



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques

«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

**Analyses bactériologiques des eaux d'Oued Sebou et Contrôle de la qualité analytique des
paramètres bactériologiques au sein du laboratoire régional de**

L'ONEE /BO de Fès

Présenté par :

-MSELLEK KENZA

Encadré par :

- Mme FADIL FATIMA (FSTF)

-Mr FELLAH MOHAMMED (ONEE/BO)

Soutenu le : 05 juin 2018

Devant le jury composé de :

- Mme. FADIL FATIMA
- Mme. AZZOUZI AMAL

**Année universitaire
2017/2018**

Remerciement

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

A Mr. FELLAH MOHAMMED

Ingénieur de Laboratoire de l'unité de production d'Oued Sebou pour m'avoir encadré pendant la durée de mon stage, pour ses précieux conseils et ses efforts permanents dans le but d'assurer le bon déroulement de mon stage.

A Mme FATIMA FADIL

Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès qui a accepté favorablement de m'encadrer pendant ce stage. Et qui m'a orienté et apporté toute l'aide nécessaire durant la rédaction du rapport.

A Mme. Bahia Ben cheikh, Mr. DRISS HAMDANI, Mme. KELTOUM ALAMI pour l'aide précieuse, l'orientation, la grande compréhension, la disponibilité et le soutien durant la période du stage.

A Mme. AZZOUZI AMAL Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, d'avoir accepté de juger ce travail.

Et en fin merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Sommaire

Introduction.....	1
Présentation de ONEE.....	2
Partie1 : Bibliographie	3
I. pollution de l'eau :.....	3
1. Les différents types de pollution.....	3
a. La pollution chimique	3
b. La pollution physique	3
c. La pollution biologique.....	3
2. Les maladies hydriques	4
II. Le prétraitement et traitement de l'eau brute	4
1. Le prétraitement de l'eau d'Oued Sebou	4
a. Dégrillage.....	5
b. Relevage	6
c. Dessablage	6
d. Débourbage.....	6
e. Préchloration	7
2. Le traitement de l'eau d'Oued Sebou.....	7
a. Coagulation-floculation.....	8
b. Décantation	9
c. Filtration	9
d. Désinfection.....	10
e. Réservoirs de stockage	10
III. Contrôle bactériologique de l'eau.....	11
1. Les micro-organismes recherchés.....	11
a. Les coliformes totaux	11
b. Les Coliformes fécaux	11
c. Les Clostridium sulfito –réducteurs.....	12
d. Les Entérocoques intestinaux.....	12
e. Les micro-organismes revivifiables	13

Partie 2 : Matériel & Méthodes.....	14
I. Analyses bactériologiques	14
1. Analyse des eaux traitées	14
a. Recherche des coliformes totaux et <i>Escherichia coli</i>	14
b. Recherche des entérocoques intestinaux	15
c. Recherche des <i>Clostridium</i> sulfito- réducteurs :	16
d. Recherche des micro-organismes revivifiables :.....	16
2. Analyse des eaux brutes	17
a. Recherche des coliformes	17
b. Recherche des entérocoques intestinaux	18
II. Contrôle de la qualité analytique des paramètres bactériologiques	21
a. Suivie de la température de l'air ambiant.....	21
b. Qualité de l'air ambiant.....	21
c. Qualité de la surface de travail	21
2. contrôle de qualité du matériel et consommables	21
a. Eau distillée.....	21
b. Membranes filtrante	22
c. Contrôle de stérilité des boîtes de pétri	22
3. Contrôle de qualité des milieux de culture.....	22
Partie III : Résultats et discussion.....	23
I. Résultat des analyses bactériologiques de l'eau	23
1. Eau brute.....	23
2. Eau traitée.....	24
3. Discussion	24
II. Résultats du contrôle de la qualité des paramètres bactériologiques.....	25
1. Résultat du Contrôle de la salle de bactériologie	25
a. Contrôle de la température des salles, des étuves et des réfrigérateurs (contrôle quotidien).....	25
b. Contrôle de l'air ambiant (1fois/mois par point).....	26
c. Contrôle de surface de travail (1fois/mois/place)	26
2. Résultat du contrôle de la qualité du matériel et consommables.....	27
a. Contrôle de l'eau distillée.....	27

c. Contrôle de stérilité des boîtes de pétri	27
Conclusion.....	28
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

- **BHAA** : Bactérie hétérotrophe aérobie anaérobie
- **C**: Coliformes
- **E. coli** : Escherichia coli
- **EI** : Entérocoques intestinaux
- **EST** : Entrée de station de traitement
- **MES** : Matière en suspension
- **NPP** : Nombre le plus probable
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **ONEE/BO** : Office National de l'Électricité et de l'Eau potable-
Branche Eau
- **PH** : Potentiel Hydrogène
- **UFC** : Unité formant colonies
- **VMA** : Valeur maximale admissible

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 **97 %** de la surface de la terre mais seulement **3 %** des réservoirs globaux en eau sont utilisés comme eau potable.

Certes, au Maroc les oueds constituent une source importante dans l'alimentation en eau potable, dans l'irrigation et aussi dans le domaine de l'industrie. Malheureusement, ils sont exposés aux problèmes de la pollution, du fait de l'absence des réseaux d'assainissement et des normes de rejet pour les unités industrielles qui y déversent leurs égouts.

Une eau d'apparence limpide transporte en son sein toutes sortes de substances inertes et vivantes, dont certaines peuvent être nocives pour l'organisme humain. Ainsi pour pouvoir être consommée sans danger, l'eau doit donc être traitée

La connaissance de paramètres physico-chimiques, et microbiologiques, fait partie de l'ensemble des informations nécessaires pour évaluer la qualité de l'eau afin de prendre des décisions d'action dans de nombreux domaines.

C'est dans ce cadre que se place mon sujet de stage qui s'intéresse à mettre en valeur l'importance et l'efficacité des différentes étapes de traitement, ainsi les différentes analyses réalisées au sein du laboratoire régional de Fès particulièrement les analyses microbiologiques et assurance de la qualité.

Ce travail comporte deux volets différents :

- ✓ Analyses microbiologiques des eaux brutes et des eaux traitées
- ✓ Contrôle de la qualité analytique des paramètres bactériologiques

Présentation de ONEE

L'Office National de l'Electricité et de l'Eau potable-Branche Eau (ONEE /BO), est un établissement public à caractère industriel et commercial, créé en 1972 sous le nom de l'ONEP ; doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière, acteur principal dans le secteur de l'eau potable et l'assainissement au Maroc. En 2012 prend le nom **ONEE-Branche Eau**.

L'objectif de l'**ONEE/BO** est fixé par ses missions principales qui vont de la planification à la distribution de l'eau potable (produire 80% de l'eau potable) en passant par les phases de l'étude, conception, réalisation (Travaux et prévisions financières), gestion et exploitation des unités de production et de distribution et du contrôle de la qualité des eaux jusqu'à la protection des ressources.

L'**ONEE/BO** a 10 directions, une centrale (Rabat) et les autres régionales.

Le laboratoire régional de Fès a pour tâche le contrôle de la qualité des eaux brutes et leur traitement dans les centres relevant de la direction régionale du centre Nord, dans le but de livrer aux consommateurs une eau potable.

Pour la production de l'eau potable L'**ONNE/BO** a Fès utilise soit des ressources souterraine : les forages situés dans la plaine du Sais ou des ressources superficielles : les eaux d'Oued Sebou.



Figure1 : Etablissement d'ONEE/BO

L'ONNE/BO est chargé de la :

- ❖ **Planification** de l'approvisionnement en eau potable à l'échelle nationale.
- ❖ **Production** et **distribution** de l'eau potable pour le compte des collectivités locales.
- ❖ **Gestion** de l'assainissement liquide pour le compte des collectivités locales.
- ❖ **Contrôle** de la qualité des eaux.

Partie1 : Bibliographie

I. Pollution de l'eau :

On appelle pollution de l'eau toute modification chimique, physique et biologique de l'eau qui a un effet nocif sur les êtres vivants. La consommation de l'eau polluée par les êtres humains est à l'origine de nombreuses conséquences néfastes pour leur santé (<http://www.eaudumaroc.com/2016/12/la-pollution-les-causes-et-consequences.html>)

1. Les différents types de pollution

a. La pollution chimique

Les produits chimiques qui polluent l'eau sont issus des engrais et des produits phytosanitaires qu'on utilise, comme les insecticides ou pesticides employés couramment pour éliminer les insectes et protéger les végétaux. Ces produits peuvent être charriés par les eaux de ruissellement et polluer les nappes phréatiques. D'autre part, les engrais chimiques sont transportés dans les lacs ou les rivières par les eaux de pluie et entraînent ainsi la dégradation de l'eau.

Le domaine de l'industrie est lui aussi très nocif pour l'eau, soit à cause du réchauffement de sa température dans certaines industries comme l'industrie nucléaire. Ou encore à cause des déchets industriels charriés par les eaux de ruissellement ou déversés directement dans les rivières ou dans la mer. L'eau peut également être polluée par les métaux, les plus dangereux étant ceux employés dans les industries nucléaires car ils peuvent être radioactifs.

b. La pollution physique

La pollution physique de l'eau comprend les matières en suspension provenant des mines ou des cimenteries peuvent modifier la turbidité de l'eau, réduisant sa transparence, 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.

c. La pollution biologique

De nombreux microorganismes, virus, bactéries et protozoaires, voire des champignons et des algues sont présents dans l'eau. Les conditions anaérobies généralement rencontrées dans les eaux souterraines limitent cependant leur diversité. Les bactéries, virus et autres agents pathogènes rencontrés dans les eaux souterraines proviennent surtout de fosses septiques, des décharges, des épandages d'eaux usées, de l'élevage, de matières fermentées, de cimetières et de rejet d'eaux superficielles. La grande majorité de ces microorganismes sont nocifs, susceptibles d'engendrer des infections redoutables, diffuse dans l'environnement hydrique par l'intermédiaire de souillures fécales humaines ou animales. Les pollutions microbiologiques se rencontrent surtout dans les aquifères à perméabilité de fissure (craie, massifs calcaires), dans lesquels la fonction épuratrice du sous-sol ne peut s'exercer et dans lesquels la matière organique est dégradée partiellement. (Document Interne de l'ONEE/BO La microbiologie des eaux, 2013)

2. Les maladies hydriques

Selon l’OMS, 80% des maladies qui affectent la population de la planète sont liées à la pollution des eaux. Ces maladies dites « hydriques » sont causées par la consommation d'eau contaminée par des fèces animales ou humaines, qui contiennent des microorganismes pathogènes (Lenntech, 2008).

On dénombre de nombreuses maladies véhiculées par ces micro-organismes :

Les diarrhées : ces diarrhées peuvent parfois témoigner d’une atteinte plus sérieuse et nécessite une prise en charge médicale. Chaque jour, 6000 personnes dans le monde meurent à cause de maladies diarrhéiques. En 2001, on a ainsi dénombré près de 2 millions de morts, dont plus de la moitié sont des enfants.

La schistosomiase : selon l’OMS au moins 206 millions de personnes de personnes sont infectées par les schistosomias, il s’agit d’une maladie parasitaire causée par les trématodes du genre *Schistosoma haematobium*. (<http://www.who.int/features/factfiles/schistosomiasis>)

Le choléra : il s’agit d’une maladie infectieuse grave due à une bactérie du genre *vibron* qui est à l’origine d’une diarrhée extrêmement sévère avec des vomissements accompagné d’une déshydratation rapide, le plus souvent mortelle en l’absence de traitement adapté.

Les hépatites virales : certaines hépatites virales peuvent être contractées en consommant une eau ou des aliments contaminés. Il s’agit de l’hépatite A et de l’hépatite E. ce sont des maladies potentiellement sévère qui commence avec une forte fièvre, une faiblesse du corps, une perte d’appétit, une nausée et un malaise abdominal.

Typhoïde : La fièvre typhoïde ou typhus abdominal est une maladie infectieuse causée par une bactérie de la famille Entérobactérie, du genre des salmonelles, et dont les espèces responsables sont *Salmonella enterica*.

Botulisme : est une maladie paralytique rare mais grave, le plus souvent d’origine alimentaire touchant les humains et les autres animaux. Elle est due à une neurotoxine bactérienne la toxine botulique, produite par plusieurs bactéries anaérobies du genre *Clostridium*, la plus connue étant *Clostridium botulinum*.

II. Le prétraitement et traitement de l’eau brute

1. Le prétraitement de l’eau d’Oued Sebou

C’est un traitement préliminaire qui permet d’alléger les traitements ultérieurs, il permet d’extraire de l’eau brute une grande quantité de matières en suspension, et d’autres éléments qui gênent l’efficacité du traitement.

▪ Station de prétraitement

La station de prétraitement est située près de l'Oued Sebou à 2,5 km de la station de traitement et elle est mise en service selon le taux des matières en suspension « M.E.S »

- Si M.E.S est inférieure à 2 g/l, l'eau brute est pompée directement vers la station de traitement.
- Si M.E.S est comprise entre 2 g/l et 50 g/l, l'eau passe d'abord par un prétraitement avant d'être pompée vers la station de traitement.
- Si M.E.S est supérieure à 50 g/l on fait arrêter les 2 stations de traitement.

▪ Etapes de prétraitement

Le prétraitement comporte un certain nombre d'opérations à caractère physique ou mécanique. Son but est d'extraire et d'éliminer de l'eau les éléments solides en suspension ou en flottation jusqu'à une valeur inférieure à 2g/l, qui pourraient constituer une gêne pour les traitements ultérieurs. Il s'agit des :

a. Dégrillage

C'est une étape préliminaire qui s'effectue à l'entrée de la prise d'eau brute par 3 grilles métalliques à commande automatique, permettant d'éliminer les gros déchets : bois, plastiques, papiers, bouteilles, branches d'arbres, feuilles...



Figure 2 : opération de dégrillage

b. 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.



Figure 3 : les Vis d'Archimède.

c. Dessablage

Il permet l'élimination des particules de taille moyenne (sable, gravier) en stockant l'eau dans 2 bassins rectangulaires appelés dessableurs, afin de permettre sa décantation. C'est un premier traitement physique de l'eau brute.

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



Figure 4: opération de dessablage

d. Débouage

C'est une prédécantation qui permet d'éliminer la majorité des matières en suspension de l'eau brute par leur évacuation sous forme de boues concentrées.

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.



Figure 4: opération de débouillage

e. Préchloration

Dernièrement la préchloration s'applique à l'étape du prétraitement, pour permettre au chlore d'agir à temps avant d'arriver à la station de traitement. La préchloration permet aussi :

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

Le produit généralement utilisé est le chlore.

En effet, l'oxydation de ces matières organiques, facilite une bonne floculation et décantation car leur décomposition permet la formation de gros floes qui descendant sous l'effet de leur poids au fond de décanteur.

2. Le traitement de l'eau d'Oued Sebou

Cette étape a pour but d'abaisser la turbidité et d'éliminer la pollution chimique et microbiologique par une série de transformations, afin d'obtenir une eau potable destinée à l'alimentation humaine.

Afin de diminuer le débit d'eau brute arrivant à la station, l'eau pénètre dans un grand compartiment fermé, qui a pour rôle d'obstacle puisqu'il crée des pertes de charge importantes diminuant le débit d'eau.

A la sortie de ce compartiment se fait l'injection du sulfate d'alumine.

Au niveau du répartiteur se fait l'injection du polymère.



Figure 7 : Répartiteur

Le traitement complet de l'eau brute comprend généralement les étapes suivantes :

a. Coagulation-floculation

La turbidité et la couleur d'une eau sont principalement causés par des particules très fines dites particules **colloïdales**. Ces particules qui peuvent rester en suspension dans l'eau pendant de longues périodes, n'ont pas tendance à s'accrocher les unes aux autres, et peuvent même traverser un filtre très fin. Afin de les éliminer on a recours aux procédés de coagulation et de floculation.

➤ Coagulation :

C'est un traitement qui consiste à neutraliser les charges électrostatiques en surface des particules colloïdale afin de favoriser leur rencontre par addition d'un coagulant.

En effet, ces matières en suspension portent des charges généralement négatives induisant des forces de répulsion entre les particules.

La coagulation produit donc des floccs, décantant beaucoup plus rapidement que les particules individuelles.

Les coagulants les plus utilisés sont :

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

➤ **Floculation :**

Une fois les floccs sont formés, on injecte un flocculant ou adjuvant de floculation qui aura pour effet d'agglomérer tous ces floccs formés et de rendre plus facile leur élimination, par les procédés de décantation et filtration.

Flocculant utilisé :

- Les polymères (poly-électrolyte).

b. Décantation

La décantation est une phase très importante de traitement de l'eau pour récupérer tous ou une grande partie des floccs. Il existe de nombreux types de décanteurs : ceux utilisés à la station sont au nombre de six, chacun possède un débit à traiter de 900 m³/h. La décantation permet aux floccs de s'accumuler pour former de la boue qui devra être régulièrement extraite. Plus de 95% des matières en suspension sont éliminées lors de cette étape. L'eau sera ensuite acheminée vers les filtres qui enlèveront les plus petites particules qui n'auront pas sédimenté ou décanté.



Figure 8: Décanteur

c. Filtration

La filtration consiste à faire passer l'eau à travers des matériaux poreux, afin d'éliminer les matières en suspension restants. Le but de la filtration est d'opérer à la séparation la plus complète possible entre l'eau et les fines particules n'ayant pu être récupérées par la décantation, de manière à obtenir une turbidité de l'eau inférieure à 0,5 NTU (Unité de turbidité néphélométrique).



Figure 9 : filtres à sable

d. Désinfection

A la fin du traitement, l'eau filtrée est stockée dans des réservoirs, il va être stérilisé par une chloration finale qui constitue une garantie supplémentaire pour sa potabilité, le chlore résiduel libre doit être maintenu dans l'ordre de 1mg/l à la sortie de réservoir. Le chlore en tant que désinfectant a les principaux avantages suivants :

- ✓ Une bonne efficacité pour tuer ou inactiver les bactéries.
- ✓ Une grande facilité d'utilisation.
- ✓ Un coût raisonnable.
- ✓ Amélioration du gout et d'odeur.

Désormais, l'eau est potable et prête à être acheminée vers le réservoir de BAB El Hamra de la RADEEF.

e. Réservoirs de stockage

Les eaux filtrées sont acheminées à travers des conduites vers les citernes où on collecte les eaux après une chloration finale ou stérilisation.

La station de traitement dispose de trois réservoirs pour l'instant, dont deux ont un volume de 7500 m³. La troisième a un volume de 30000 m³, c'est-à-dire que la capacité de stockage est de 45000 m³. La citerne de service dans la station a un volume de 650 m³ toujours pleine et dérive d'une des deux citernes de 7500 m³.

III. Contrôle bactériologique de l'eau

1. Les micro-organismes recherchés

L'appareil digestif de l'homme et des animaux constitue un réservoir de germes potentiellement pathogènes qui peuvent se trouver dans les eaux. Les agents pathogènes d'origine fécale sont de trois types : Bactéries (*Salmonella*, *E. coli*, *Listeria*...), Virus (Rotavirus, ...etc.), et protozoaires (*Toxoplasma gondi*...etc.).(Normes marocaines relatives aux eaux d'alimentation humaine, 1990).

Etant donné qu'il est impossible de rechercher tous ces pathogènes dans une eau potable, on se contente de rechercher ce qu'il est convenu d'appeler « germes indicateurs de pollution fécale ».

Les micro-organismes recherchés dans une eau destinée à la consommation humaine sont :

- ✓ Les coliformes totaux ;
- ✓ Les coliformes fécaux (*E. coli*) ;
- ✓ Les *Clostridium sulfito-réductrices*;
- ✓ Les Entérocoques intestinaux ;
- ✓ Micro-organismes revivifiables ;

a. Les coliformes totaux

Microorganismes **aérobies** et **anaérobies facultatifs**, en forme de **bâtonnets**, gram négatif, ne formant pas de spores, présentant une réaction négative à l'oxydase, ils sont capables de croître en aérobie à 37°C sur un milieu de culture sélectif.

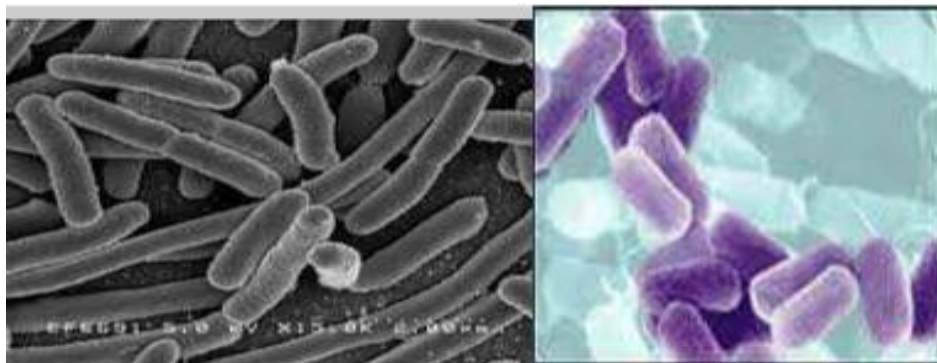


Figure 10 : les coliformes totaux

b. Les Coliformes fécaux

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

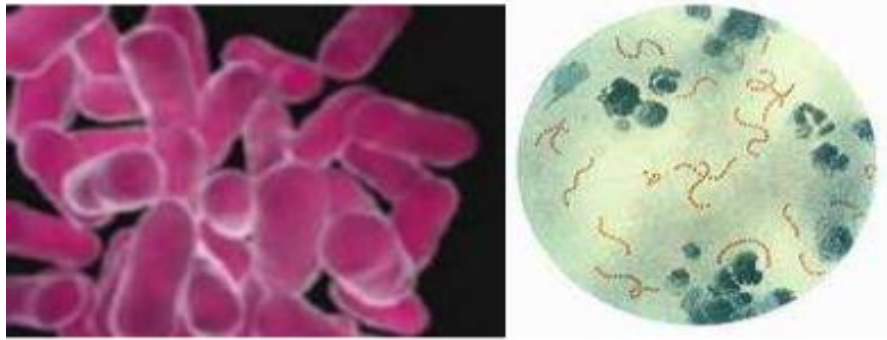


Figure 11 : les coliformes fécaux

c. Les Clostridium sulfito –réducteurs

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

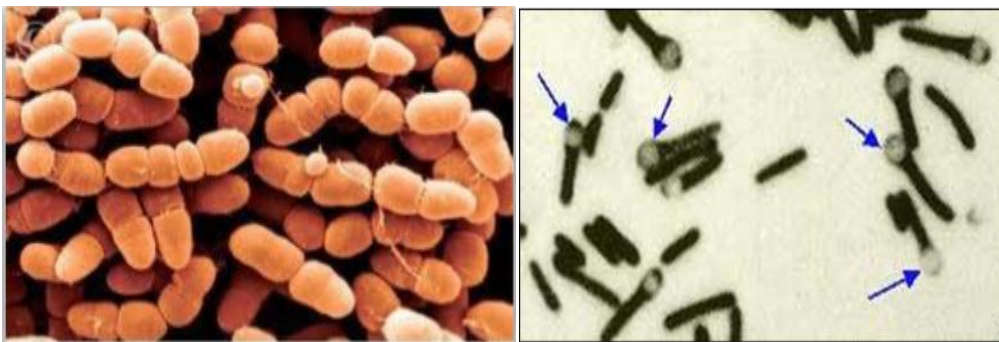


Figure12 : les Clostridium sulfito-réducteurs

d. Les Entérocoques intestinaux

Ce sont des bactéries de forme **sphérique** ou **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**.

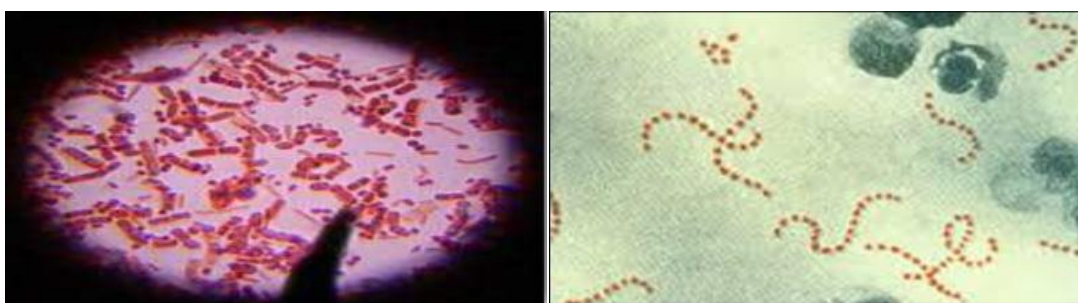


Figure13 : les streptocoques fécaux

e. Les micro-organismes revivifiables

La recherche des micro-organismes aérobies anaérobies facultatifs 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. Ces bactéries nécessitent essentiellement de la matière organique comme source de carbone et une température optimale située entre **20** et **45** °C.

Partie 2 : Matériel & Méthodes

I. Analyses bactériologiques

Les méthodes utilisées dans les analyses bactériologiques d'eau sont celles décrites par les Normes marocaines relatives aux eaux d'alimentation humaine (2001) :

- ❖ Membrane filtrante (MF) pour les eaux faiblement polluées (sortie de la station)
- ❖ Incorporation en gélose pour les eaux faiblement polluées (sortie de la station)
- ❖ Nombre le Plus Probable (NPP) pour les eaux fortement polluées (entrée de la station)

1. Analyse des eaux traitées

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.

❖ Méthode de la filtration sur membrane :

Elle consiste à recueillir, identifier et dénombrer à la surface d'une membrane filtrante stérile, les bactéries recherchées dans un échantillon d'eau.

❖ Méthode d'incorporation en gélose :

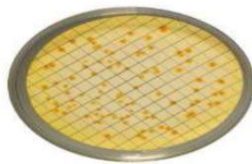
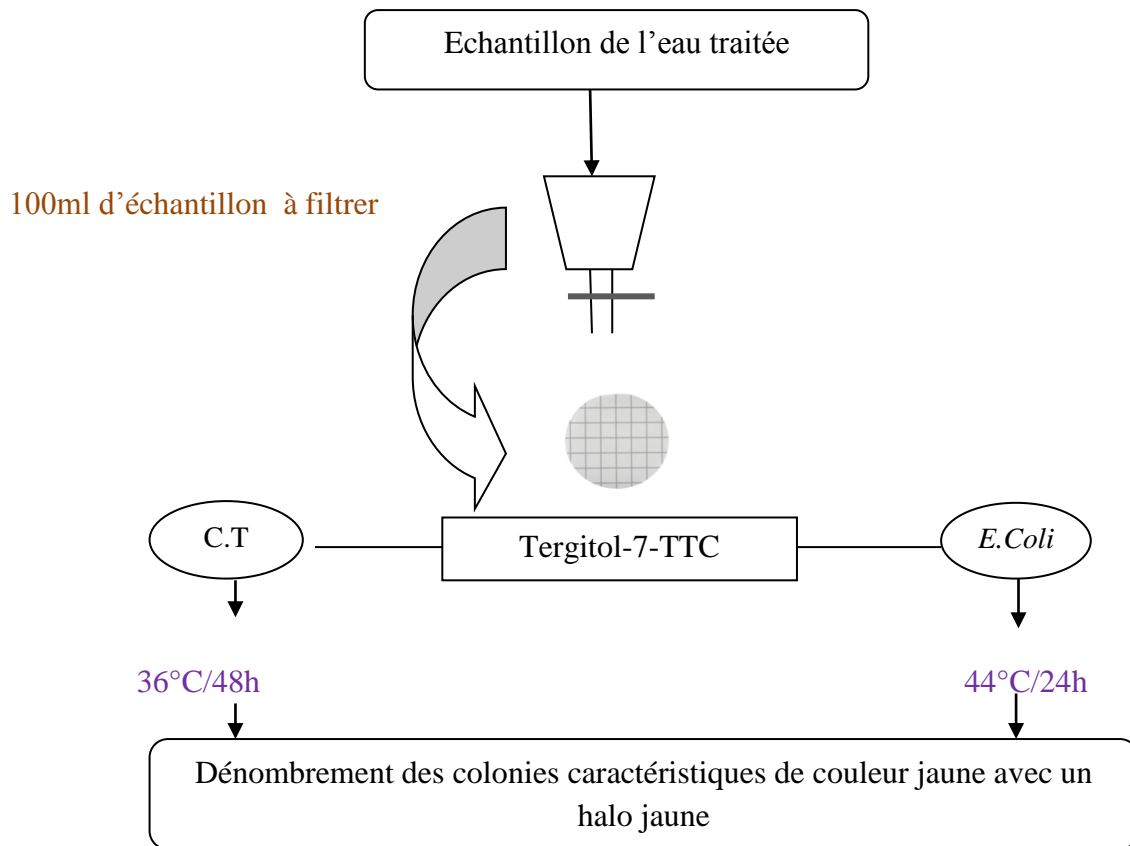
Elle consiste à dénombrer les microorganismes revivifiables par incorporation d'1 ml d'échantillon d'eau, dans de la gélose en boîtes de pétri.

Echantillonnage :

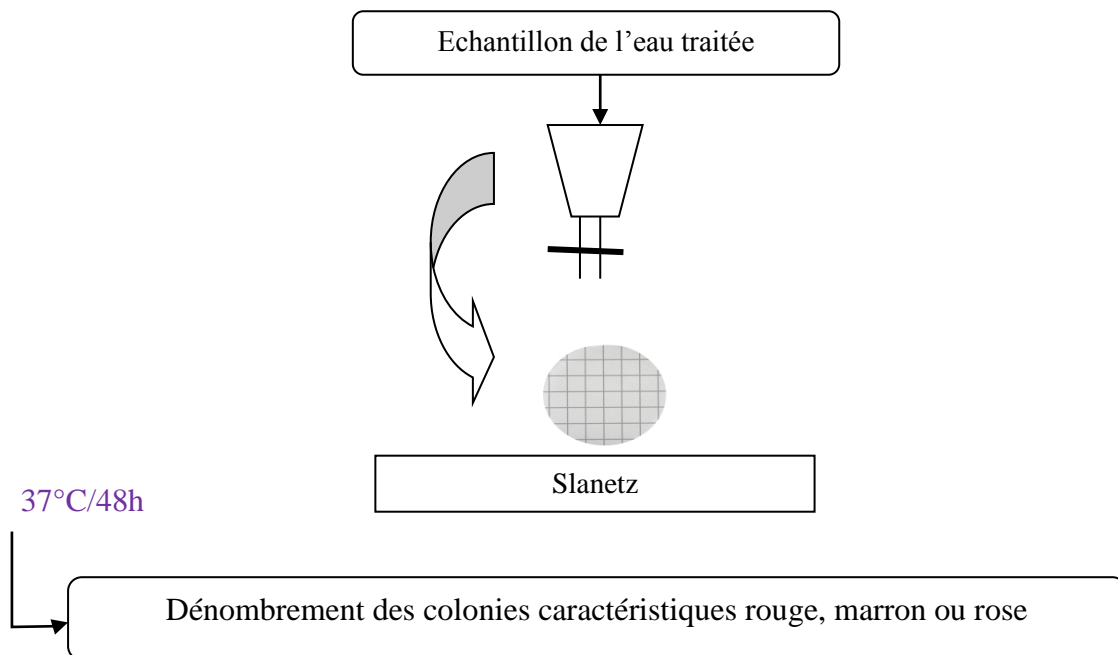
Le robinet est désinfecté et flambé, l'eau est laisser écouler un certain temps (5 min) avant le prélèvement, puis le flacon de verre est remplie en laissant un espace d'air entre la surface de l'eau et le bouchon ce qui facilite l'homogénéisation de l'échantillon au moment de l'analyse. En fin, on bouche soigneusement et hermétiquement le flacon après le prélèvement

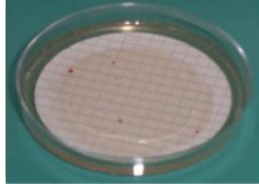
a. Recherche des coliformes totaux et *Escherichia coli*

La technique normalisée est la filtration sur membrane.

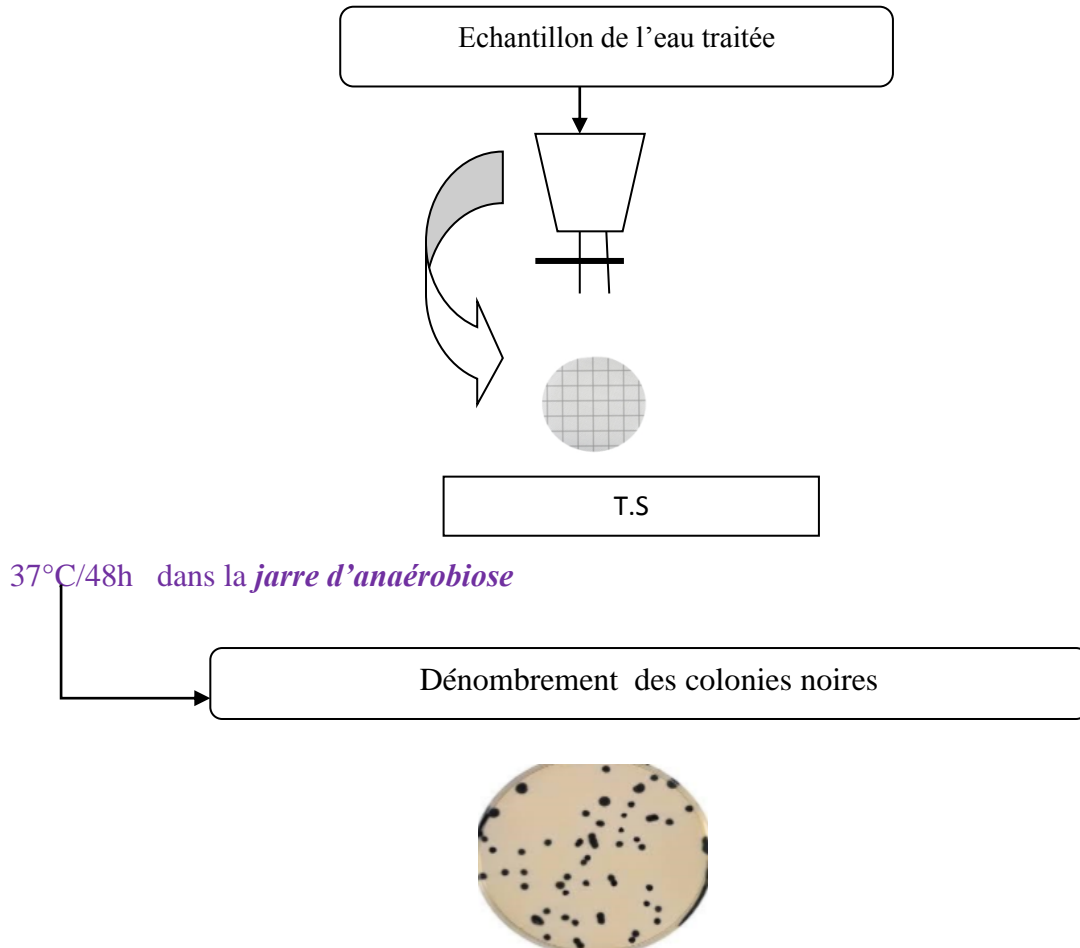


b. Recherche des entérocoques intestinaux

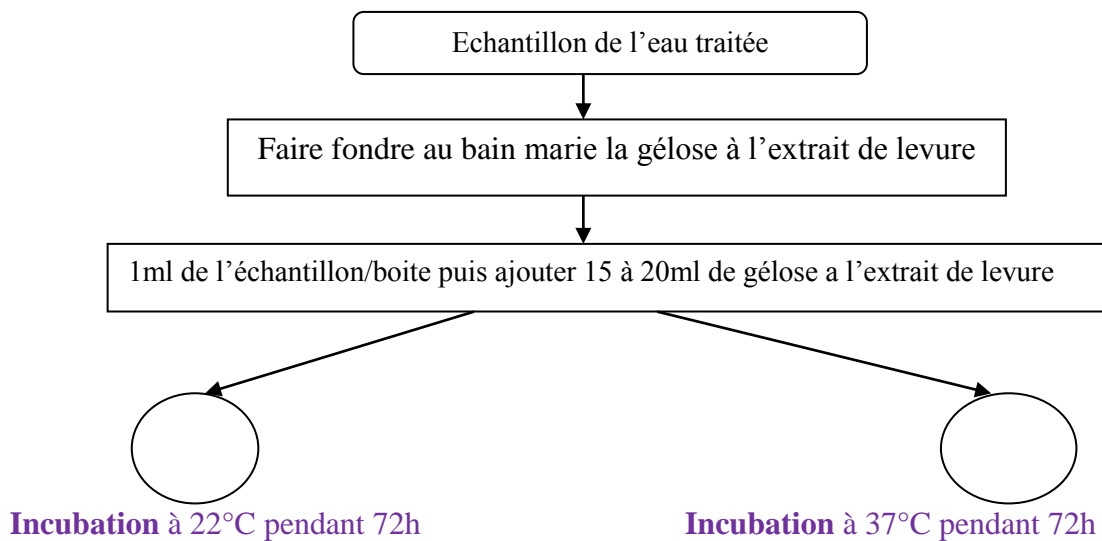




c. Recherche des *Clostridium* sulfito- réducteurs :



d. Recherche des micro-organismes revivifiâbles :



- 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.

➔ 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. Les résultats sont exprimés en unité formant colonie UFC/ml.

2. Analyse des eaux brutes

❖ Dénombrement dans un milieu liquide

Le dénombrement des bactéries sur milieux liquides est basé sur la technique du nombre le plus probable (NPP). Il s'agit d'une technique de dénombrement indirecte par calcul statistique après répartition de l'inoculum dans un milieu de culture liquide.

Echantillonnage

Les échantillons d'eau ont été prélevés dans des flacons en verre stériles et transportés en glacière réfrigérée (4°C) jusqu'au laboratoire, L'analyse est effectuée dans les 12 h qui suivent le prélèvement.

a. Recherche des coliformes

❖ Test présomptif

Dans 9 tubes contenant différents concentrations de milieu de culture : **Lauryl** (3 tubes à double concentration et 6 tubes à simple concentration), 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. Puis on incube ces tubes à **37±0,5°C** pendant **48 h**.

Après incubation, les tubes positifs sont caractérisés par un **trouble** et un **dégagement du gaz** qui est décelé grâce à la cloche de Durham dans le milieu.

Figure 14 : Tube du milieu de culture Lauryl

Négatif (à gauche) et tube positif (à droite)



❖ **Test confirmatif**

- Coliforme totaux :

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** puis incubation à **37±0,5°C** pendant **48h**.

- Coliformes fécaux (*Escherichia. Coli*) :

On ensemence à l'aide d'une anse bouclée les tubes positifs le milieu **EC medium** et on incube **24 heures** à **44 °C**. On compte les tubes où il y a production de gaz et turbidité.

On compte ensuite le nombre de séries de tubes positifs dont la lecture se fait à l'aide d'une table statistique appelée: table de Mac Crady.



Figure 15 : tube positif du bouillon vert brillant



Figure 16 : tube positif Ec medium

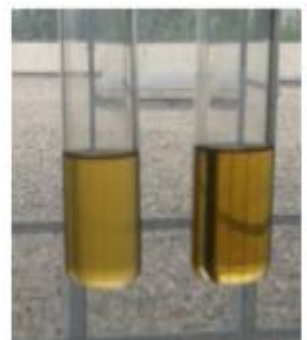
b. Recherche des entérocoques intestinaux

❖ **Test présomptif**

On suit les mêmes étapes citées pour la détection des coliformes sauf pour le milieu de culture, pour les entérocoques on utilise le milieu **Roth (Bouillon glucosé à l'azoture)** de concentration double et simple. Après incubation à **37±1°C** pendant **48h**, les tubes positifs sont caractérisés par un trouble et /ou un dépôt.

Figure 17 : Tube Roth positif (à gauche)

et tube négatif (à droite)



❖ Test confirmatif

On procède à la confirmation de chaque culture provenant des tubes ayant donné une réaction positive, on repique à l'aide d'une anse bouclée les tubes positives sur des boîtes de la gélose BEA (gélose Bile Esculine Azide Agar). Après incubation à $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pendant 48h, les boîtes ayant une coloration noire sont considérées positives.

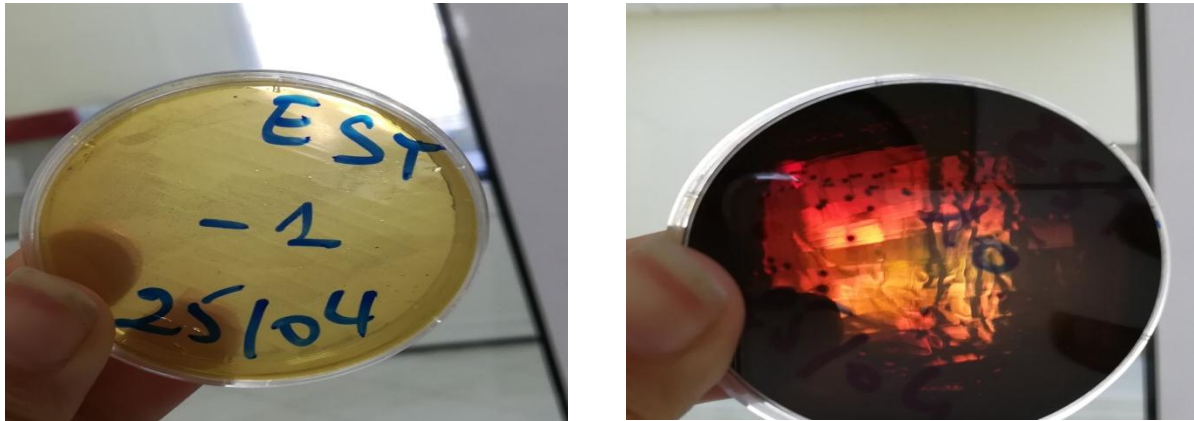
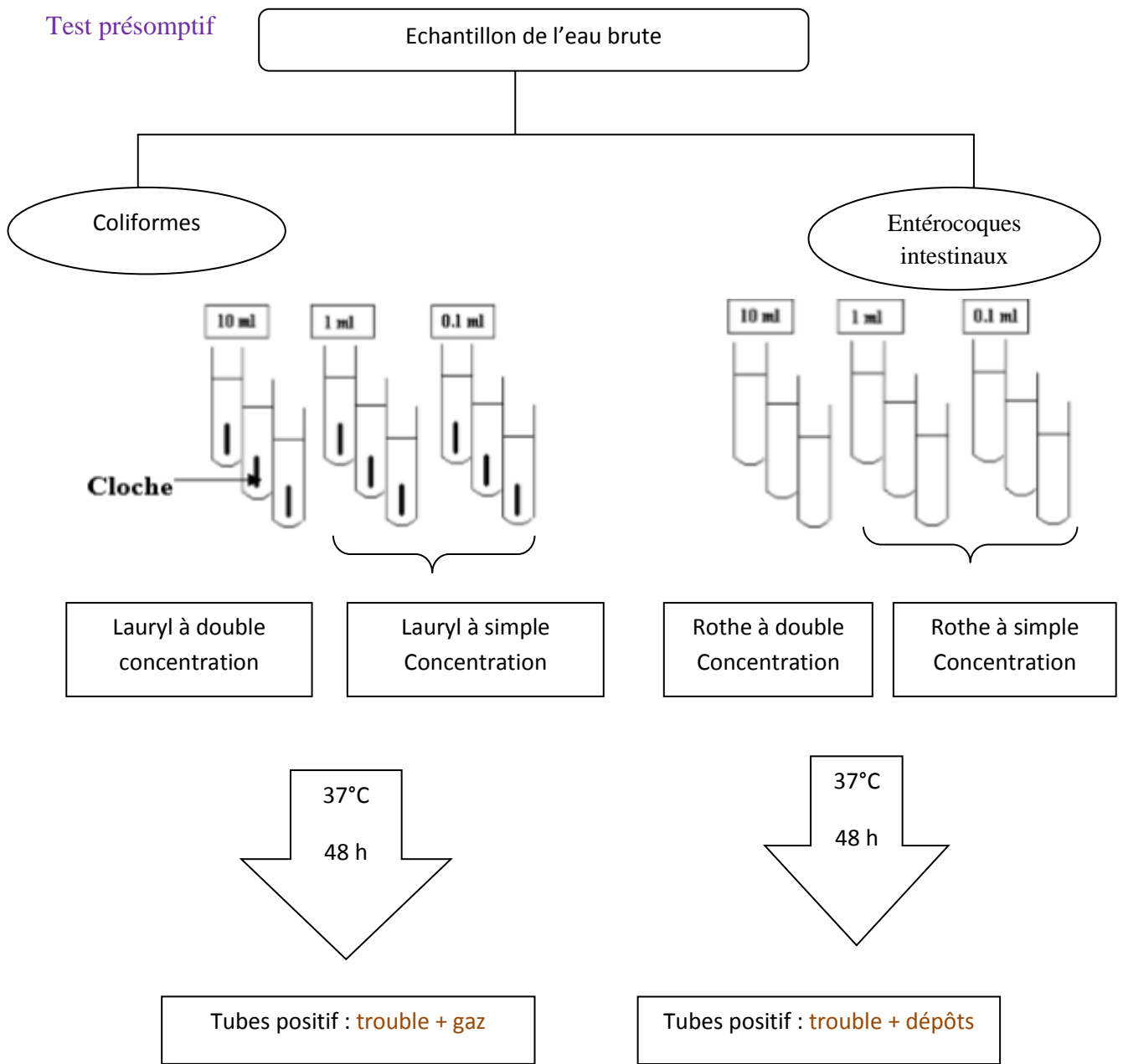
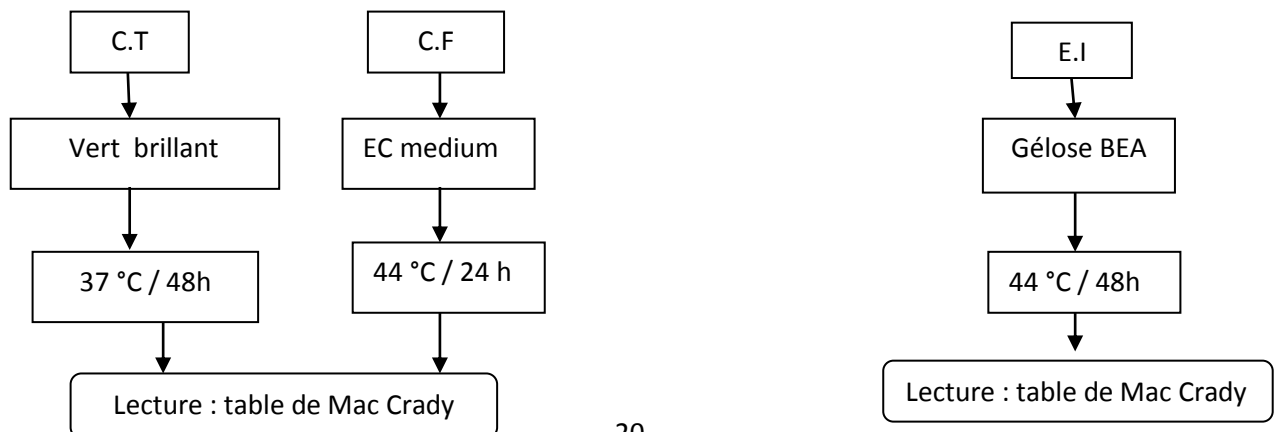


Figure 18 : Gélose BEA négatif (à gauche) et gélose BEA positif (à droite)

Test présomptif



Test confirmatif



II. Contrôle de la qualité analytique des paramètres bactériologiques

Pour garantir la cohérence des résultats et leurs fiabilités, plusieurs éléments de contrôle de la qualité doivent être réalisés en bactériologie, avant et en cours des analyses.

1. Contrôle de la salle de bactériologie

a. Suivi de la température de l'air ambiant

Un suivi régulier de la température ambiante de la salle de travail est indispensable, afin d'évaluer son évolution et atténuer son impact potentielle sur la fiabilité des résultats.

Pour cela, la température ambiante de toutes les salles de travail est contrôlée quotidiennement. Sa mesure se fait à l'aide d'un thermomètre.

b. Qualité de l'air ambiant

L'évaluation de cette qualité est réalisée par exposition des boîtes de pétri sans couvercle et contenant le milieu PCA (gélose Plate Count Agar) pendant 17 minutes dans différents endroits (réfrigérateur, incubateurs, surfaces de travail), puis on procède au dénombrement des colonies après incubation à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant $44\pm 4\text{h}$.

c. Qualité de la surface de travail

❖ Méthode d'écouvillonnage

Consiste à frotter les surfaces sur une dimension donnée avec un écouvillon humide et d'inoculer celui-ci sur un milieu propice au développement des microorganismes. Cette méthode est utilisée pour évaluer la contamination des incubateurs et des réfrigérateurs qui sont des endroits rugueux, irréguliers et difficilement accessibles.

❖ Mode opératoire

Sur une surface de 25 cm^2 on effectue un prélèvement par écouvillonnage puis on remet l'écouvillon dans la solution de rinçage. On ferme par la suite le tube et on le conserve à 4°C jusqu'au moment de l'analyse.

Pour l'analyse, on agite vigoureusement le tube contenant l'écouvillon et on prélève aseptiquement 1ml de la solution de rinçage afin de faire le dénombrement par incorporation à la gélose MTC, puis incubation à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant $44\pm 4\text{h}$.

2. contrôle de qualité du matériel et consommables

a. Eau distillée

Il est utilisé pour la préparation des milieux de culture, des réactifs servant aux analyses microbiologiques, elle doit être exempte de substances susceptibles d'inhiber ou d'influencer la croissance des micro-organismes dans les conditions de l'essai. Les contrôles réalisés sont:

- Le dénombrement des bactéries hétérotrophes aérobies anaérobies « BHAA » par la méthode d'incorporation en gélose PCA (plate count agar).
- L'analyse des paramètres chimiques (pH, conductivité, chlore résiduel...)

b. Membranes filtrante

Chaque nouveau lot de membrane filtrante est contrôlé avant usage. Ce contrôle porte sur la vérification de certaines caractéristiques :

- ✓ La date de péremption ;
- ✓ Bonne diffusion du milieu de culture (filtre doit être humecté après 15s de contact avec le milieu de culture) ;
- ✓ La non diffusion de l'encre du quadrillé ;

Un contrôle de stérilité et aussi effectuer on incubant la membrane en gélose PCA pendant 48H.

c. Contrôle de stérilité des boîtes de pétri

Les boîtes de pétri sont stériles au moment de leur utilisation, l'évaluation de la stérilité se fait dans le milieu de culture PCA.

✓ Mode opératoire

Dans chaque boîte de pétri, on introduit de la gélose PCA, puis on incube ces boîtes de pétri pendant 3 jours à 37°C et 22°C.

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

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

3. Contrôle de qualité des milieux de culture

A chaque réception d'un nouveau lot de milieu de culture, il est nécessaire de vérifier :

- ✓ L'état physique du contenant (bien fermé, absence de déformation et présence d'anneau de sécurité) ;
- ✓ Date de péremption.

A la préparation des milieux on contrôle :

- ✓ la couleur
- ✓ le pH
- ✓ la stérilité.

Partie III : Résultats et discussion

I. Résultat des analyses bactériologiques de l'eau

1. Eau brute

Les résultats des analyses bactériologiques de l'eau brute sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 1 : Résultat de la recherche des coliformes totaux, fécaux et les Entérocoques intestinaux dans l'eau brute.

Test présomptif			Test confirmatif			Résultats			
Dilution	10	1	-1	Dilution	10	1	-1	NPP	Le nombre de germes (N)
Bactéries				bactéries					
Coliformes				Coliformes totaux	3	3	2	1100	1100
	3	3	3	Coliforme fécaux	3	2	0	93	93
Entérocoques intestinaux	3	3	3	Entérocoques intestinaux	3	1	1	75	75

Les résultats d'analyse bactériologique montrent que l'eau analysée est chargée en :

- Coliformes totaux avec N : 1100 coliformes totaux /100 ml.
- Coliformes fécaux avec N : 93 coliformes fécaux /100 ml.
- Entérocoques intestinaux avec N : 75 streptocoques fécaux /100 ml.

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. Ainsi, l'eau brute nécessite un traitement bactériologique rigoureux pour la rendre potable.

2. Eau traitée

Les résultats obtenus au niveau de l'eau traitée sont présentés dans le tableau 2:

Tableau 2 : Résultats de la recherche des CT, CF, EI et micro-organismes revivifiables dans l'eau traitée.

Germes	Le nombre de germes	Valeur maximal admissible
Bactérie Coliformes	0 UFC/ 100 ml	0 UFC/ 100 ml
E coli	0 UFC/ 100 ml	0 UFC/ 100 ml
Clostridium sulfito-réducteurs	0 UFC/ 100 ml	0 UFC/ 100 ml
Entérocoques intestinaux	0 UFC/ 100 ml	0 UFC/ 100 ml
Micro-organismes revivifiables à 22 °C et 37°C	0 UFC/ 1 ml	100 UFC/ml à 22°C 20 UFC /ml à 37°C

Les résultats d'analyse bactériologique montrent que l'eau analysée est exempte de :

- Coliformes totaux et fécaux (E .coli) dans 100 ml,
- Anaérobies sporulés sulfito-réducteurs dans 100 ml,
- Entérocoques intestinaux dans 100 ml,
- Micro-organismes revivifiables à 22°C et 33°C dans 1ml.

Ces résultats montrent que l'eau traitée est conforme aux limites fixées par les normes marocaines de potabilité de l'eau « **NM 03.7.001** », vis-à-vis des coliformes totaux et fécaux, entérocoques intestinaux, anaérobies sulfito-réducteurs et micro-organismes revivifiables.

3. Discussion

Les résultats obtenus montrent un abattement de la charge bactérienne de l'eau brute. En effet, le nombre des Coliformes, *Escherichia. Coli* et Entérocoques intestinaux passe respectivement 1100, 93, et 75 colonies/100 ml dans l'eau brute à des valeurs nulles dans l'eau traitée.

La présence de ces germes indique la probabilité de la présence de bactéries pathogènes, ce qui peut provoquer des maladies graves pour la santé du consommateur. Tandis que l'absence de ces germes dans l'eau traitée montre une efficacité du mode de traitement de l'eau. Cela signifie que le traitement est efficace et surtout l'étape de pré chloration et de désinfection en utilisant du chlore. Qui ont pour but principal l'élimination des germes pathogènes dans l'eau destinée à l'alimentation humaine.

Ces résultats montrent que l'eau traitée est **conforme** à la norme marocaine. Les valeurs maximales admissibles des paramètres bactériologiques fixés par la norme marocaine « **NM 03.7.001** » relative à la qualité des eaux d'alimentation humaine.

On peut donc dire que, les analyses microbiologiques permettent un contrôle préventif du danger. D'autres analyses complémentaires, physiques et chimiques sont souhaitables pour s'assurer de la potabilité de l'eau destinée à la consommation humaine.

II. Résultats du contrôle de la qualité des paramètres bactériologiques

1. Résultat du Contrôle de la salle de bactériologie

a. Contrôle de la température des salles, des étuves et des réfrigérateurs à l'aide d'un thermomètre (contrôle quotidien)

Le tableau ci-dessous montre que la température de la salle bactériologie ainsi que celles prélevées au niveau des étuves et des réfrigérateurs varient dans l'intervalle de températures fixées par la norme marocaine, ce qui assure des conditions thermiques convenables pour les conditions d'analyse, d'incubation et de conservation.

Tableau 3: résultats du contrôle de la température de salle bactériologie des étuves et des réfrigérateurs

Mois	Jours	Salle de bactériologie (16-27°C)	Etuve 22°C (22±2°C)	Etuve 37°C (36 ±2°C)	Etuve 44°C (44±0,5°C)	Réfrigérateur (4±2°C)
Avril	23	25	23	36	44	3.5
Avril	24	23	23.5	36	44	4
Avril	25	25	23	36	44	4.5
Avril	26	24	22	37	44.5	4.5
Avril	27	23	22	36	44	5
Avril	28	24	22.5	36	44	4.5
Avril	29	25	23	37	44	5

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

Les résultats obtenus concernant le contrôle de l'air ambiant, sont résumés dans le tableau 4 :

Tableau 4: résultat du contrôle de l'air ambiant

Lieux	Point de contrôle	Date de contrôle	Heure de contrôle	Résultats bactériologiques en UFC/1000cm ²	Conformité
Salle n°1	Paillasse 1	01/05/2018	11H15	5	Conforme
Salle n°2	Paillasse 1	01/05/2018	11H15	8	Conforme
Réfrigérateur		01/05/2018	11H15	2	Conforme
Etuve 37°C		01/05/2018	11H15	2	Conforme
Etuve 22°C		01/05/2018	11H15	1	Conforme
Etuve 44°C		01/05/2018	11H15	1	Conforme

Les résultats de contrôle de l'air ambiant sont conformes aux normes :

<15UFC/1000cm² ⇒ conforme

>15UFC/1000cm² ⇒ non conforme

c. Contrôle de surface de travail (1fois/mois/place)

Pour le contrôle de surface de travail, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 5: résultat du contrôle de surface de travail

Lieux	Point de contrôle	Date de contrôle	Heure de contrôle	Résultats bactériologiques en UFC/25cm ²	Méthodes Utilisés	Conformité
Salle n°1	Paillasse 1	01/05/2018	11H35	6	Ecouvillonnage	Conforme
Salle n°2	Paillasse 1	01/05/2018	11H37	3	Ecouvillonnage	Conforme
Réfrigérateur		01/05/2018	11H39	2	Ecouvillonnage	Conforme
Etuve 37°C		01/05/2018	11H46	2	Ecouvillonnage	Conforme
Etuve 44°C		01/05/2018	11H51	1	Ecouvillonnage	Conforme

Les résultats du contrôle de surface de travail sont conformes aux normes :

$<25\text{UFC}/25\text{cm}^2 \Rightarrow$ conforme

$>25\text{UFC}/25\text{cm}^2 \Rightarrow$ non conforme

2. Résultat du contrôle de la qualité du matériel et consommables

a. Contrôle de l'eau distillée

Tableau 6: résultat du contrôle d'eau distillée

Paramètres	Résultats	Résultats attendus	Conformité
bactéries hétérotrophes aérobies anaérobies « BHAA »	3UFC/ml	inférieur à 1000 UFC/ ml	Conforme
pH	6.5	Ente 5,5 et 7,5	Conforme
Conductivité	2,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C	inférieur ou égale à 4 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C	Conforme
Chlore résiduel mois	<0.1 mg/l	inférieur à 0,1 mg/L	Conforme

Les résultats du contrôle d'eau distillée sont conformes aux normes.

b. Contrôle de la membrane filtrante

Après l'incubation le contrôle de stérilité de la membrane a donné des résultats négatifs ; c'est-à-dire que la membrane est stérile, ainsi que les autres caractéristiques contrôlées (diffusion, date de péremption...) sont conformes et ne présente aucun défaut.

c. Contrôle de stérilité des boîtes de pétri

Après l'incubation le contrôle de stérilité des boîtes de pétri a donné des résultats négatifs ; aucune apparition des colonies, c'est-à-dire que les boîtes de pétri sont stériles.

Conclusion

L'eau subit plusieurs traitements avant d'être distribuée. En effet la charge bactériologique et la composition de l'eau brute constituent les facteurs déterminant le type de traitement nécessaire.

Cette eau traitée et destinée à la consommation, est soumise à des contrôles très sévères avant toute utilisation dans le but de lutter contre des risques sanitaires.

Au cours de ce travail, nous avons comparé les résultats des analyses bactériologiques de l'eau provenant de l'oued Sebou, destinée à la consommation humaine avant et après traitement. Ces analyses constituent un contrôle préventif du danger et aussi un outil pour montrer l'efficacité des traitements effectués avant distribution.

Les résultats des analyses bactériologiques sur lesquels porte le contenu de notre travail, ont montré un abattement de la charge bactérienne de l'eau brute, ceci indique que l'eau traitée est conforme à la norme marocaine « **NM 03.7.001** », relative à la qualité des eaux d'alimentation humaine.

Ainsi que le contrôle de la qualité de l'environnement de travail est conforme aux normes de qualité.

Le stage au sein de l'[Office National de l'Eau et de l'Electricité - Branche Eau](#) m'était très enrichissant et d'un grand bénéfice dans la mesure où il m'a permis d'acquérir une expérience pratique surtout dans le domaine des traitements des eaux de surface.

Références bibliographiques

- document interne de l'ONEE/BO (2013): La microbiologie des eaux : Norme marocaine relative à la qualité des eaux d'alimentation humaine (03.7.001)
- Documents et archives de l'ONEP.

- [http://www.Lesmaladies/transmission/hydrigue/et alimentaire/recommandations aux.
CMETE.html](http://www.Lesmaladies/transmission/hydrigue/et_alimentaire/recommandations_aux_CMETE.html)
- <http://www.eaudumaroc.com/2016/12/la-pollution-les-causes-et-consequences.html>
- <https://www.lenntech.fr/>
- www.onep.org.ma
- [http://www.pierre-eau-vive.com/l-eau--source-de-vie--eau-pure-eau-dynamisee-eau-
vivante.ws](http://www.pierre-eau-vive.com/l-eau--source-de-vie--eau-pure-eau-dynamisee-eau-vivante.ws)

Annexes

❖ Les milieux de culture :

Bouillon Lauryl Sulfate de tryptose

Tryptone.....	20g/l
Lactose.....	5g/l
Phosphate dipotassique	2.75g/l
Phosphate monopotassique	2.75g/l
Chlorure de sodium.....	5g/l
Lauryl sulfate de sodium.....	0.1g/l

Milieu de Bouillon glucosé à l'azoture (Roth)

Tryptone.....	20g/l
Glucose.....	5g/l
Chlorure de sodium.....	5g/l
Phosphate dipotassique.....	2.75g/l
Phosphate monopotassique.....	2.75g/l
Azide de sodium.....	0,2g/l

Bouillon lactosé bilié au vert brillant

Tryptone.....	10g/l
Bile de bœuf bactériologique.....	20g/l
Lactose.....	10g/l
Vert brillant.....	0,0133g/l

Bouillon EC medium

Tryptone.....	20g/l
lactose.....	5g/l
Sels biliaires n°3.....	1,5g/l
Phosphate dipotassique.....	4g/l
Phosphate monopotassique.....	1,5g/l
Chlorure de sodium.....	5g/l

Gélose Bile Esculine Azide Agar (BEA)

Tryptone.....	17 g/l
Peptone pepsique de viande.....	3 g/l
Extrait autolytique de levure.....	5 g/l
Bile de bœuf bactériologique	10 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Esculine.....	1 g/l
Citrate ferrique ammoniacal.....	0,5 g/l
Azide de sodium	0,15 g/l
Agar agar bacteriologique.....	13 g/l

Gélose lactosé au Tergitol-7 et au TTC

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

Gélose Slanetz

Tryptone.....	20g/l
Glucose.....	2g/l
Extrait autolytique de levure.....	5g/l
Phosphate di potassique.....	4g/l
Azide de sodium.....	0,4g/l
Agar agar bactériologique.....	10g/l

Gélose Tryptone-sulfite-cyclosérine (TSC)

Tryptone.....	15g/l
---------------	-------

Peptone papainique de soja.....	5g/l
Extrait autolytique de levure.....	5g/l
Méta bisulfite de sodium.....	1g/l
Citrate ferrique ammoniacal.....	1g/l
Agar agar bactériologique.....	15g/l

Gélose à l'extrait de levure (gélose nutritive)

Tryptone.....	6g/l
Extrait autolytique de levure.....	3g/l
Agar agar bactériologique.....	10g/l

Gélose PCA

Tryptone.....	5g/l
Extrait de levure.....	2,5g/l
Glucose.....	1g/l
Agar agar bactériologique.....	12g/l

Solution de rinçage

Solution tampon de dihydrogène phosphate de potassium(KH ₂ PO ₄).....	2,5 ml
Solution aqueuse à 10% de thiosulfate de sodium	10 ml
Lécithine	8g/l
Polysorbate.....	20g/l

Gélose (MTC)

Digestion pancréatique de caséine.....	15g/l
Peptone de soja.....	5g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Lécithine	0,7g/l
Gélose.....	15g/l