une toxi-infection intestinale aigue caractérisée par une diarrhée aqueuse considérable (selles eau de riz), accompagnée de vomissements et pouvant aboutir rapidement à une déshydratation (Dupont, 2010).

b-1-3- Staphylococcus aureus

Le genre *Staphylococcus* comprend plusieurs espèces dont le plus fréquemment rencontré dans l'eau est le *Staphylococcus* aureus.

Staphylococcus aureus appartient à la famille des Micrococcaceae. C'est une bactérie sous forme de cocci à gram positif arrangés en paires, en tétrades ou en grappes, immobile, aéro-anaérobie, asporulés (Elhaissoufi, 2009). Il possède l'aptitude d'élaborer des entérotoxines qui provoquent des intoxications alimentaires causant des vomissements, des nausées et des diarrhées. Les symptômes ne durent généralement pas plus de 24h, mais dans les cas graves, la déshydratation peut conduire au choc (Elhouari, 2006).

b-1-4- Pseudomonas

Ce germe appartient à la famille des *Pseudomonaceae*. Ce sont des bacilles Gram négatifs, aérobies, asporulées, très mobiles possédant un ou plusieurs flagelles polaires. Il s'agit de bactéries pathogènes ou d'altération (Adjide et coll., 2009).

Pseudomonas aeruginosa est une espèce principale qui revêt une importance considérable dans la pollution microbienne des eaux minérales naturelles. Elle est occasionnellement éliminée par les intestins et les urines. Elle provoque des infections à plusieurs niveaux : oreilles, yeux, intestins, reins,... (Elhaissoufi, 2009).

b-2- Les virus

Ce sont des parasites intracellulaires obligatoires : ne peuvent se répliquer que dans leur cellule hôte. Un virus humain ne peut donc pas se multiplier dans l'environnement. Les virus entériques pathogènes pour l'homme susceptibles d'être retrouvés dans l'environnement sont les *Norovirus* impliqués dans la majorité des épidémies de gastro-entérites hivernales, les *Astrovirus* et *Rotavirus* responsables des diarrhées infantiles, Le virus de l'hépatite A responsable de l'hépatite A (Dupont, 2010).

b-3- Les parasites

C'est surtout le milieu physique (retenue d'eau, canal etc.) et les caractéristiques physico-chimiques qui créent les conditions propices à la prolifération des vecteurs et hôtes intermédiaires des parasites. Les protozoaires et les helminthes sont les plus importants parasites pathogènes pour l'Homme et transmissibles par l'eau (Elhaissoufi, 2009)

b-3-1- Les protozoaires

Certains protozoaires peuvent vivre dans l'organisme des humains et des animaux et sont éliminés dans les selles. Ces minuscules parasites peuvent survivre dans l'eau de surface pendant de longues périodes sous forme de kystes dormants.

Parmi les protozoaires intestinaux pathogènes pour l'homme et transmissibles par l'eau de boisson, on peut citer :

- Entamoeba histolytica, responsable de l'amibiase ;
- Giardia lamblia responsable de la giardiase ;
- Balantidium coli responsable de la balantidiose.

Tous ces protozoaires ont été associés à des manifestations épidémiques dues à l'eau de boisson actuellement (Moumouni Djermakoye Hamsatou, 2005).

b-3-2- Les helminthes

Une grande diversité d'œufs et de larves d'helminthes a été décelée dans l'eau de boisson. Cependant, ils ne sont pas nécessairement véhiculés par l'eau.

Les helminthes pouvant être véhiculés par l'eau de boisson sont : Les trématodes (douves), les cestodes (Ténias) et les nématodes (vers ronds) (Khallaayoune, 2009).

7- Indicateurs de la non-conformité physico-chimique

Certains éléments chimiques qui se trouvent dans l'eau sont utiles et même indispensables à la santé de l'Homme à faibles concentrations mais peuvent devenir toxiques lorsqu'ils sont absorbés en très grande quantité. Ils comprennent les sels minéraux et les composés toxiques (Elhaissoufi, 2009)

a- Les sels minéraux

Les plus couramment rencontrés dans la pollution des eaux sont : les nitrates, les phosphates, les sulfates, les nitrites, les bicarbonates, les fluorures, etc. Les principales sources mises en cause sont :

- Les effluents industriels et urbains ;
- Le lessivage des terres cultivées renfermant des engrais ;
- La nature des terrains traversés ;
- •La mauvaise conservation des produits chimiques (Moumouni Djermakoye Hamsatou, 2005).

b- Les composés toxiques

Ils sont soit minéraux, soit organiques;

b-1- Les composés minéraux toxiques

Ce sont essentiellement:

- Les métaux lourds ou certains métalloïdes
- Les minéraux d'origine agricole
- Les minéraux d'origine industrielle
- Certains composés naturels (Moumouni Djermakoye Hamsatou, 2005)

b-2- Les polluants organiques toxiques

Ce sont principalement les pesticides et les détergents

£- Les pesticides

On désigne généralement les pesticides comme étant des produits utilisés pour lutter contre les organismes portant atteinte à la santé publique ou s'attaquant à tous les stades et de toutes les manières aux ressources végétales ou animales nécessaires à l'alimentation humaine, à l'industrie ou encore à la conservation de l'environnement.

Les sources de pollution sont :

- Les industries fabricant les pesticides ;
- L'utilisation des pesticides en agriculture et en santé publique ;
- Le lessivage des terrains traités par pesticides après irrigation.

Les conséquences néfastes dues aux pesticides sont liées aux caractères suivants :

- La permanence et la stabilité chimique conduisant à une accumulation dans les chaînes alimentaires ;
- Le déséquilibre naturel ;

En plus de la toxicité aiguë, il faut tenir compte à long terme des actions cancérigènes, mutagènes et tératogènes de certains pesticides (Elhaissoufi, 2009).

\$- Les détergents

On désigne par détergents les produits susceptibles de permettre des opérations de nettoyage.

Les détergents sont des composés tensioactifs synthétiques dont la présence dans les eaux est due aux rejets d'effluents urbains et industriels. Ils comprennent, en moyenne, 20 % d'agents surfactants, 35 % de phosphates, 20 % de sulfate de sodium, 10 % de silicate de sodium, 10 % de perborate de sodium, et quelques pourcent d'acides gras (stabilisants de mousses), de parfums, de colorants, d'antioxydants.

Les pollutions majeures des détergents, outre leur toxicité propre, sont un résidu (20 %) de non-biodégradabilité, avec production de mousse qui crée un écran imperméable à l'oxygène au-dessus de l'eau et peut disséminer également les bactéries présentes, ainsi que provoquer une modification de la tension superficielle de l'eau des rivières, qui peut entraîner à son tour

des perturbations dans le fonctionnement des usines de traitement d'eau s'alimentant dans la rivière.

Au Maroc, les rejets sans traitement préalable sont de l'ordre de 85 milles tonnes de matières oxydables/an, dont la moitié dans les cours d'eau) (Amraoui, 2007).

Les nuisances engendrées par l'utilisation des détergents sont :

- L'apparition de goût de savon ;
- La formation de mousse qui freine le processus d'épuration naturelle ou artificielle.

1- Type d'étude

Nous avons réalisé 2 types d'études : une étude rétrospective et une étude prospective. Chacune d'elles a concerné les prélèvements d'eaux acheminés au L.R.D.E.H.M par les techniciens d'hygiène du milieu.

2- Prélèvements d'eau

Les prélèvements d'eau ont été réalisés par les techniciens d'hygiène du milieu selon la technique décrite dans la norme (NM. 03.7.059) et qui consiste à :

- -Se laver très soigneusement les mains et avant bras avec un produit désinfectant, les rincer abondamment avec de l'eau.
- -Flamber le robinet pendant au moins 1 minute, en utilisant de préférence une lampe à souder portative à gaz butane.
- -Ouvrir le robinet et laisser couler 3 à 5 minutes avant de faire le prélèvement. Durant cette attente, et durant le prélèvement. Il 'est utile qu'un assistant maintienne la lampe à souder allumée, un peu au-dessus du robinet.

S'il n'est pas possible de prélever l'eau par pompage, il faut disposer d'un panier métallique leste. A l'intérieur duquel se loge le flacon de prélèvement, permettant d'entraîner celui-ci en dessous de la surface de l'eau ; le panier est muni d'une anse permettant de l'attacher à une corde pour le descendre au fond d'un puits et il est conçu de manière a permettre l'évacuation de l'eau entourant le flacon lors de la remontée au dessus de la surface.

Le panier et la corde qui lui est attaché, entourés d'un papier Kraft sont stérilisés, comme les flacons, à l'étuve avant emploi. Le prélèvement est à effectuer à environ 50 cm en dessous de la surface de l'eau

Prélevés aseptiquement dans des flacons stériles en verre à large ouverture de capacité d'environ 500ml, les échantillons sont acheminés rapidement au laboratoire dans des glaciaires à 4°C et analysés immédiatement ou à défaut dans les 6 heures qui suivent le prélèvement.

3- Matériels d'étude

3-A- Etude rétrospective

Les données ont été recueillies à partir du registre des analyses bactériologiques de l'eau de l'année 2009. Ainsi, elles concernaient : le service expéditeur, le code de l'échantillon, l'origine, l'agent préleveur, la nature de l'échantillon, le code de laboratoire, la date de réception, la recherche de la conformité,...

L'annexe 1 montre un exemple type de grille du registre

3-B- Etude prospective

- ✓ Échantillons d'eau.
- ✓ Membranes filtrantes de nitrocellulose (de porosité de 0,45μm pour les coliformes et les *Streptocoques*) et de 0,22 μm pour les anaérobies sulfitoréducteurs)
- ✓ Pince,
- ✓ Pipette 1ml,
- ✓ Bec benzène.
- ✓ Incubateurs.
- ✓ Réfrigérateur,

- ✓ Boîtes de pétri,
- ✓ Milieux de culture : Tergitol, Slanetz, PCA, SPS, Cétrimide, Hectoen Enteric Agar,..(annexe 3)

4- Analyse statistique

Les variables qualitatives ont été décrites en termes de pourcentage. On a fait une description de toutes les variables (classe d'eau, nature du germe retrouvé, service expéditeur,....), le codage de traitement a été fait avec Epi Info 6 (Figure 11 et 12, voir annexe 1) et l'analyse statistique est faite à l'aide de l'Excel.

5- Méthode d'analyse

Les échantillons reçus sont analysés au laboratoire selon les normes Marocaines qui leur correspondent.

Le tableau 1 résume les méthodes d'analyse, les germes recherchés, les milieux utilisés et les critères d'interprétation selon la norme

<u>Tableau1</u>: Récapitulation des méthodes d'analyse selon la classe d'eau

Classe d'eau	Germes recherchés	Méthode utilisée	Milieux utilisés	Critères d'interprétation s en UFC/ml	Références

Eaux d'alimentation humaines* (Selon NM.03.7.001)	-Germes totaux (à 22° et 37°) -Coliformes totaux -E.coli -E intestinaux - ASR	Ensemencement en profondeur Filtration sur membrane de nitrocellulose (1*)	- PCA - Tergitol+TTC - Tergitol+TTC -Slanetz - SPS Agar	>100 (22°) >20 (37°) 0 0 0	ISO 6222(2007) IC NM 03.7.005 ISO 9308-1 IC NM 03.7.003 ISO 7899-2 ISO 6461-2(1993)
Eaux minérales naturelles* (CC n° 1 du 9 mai 1983)	- Germes totaux (à 22° et 37°) -Coliformes totaux -Coliformes fécaux -E intestinaux -Pseudomonas - ASR	Ensemencement en profondeur Filtration sur membrane de nitrocellulose Filtration sur membrane de nitrocellulose (1*)	- PCA - Tergitol+TTC - Tergitol+TTC - Slanetz - Cetrimide Agar - SPS Agar	>100 (22°) >20 (37°) 0 0 0 0	ISO 6222(2007) IC NM 03.7.005 ISO 9308-1 IC NM 03.7.003 ISO 7899-2 Manuel de microbiologie alimentaire 1997 ISO 6461-2(1993)
Eaux de piscine* (NM.03.7.200)	Coliformes totaux - Coliformes fécaux - Streptocoques	Filtration sur membrane de nitrocellulose	- Tergitol+TTC - Tergitol+TTC - Slanetz	0 0 0	ISO 9308-1 IC NM 03.7.003 ISO 7899-2
Classe d'eau	Germes recherchés	Méthode utilisée	Milieux utilisés	Critères d'interprétation s en UFC/ml	Références
Eaux usées* (Selon NM 03.7.050 Et NM 03.7.051)	-Salmonelles - Vibrio cholerea	(2*) (3*)	- Hektoen Enteric Agar - TCBS	Absence Absence	NM 03.7.050 NM 03.7.051

Eaux d'irrigation et de surface* (Selon BO.5062)	-Coliformes totaux -Coliformes fécaux -Streptocoques	Filtration sur membrane de nitrocellulose	- Tergitol+TTC - Tergitol+TTC - Slanetz	0 0 0	ISO 9308-1 IC NM 03.7.003 ISO 7899-2
Eaux thermales* (Absence de norme)	Coliformes totaux -Coliformes fécaux -Streptocoques Pseudomonas Légionnelles	Filtration sur membrane de nitrocellulose Filtration (4*)	- Tergitol+TTC - Tergitol+TTC - Slanetz - Cetrimide Agar BGYE	0 0 0 0	ISO 9308-1 IC NM 03.7.003 ISO 7899-2 Manuel de microbiologie alimentaire 1997

N.B: Le protocole des techniques d'analyse (1*, 2*, 3*, 4*) est montré en annexe 2:

L'ensemencement en profondeur :

L'ensemencement en profondeur est la technique appliquée pour la recherche des germes revifiables. Elle consiste à pipeter aseptiquement 1 ml d'eau de chaque échantillon, à le mettre dans des boîtes de pétri identifiées puis les incorporer par la P C A. Après la solidification du milieu, les boîtes sont incubées à la température convenable.

La filtration:

La filtration sur membrane permet de compter les bactéries en faisant passer à travers le filtre un volume connu d'échantillon d'eau à analyser. Cette méthode est réalisée pour la recherche des coliformes fécaux, des coliformes totaux, des streptocoques fécaux et des anaérobies sulfito-réducteurs. Elle consiste à filtrer aseptiquement 100 ml de chaque échantillon sur des membranes de nitrocellulose. Les membranes sont ensuite déposées sur des milieux de culture coulés préalablement dans des boîtes de pétri et mises dans l'incubateur (Figure 2). Pendant l'incubation, chacune des bactéries donne naissance à une colonie bactérienne, visible à l'œil nû. Une fois l'incubation terminée, on compte le nombre de colonies

^{*} Les références des classes d'eau sont montrées en annexe 4.



Stériliser les pincettes à la flamme et les laisser légèrement refroidir.

Retirer la membrane de son emballage.

Placer le filtre sur le fritté du support de filtre et jeter le papier jaune.

Filtrer 100ml de chaque échantillon.

Placer la membrane dans une boîte de pétri contenant un milieu solide (face contenant les bactéries vers le haut) en faisant attention qu'il n'y ait pas de bulles d'air.



Laisser les boîtes incuber dans l'étuve aux températures préconisées avec le couvercle vers le haut.



Figure 2 : Principe de la technique de filtration

1- Etude rétrospective

A- Répartition des échantillons reçus

Durant l'année 2009, le laboratoire de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès a reçu 1629 échantillons d'eaux. Le tableau 2 montre la répartition des échantillons reçus en fonction de la classe et de la sous classe d'eau.

<u>Tableau 2</u>: Répartition des échantillons reçus en fonction de la classe et de la sous classe d'eau

Classes d'eau	Sous classe	Nombre d'échantillons	
	E réseau	764	
Eaux	E fontaine	468	
d'alimentation	E puits	206	
humaine	E source	74	
Eaux de baignade	E piscine	28	
Eaux de surface	E surfaces	10	
Eaux minérale	E tables	20	
naturelles	E minérale	5	
Eaux thermale	E thermale	35	
Eaux usées	E usée	18	
Non identifiée	Indéterminé	1	
		1629	Total

On remarque que les eaux d'alimentation humaine sont les échantillons les plus examinés au laboratoire avec une nette prédominance pour la sous classe des eaux de réseau (soit 46,89%)

B- Pourcentage de non-conformité globale

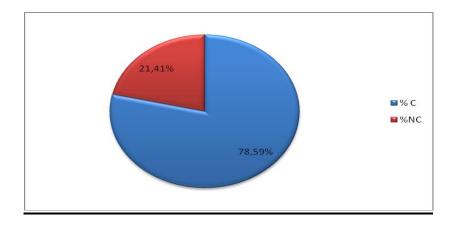


Figure 3 : Le pourcentage de la non-conformité des eaux analysées au laboratoire

Sur 1629 échantillons d'eaux analysées, 365 échantillons sont non conformes, soit un taux de non-conformité de 21,41%

C- Variation de la non-conformité des échantillons analysés en fonction des sous classes d'eaux analysées

Comme montré en figure 4, on note que sur les 365 échantillons non conformes, les eaux de puits ont été les plus représentés, soit un taux de non-conformité de 38,90%.

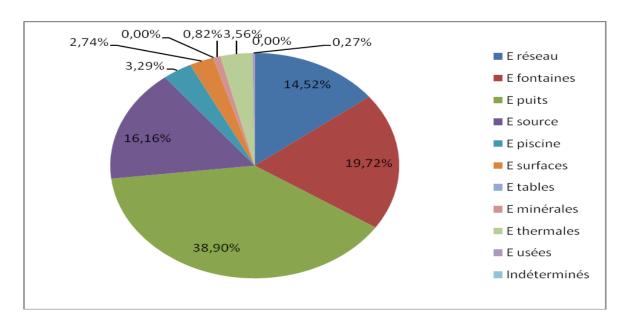


Figure 4 : Variation de la non-conformité des échantillons analysés en fonction des sous classes d'eaux

D- Distribution de la non-conformité des eaux analysées par sous classes d'eaux analysées

La distribution de la non-conformité au sein des sous classes d'eaux est illustrée dans le tableau 3

<u>Tableau 3</u>: Distribution de la non-conformité des eaux analysées par sous classes d'eaux

Sous classe	Nombre	Nombre de non	Taux de non-conformité
d'eaux	analysé	conforme	(%)
E réseau	764	53	6,94
E fontaines	468	72	15,38
E puits	206	142	68,93
E source	74	59	79,73
E piscine	28	12	42,86
E surfaces	10	10	100
E tables	20	0	0
E minérales	5	3	60
E thermales	35	13	37,14
E usées	18	1	5,56
Indéterminés	1	0	0

On remarque une non-conformité de la totalité des eaux de surfaces analysées et de la majorité des eaux de puits et des eaux de source reçus (soit respectivement 68,93% et 79,73%)

E- Distribution de la non-conformité en fonction du service expéditeur

Le tableau 4 montre la répartition des échantillons reçus en fonction du service expéditeur et le taux de non-conformité par rapport à la totalité des échantillons non conformes

<u>Tableau 4</u> : Distribution de la non-conformité en fonction du service expéditeur

Service expéditeur	Fès	My yacoub	Aéroport	total
Nombre d'échantillons				1629
analysés	1222	387	20	
Nombre d'échantillons				365
non conformes	282	81	02	
Taux de non-conformité				
(en %)	77,26%	22,19%	0,55%	21,41%

On remarque que la majorité des échantillons analysés sont reçus de la préfecture de Fès (soit 70,15%), le taux de non-conformité est représenté en grande partie par les échantillons les plus analysés (soit un taux de 77,26%)

La figure 5 illustre la non-conformité des eaux examinées par rapport aux échantillons reçus pour chaque service expéditeur

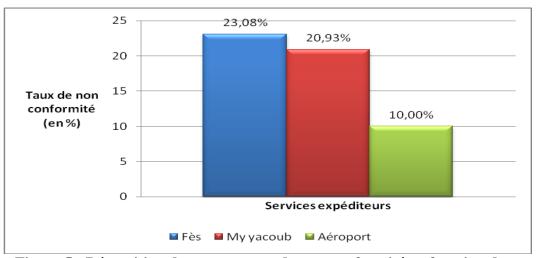


Figure 5 : Répartition du pourcentage de non-conformité en fonction du service expéditeur

On constate que le taux de non conformité des échantillons reçus de la ville de Fès est le plus élevé (soit 23,08%) suivi par celui des échantillons provenant de My Yacoub.

F- Répartition de la non-conformité en fonction du taux de chlore présent dans les échantillons d'eau d'alimentation humaine

Comme le montre la figure suivante, le taux de non-conformité est plus dominant en absence du chlore (65,44%) et diminue plus le taux de chlore augmente

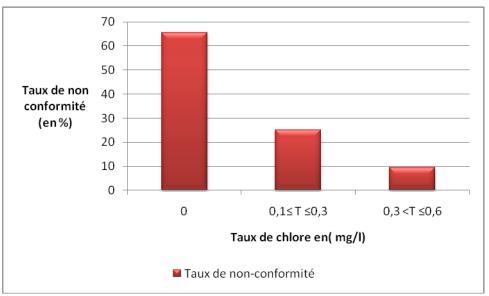


Figure 6 : Répartition du pourcentage de non-conformité en fonction du taux de chlore présent dans les échantillons

G-Fréquence des germes retrouvés

Comme illustré en figure 7, on remarque que la répartition des germes retrouvés a révélé une prédominance des germes revifiables à 37°C (13,57%) suivie par les coliformes totaux, *E.coli*, les *Enterocoques* fécaux. Les germes revifiables à 22°C n'ont été notés que dans 6,62% des cas.

On constate également l'absence du *Vibrio cholerae* et du *Staphylocoque* pathogène, la présence du Salmonelle dans un seul cas (soit 0,06%).

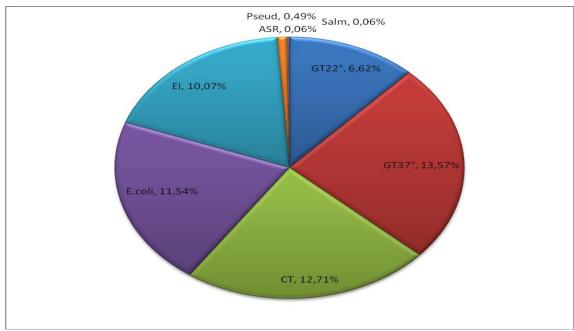


Figure 7 : Répartition des germes retrouvés

H- Fréquence des germes retrouvés par classe d'eau

Les tableaux 5 A et 5B illustrent la distribution des germes retrouvés en fonction de la classe d'eau et des sous classes de la classe d'alimentation humaine

Tableau5 A : Fréquence des germes retrouvés par classe d'eau

	, ,, , , , , , ,	G		z c cz o cz , co p.		, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	-			
Classe	GT22°C	GT37°C	CT	CF(E.coli)	EI	Pseud	ASR	Salm	Vib	Total
d'eau										
EAH	104	207	184	170	146	-	-	-	-	811
EMN	2	9	9	6	6	4	0	-	-	36
EB	-	-	12	10	10	-	-	-	-	32
EU	-	-	-	-	-	-	-	1	0	1
ES	-	-	10	9	10	-	-	-	-	29
Total	106	216	215	195	172	4	0	1	0	

(-) : n'est pas recherché selon la norme

<u>Tableau 5 B</u>: Fréquence des germes retrouvés par sous classe d'eau d'alimentation humaine

Sous classe	GT22°C	GT37°C	CT	CF (E.coli)	EI
d'EAH					
Eau de réseau	15	38	17	10	7
Eau de fontaine	8	54	19	11	10
Eau de puits	56	85	99	98	82
Eau de source	22	29	41	44	39

On note une prédominance des germes revifiables à 37°C pour la classe d'eau d'alimentation humaine, des coliformes totaux et des germes revifiables pour la classe des eaux minérales naturelles.

Pour les eaux de baignade (piscine), les coliformes totaux étaient les plus retrouvés. Le *Vibrio cholerae* n'a pas été isolé dans les eaux usée Concernant les eaux de surface, les coliformes fécaux et les Streptocoques fécaux étaient les plus isolés

2- L'étude prospective

A- Répartition des échantillons reçus

Durant la période de mon stage, le laboratoire a reçu 105 échantillons dont la répartition est montrée dans le tableau suivant

Tableau 6: Répartition des échantillons reçus en fonction de la classe d'eau

Classes d'eau	Sous classe	Nombre d'échantillons	
	E réseau	80	
Eaux d'alimentation	E fontaine	04	
humaine	E puits	16	
	E source	04	
Eau minérale naturelle	Eau minérale	01	
		105	Total

B- Pourcentage de non-conformité globale

La figure 8 montre la répartition de la non-conformité des eaux analysées au laboratoire durant le mois de mai de l'année 2010.

On note 28 cas de non conformité des eaux analysées (soit un taux de 26,67%)

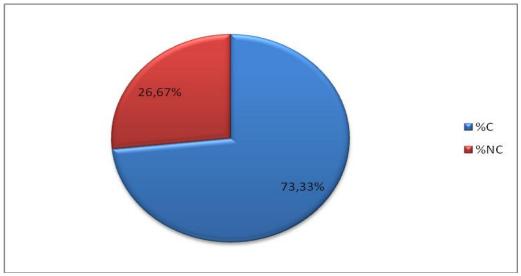


Figure 8 : Répartition de la non-conformité des eaux analysées durant le mois de mai de l'année 2010

C- Répartition de la non-conformité des échantillons analysés par sous classes d'eaux analysées

Comme montré en figure 9, on note que sur les 28 échantillons non conformes, les eaux de puits et les eaux de réseau sont les plus prédominants (%)

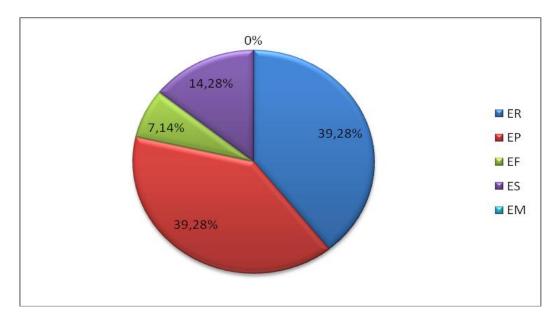


Figure 9 : Répartition de la non-conformité des échantillons analysés par sous classes d'eaux

D- Distribution de la non-conformité par sous classes d'eaux analysées

Comme l'illustre le tableau 7, On constate que la totalité des eaux de source, la majorité des eaux de puits analysés sont non conformes.

<u>Tableau 7</u>: Distribution de la non-conformité par sous classes d'eaux analysées

Sous classe d'eau	Nombre d'échantillon analysé	Nombre d'échantillon non conforme	Taux de	e nor
E réseau	80	11		
E fontaines	04	02		
E puits	16	11		
E source	04	04		
E minérales	01	0		
Total	105	28		

E- Distribution de la non-conformité des échantillons par service expéditeur

Comme montré en figure 10 le taux de non conformité des échantillons reçus de la ville de Fès est plus élevé que celui des échantillons reçus de My yacoub

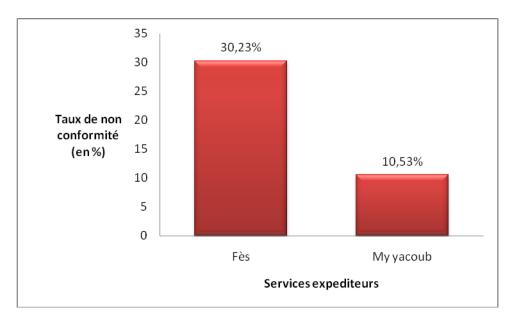


Figure 10 : Distribution du pourcentage de non-conformité par service expéditeur

F- Répartition de la non-conformité en fonction du taux de chlore présent dans les échantillons d'eau analysés

Comme le montre la figure suivante, le pourcentage de non-conformité est plus dominant en absence du chlore (65,44%) et diminue plus le taux de chlore augmente.

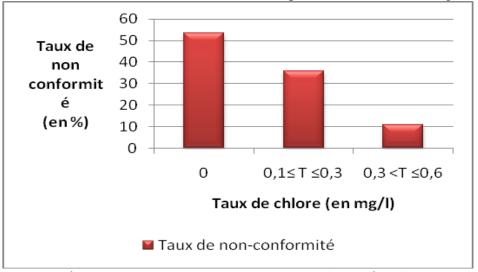


Figure 11 : Répartition du pourcentage de non-conformité en fonction du taux de chlore présent dans les échantillons

G-Fréquence des germes retrouvés par classe d'eau

Le tableau 8 montre la répartition des germes retrouvés dans les eaux reçues pendant la période de stage

Tableau 8 : Fréquence des germes retrouvés par classes et sous classes d'eau

Classe d'eau	Sous classe	GT22°C	GT37°C	CT	CF(E.coli)	EI	Pseud	ASR
	d'eau							
EAH	ER	7	6	2	0	0	-	-
	EF	2	0	2	2	2		
	EP	2	4	10	6	6		
	ES	3	2	4	4	3		
EMN	EM	0	0	0	0	0	0	0

On note une prédominance des germes totaux dans le cas de la sous classe eau de réseau alors que les coliformes sont les plus retrouvés dans le cas de l'eau de puits et de l'eau de source

L'eau est beaucoup plus qu'un simple besoin humain. Elle représente un élément essentiel et irremplaçable pour assurer la continuité de la vie. Cependant, elle peut être aussi une source de maladie (Elhaissoufi, 2009)

L'assurance de la qualité et de l'hygiène de l'eau sont des exigences prioritaires de santé publique (Raetz, 2005).

Le laboratoire de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de la préfecture de Fès est l'un des laboratoires qui réalise le contrôle sanitaire de toutes les classes d'eaux afin de s'assurer qu'elles répondent aux exigences de la santé publique.

Les études rétrospective et prospective que nous avons réalisées ont révélé que les échantillons examinés au laboratoire étaient représentés en grande partie par les eaux d'alimentation humaine avec une nette prédominance pour la sous classe des eaux de réseau (soit 46% pour l'étude rétrospective et 76,19% pour l'étude prospective).

Ces résultats montrent l'importance du contrôle sanitaire assuré par le laboratoire en vue de garantir la qualité de l'eau potable mise à la disposition des citoyens

Nous avons trouvé que le taux de non-conformité était de 21,41% durant l'année 2009 et de 26,67% au cours du mois de Mai 2010.

Durant l'année 2009, l'analyse réalisée de la non-conformité pour chaque classe d'eau a révélé que la totalité des eaux de surface et la majorité des puits analysés étaient contaminées ; alors que durant le mois de mai 2010, la totalité des eaux de source et la majorité des puits analysés étaient non conformes.

ELHAISSOUFI en 2009 a signalé que la mauvaise protection des puits (l'élevage des bétails à coté des puits, puits à ciel ouvert), la méconnaissance des règles élémentaires d'hygiène, l'absence d'un assainissement liquide, l'utilisation des seaux contaminés pourraient être en faveur de la contamination bactérienne des eaux et en particulier des eaux de puits, de surface, de source et de fontaine.

La non-conformité des eaux de réseau pourrait être due à la qualité des flacons de prélèvement et au non respect des règles de prélèvement et d'acheminement au laboratoire

Durant le mois de mai de l'année 2010, toutes les classes d'eau analysées ont révélé que les germes totaux ont été les plus fréquemment retrouvés alors que les indicateurs de la contamination fécale étaient plus représentés dans les sous classes puits et source durant l'étude rétrospective

Concernant l'étude prospective et rétrospective, nous avons constaté que la présence du chlore dans l'eau d'alimentation humaine diminue le taux de non-conformité car le chlore est un désinfectant bactéricide.

Nous avons aussi remarqué que les bactéries d'origine intestinale (poussant à 37°C) étaient plus dominantes que les bactéries d'origine environnementale (poussant à 22°C) pour toutes les classes d'eaux en 2009

Au terme de notre étude, nous pouvons conclure que :

- La contamination des eaux a affecté la quasi-totalité des classes d'eaux analysées (soit 24,04%).
- La majorité des puits (68,84%), des sources (89,86%) et des eaux surfaces (100%) analysés étaient contaminées.
- La présence du chlore à un taux convenable contribue à garantir la qualité de l'eau d'alimentation humaine
- Les bactéries d'origine intestinale (CF, EI) étaient plus dominantes que les bactéries d'origine environnementale (GT à 22°C).

Suite à ces résultats, il serait souhaitable de :

- Mener une large campagne de sensibilisation pour améliorer la qualité des eaux :
 - En insistant la population à traiter l'eau de puits, de source avant leur consommation
 - En appliquant les règles élémentaires d'hygiène (l'utilisation des seaux non contaminés,..)
- Réaliser un suivi dans le temps des points de prélèvements contaminés,
- Informer les techniciens d'hygiène sur l'importance de la qualité du prélèvement.

Adjide C. et coll, 2009 « Evaluation des risques microbiologiques hydriques associés a`Stenotrophomonas maltophilia et Pseudomonas aeruginosa au CHU d'Amiens ». www.sciencedirect.com

Alaoui Mrani B., 2009. « L'impact de la chloration sur la résistance des germes au niveau de la source Bourkaiz ». Mémoire, Université Sidi mohamed ben Abdellah. Faculté des sciences et techniques Fès, pages 8-10.

Amraoui F., 2007. « L'eau au Maroc ». Mémoire, Faculté des Sciences Aïn Chock. Casablanca

BAD, 2004. Huitième projet d'alimentation en eau potable et d'assainissement.

Batalla Roger, Porta Laïla, 2008. «L'eau, source de vie » .la haute école de santé à Genève, filière de nutrition et diététique, pages 2 et 3.

Chapuis C. et coll, 2004. «Gestion des risques infectieux liés aux piscines et bains collectifs à usage médical ». Annales de réadaptation et de médecine physique 47 pages 233–238 www.sciencedirect.com

Direction générale de la santé, 2005. «La qualité de l'eau potable en France Aspects sanitaires et réglementaires ». Pages 5-6

Dupont C., 2010 ; « Diarrhées aiguës de l'enfant ». Journal de pédiatrie et de puériculture **23**, pages 84—95

www.sciencedirect.com

EL Haissoufi H., 2009. « Evaluation de la qualité hygiénique des eaux de puits de la ville de Fès ». Mémoire, Université Sidi mohamed ben Abdellah. Faculté des sciences Dhar El Mehraz Fès. Pages 3-17.

Elhouari H., 2006. « Dénombrement et identification des germes bactériens dans un collecteurs d'origine domestique ». ». Mémoire, Université Sidi Mohamed ben Abdellah. Faculté des sciences et techniques Fès, pages 8-16.

François-Xavier W. Février 2009. « *Salmonella* : épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques ». Laboratoire des bactéries pathogènes émergentes Institut Pasteur, supplément au n°409 //

www.sciencedirect.com

Jean-Christophe Bligny, Philippe Hartemann, 2004. « Les eaux minérales naturelles et les eaux de source : cadre réglementaire et technique ». C. R. Géoscience 337 pages279–284. www.sciencedirect.com

Khalaayoune K., 2008. « Réutilisation des eaux usées en agriculture, risque de transmission de parasites à l'homme et à l'animal ». page 14

Ministère de la santé, 1997. « Manuelle de microbiologie alimentaire, Rabat ».

Morija, 2009. « L'eau, c'est la vie » des puits pour le Burkina Fasso. Association humanitaire en Reutet, page 3

Moumouni Djermakoy Hamsatou M., 2005. « Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries Caractéristiques physico-chimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surface et les eaux souterraines ».thèse, la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie, pages 40-42.

Montiel A., 2004. « Une législation nouvelle pour les eaux destinées à la consommation humaine ». C. R. Géoscience 337 (2005) 269–276 www.sciencedirect.com

Raetz E., 2005. « Qualité des eaux de boisson et exigences légales». Laboratoire cantonal VD au suisse.

Soussane M., 1999. Les ressources en eau au Maroc bilan, perspectives et plan d'action. Rapport institut méditerranéenne de l'eau (I.M.E).

ANNEXE 1

Epi info 6

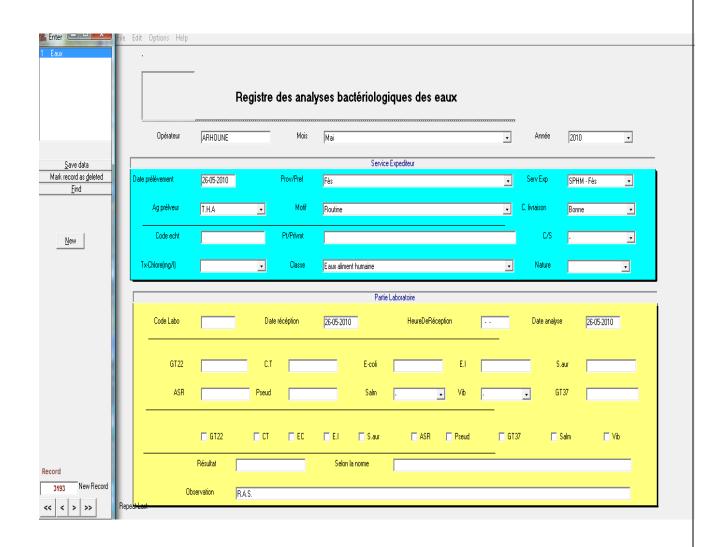
Epi INFO est un logiciel de traitement de texte, de bases de données et de statistiques appliqué à l'épidémiologie. Le programme a été conçu par le Bureau du programme d'épidémiologie des Centres de lutte et de prévention des maladies (CDC) et par le Programme mondial de lutte contre le sida de l'OMS. Il est accessible par toute la communauté des personnes travaillant en santé publique



Figure 12: Logiciel de l'Epi info version 3.3.2

ANNEXE 1

Figure 13 : Grille de saisie



ANNEXE 2

(1*): Les Spores des *Clostridium* sulfito-réducteurs sont recherchées sur le milieu de SPS (SULFITE POLYMIXIN SULFADIAZIN).

L'échantillon d'eau est chauffé au bain-marie à une température de 80°C pendant 10 minutes, afin de détruire les formes végétatives des bactéries et d'activer les spores revifiables Après régénération de milieu de culture contenu dans des tubes à essai à vis (20 ml par tube) maintenu a l'ébullition ; on ajoute 5 ml de notre échantillon. Les volumes de prises d'essais et du milieu doivent êtres choisi de telle manière que les éventuelles colonies noires apparaissant soient bien séparées et facile à compter.

(2*): Isolement des salmonelles :

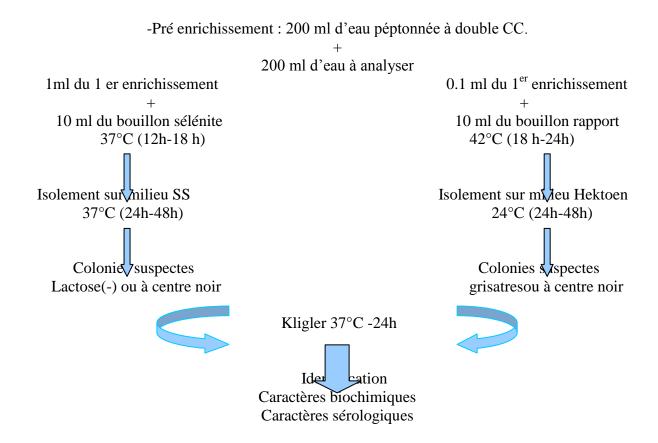
Comporte quatre étapes (RODIER et al, 1996): selon deux axes différents (norme marocaine: 03.7.050)

1er axe:

Un pré-enrichissement de 200 ml de l'eau à analyser dans 200 ml de l'eau péptonée tamponnée à double concentration et incubation à 37°C pendant 6 à 18 heures. Un enrichissement de 0.1 ml du premier enrichissement dans 10 ml du bouillon rappaport à 42°C pendant 18 à 24 heures. L'isolement sur milieu sélectif qui consiste à ensemencer le milieu Hektoen à partir du bouillon d'enrichissement et incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. L'identification dans laquelle les colonies suspectes sur milieu Hektoen, lactose négatif à centre noir, sont repiquées sur milieu Kligler en tube et incubé à 37°C pendant 24 heures

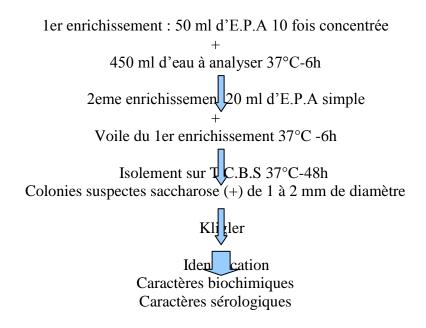
2ème axe :

Un pré-enrichissement dans l'eau péptonée tamponnée à double concentration et incubation à 37°C pendant 6 à 18 heures. Un enrichissement de 1 ml dans le premier enrichissement dans 10 ml du bouillon sélénite et incubation à 37°C pendant 12h à 18h. L'isolement sur milieu sélectif qui consiste à ensemencer le milieu SS à partir du bouillon d'enrichissement, et incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. L'identification dans laquelle les colonies suspectes sur milieu SS, lactose négatif à centre noir, sont repiquées sur milieu Kligler en tube et incubé à 37°C pendant 24 heures.



(3*): Isolement des vibrions cholériques

Selon la Norme Marocaine : n° 03.7.051 L'enrichissement comporte trois étapes : Un premier enrichissement dans l'eau péptonée tamponnée dix fois concentrée à 37°C pendant 6 heures, suivie d'un deuxième enrichissement dans l'eau péptonée tamponnée simple à 37°C pendant 6 heures. L'isolement sur milieu sélectif qui consiste à ensemencer le milieu TCBS (milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose) à partir du bouillon d'enrichissement, et incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. L'identification est la dernière étape, les colonies suspectes sur milieu TCBS, saccharose positif (de 1 à 2 mm de diamètre), sont repiquées sur milieu Kligler et incubé à 37°C pendant 24 heures. Ceci incite à l'identification biochimique (en utilisant les galeries API 20 N E) ou sérologique à l'aide de sérums spécifiques.



(4*): Les *Legionelles* contenues dans un échantillon d'eau sont concentrées par filtration sur membrane. Après filtration, le filtre est traité avec un tampon acide placé directement dans l'entonnoir, pour réduire la croissance des micro-organismes autres que les *Legionelles*. Le filtre est ensuite transféré sur une boîte contenant du milieu gélosé sélectif des *Legionelles*, et incubé. Il n'est pas nécessaire, avant la mise en culture, de concentrer les échantillons supposés contenir un nombre suffisant de *Legionelles*

ANNEXE 3

La composition des milieux de cultures utilisées

Des g pour 1L d'eau distillée :

1- <u>PCA:</u>	
Tryptone	5.000
Extrait autolytique de levure	2.500
Glucose	1.000
Agar agar bactériologique	2.000
pH = 7 + /-0.2	
2 - Tergitol 7 Agar (base) à TTC :	
Peptone panceéatique de viande	5.000
Extrait Autolytique de levure	3.000
Lactose	10.000
Tergitol 7	0.100
Bleu de Bromothymol	0.025
Agar Agar bactériologique	15.000
pH = 6.9 + -0.2	
3 – Slanetz:	
Tryptose	20.000
Extrait de levure	5.000
Glucose	2.000
K2HPO4.2H2O	4.000
Azoture de sodium	0.400
Chlorure de triphényltétrazolium	0.100
Agar	10.000
pH=7.2+/- 0.2	
4 - TCBS Agar :	
Pepto special.	10.000
Yeast extract	5.000
Sodium citrate	10.000
Sodium trisulfate	10.000
Oxibile	8.000
Sucrose	20.000
Sodium chloride	10.000
Ferric citrate	1.000
Brom thymol blue	0.040
Thymol blue	0.040

Agar	15.000
pH = 8.4 + /-0.2	

5 - Hectoen Enteric Agar :	
Proteose peptone	12.000
Yeast extract	3.000
Lactose	12.000
Sucrose	12.000
Salicine	2.000
Bils salts No	39.000
Sodium chloride	5.000
Sodium thiusulfate	5.000
Ammonium ferric citrate.	1.500
Acid fuchsine	0.100
Bromothymol blue	0.065
Agar	14.000
$pH = 7.5 + /-0.2 \ a \ 25^{\circ}c$	
6 - Cetrimide Agar :	
Peptone pancréatique de gélatine	20.000
Cetrimide	0.300
Chlorure de magnésium.	1.400
Sulfate de potassium	10.000
Agar agar bactériologique	15.000
7- Milieu SPS (Sulfite Polymixin Sulfadiazine)	
Peptone de caséine.	15.000
Extrait de levure	10.000
Citrate ferrique	0.500
Sulfite de sodium	0.500
Sulfate de polymyxine.	0.010
Sulfadiazine sodique	0.120
Agar agar	13.900
pH final 7.0 ± 0.2 à 25° c.	13.500
9 Milion DOVE	
8- Milieu BCYE: Extrait de levure (qualité hactérial acique)	10.000
Extrait de levure (qualité bactériologique)	
Agar	
Charbon actif	
Cétoglutarate, sel monopotassique	
Tampon ACES (acide <i>N</i> -2-acétamido-2-aminoéthane sulfonique)	
Hydroxyde de potassium (KOH) (pastilles)	
Chlorhydrate de L-cystéine monohydraté	
Pyrophosphate de fer(III)[Fe4(P2O7)3]	0,250

9- Milieu BEA: Bile Esculine Azide

Tryptone	17.000
Peptone pepsique de viande	03.000
Extrait autolytique de levure	
Bile de bœuf bacteriologique	
Chlorure de sodium.	
Esculine	
Citrate ferrique ammoniacal	
Azid de sodium.	
Agar Agar bacteriologique	13.000

ANNEXE 4

Les références des différentes classe et sous classe d'eau

Classes et sous classes	Normes ou Circulaires appliqués
Eaux de boisson	NM 03.7.001 Qualité des eaux d'alimentation humaine (2006)
Eaux usées	NM 03.7.050 Salmonelle
Laux usees	NM 03.7.051 Vibrion
Eaux de piscine	MS-MMA P.71 Arrêté du 21 Décembre 1979 concernant les eaux de piscines
Eaux minérales naturelles	C.C. N°: 1 du 9 Mai 1983 CIRCULAIRE CONJOINTE N°I DU 9 MAI 1983 DU MINISTRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA REFORME AGRAIRE ET DU MINISTRE DE LA SANTE RELATIVE AUX CRITERES BACTERIOLOGIQUES D'USAGE POUR LES EAUX MINERALES NATURELLES
Eaux de surface	B.O. N°: 5062 du 5-12-2002