



UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département des Sciences de l'Eau et Environnement

## MEMOIRE DE MASTER

Filière:Hydraulique

Spécialité :Sciences de l'Eau

Thème:

**Etude des paramètres microbiologiques des  
eaux du barrage Keddara (Boumerdes)**

Présentée par :

BOUHEDIR Newel

Les membres des jurys :

Mr.BENSAFIA.DJ                      Chef de déprtUniv BLIDA1                      Examineur

Mr. REMINI.B                      professeur                      Univ BLIDA1                      président

Mme. ANSER.M                      MCA                      Univ BLIDA1                      Examinatrice

Mme. BOUZOUIDJA. SMCA Univ BLIDA1 Promotrice

Promotion2014/2015

## *Remerciements*

---

Je tiens à remercier Monsieur BENSALIA Djillali, chef de département de sciences de l'eau et de l'environnement, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de diriger ce travail. Sa disponibilité, sa gentillesse et ses précieuses directives tout au long de la réalisation de ce travail.

Je voudrais adresser toute ma gratitude à ma promotrice de ce mémoire, Mme BOUZOUIDJA Souad, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches.

Je tiens à remercier mon directrice de stage Mme BENTERCHA, responsable du laboratoire de l'ADE de la wilaya de blida, de m'avoir accueillie dans son équipe et d'avoir accepté de diriger ce travail. Sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses qualités humaines m'ont profondément touchée.

Je remercie mes très chers parents, Boualem et Ratiba, qui ont toujours été là pour moi, « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fier ».

Mes plus grands remerciements vont bien évidemment à Bilel, mon mari. Ta tendresse m'a toujours portée et ta finesse intellectuelle m'a fourni un cadre de vie extrêmement stimulant. J'ai même envie de dire que tu as « co encadré » cette thèse tellement. Pour tout cela et pour ces années passionnantes, du fond du coeur : MERCI !

Je tiens bien évidemment à remercier mon fils, Mouadh. Ce petit bébé formidable a vu le jour le jour au début de ma deuxième année master. ! Mouadh, ta tendresse et ton innocence m'ont permis de travailler avec plus de courage et de persévérance. Merci mon petit bonhomme !

Je remercie mes frère Hichem et Mohamed Amine, et ma soeur Nesrin pour leur encouragement. Et qu'elle a toujours été là pour moi.

Enfin, je remercie tous mes Ami(e)s que j'aime tant, Ahlem, Sarrah, Lilia, Ganou Abedelleh, Ismail. pour leurs encouragements et pour l'ambiance agréable tout au long des années d'étude et en particulier à Ahlem pour sa présence dans les moments difficiles et grâce à qui j'ai passé d'excellents moments.



# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à:*

*Mes parents*

*A mon mari Billel et mon fils Mouadh*

*A mes frères Hichem et Mohamed et ma sœur Nesrin.*

*Spécial dédicace à ma copine Hamaidi Ahlem et ma sœur*

*Bouhedir Nesrin qui ont ma bien aidés le long de mon  
parcours universitaire*

*A mes oncles, tantes, cousins et cousines.*

*Tous les membres de ma promotion.*

*A mes amis.*

## *Introduction générale*

---

L'eau constitue un élément essentiel pour le développement de la vie : le corps d'un être humain adulte est composé de 60 % d'eau. En raison de son caractère vital, l'eau liée aux activités humaines doit être de bonne qualité sanitaire afin d'éviter la survenue de pathologies hydriques.

Les analyses microbiologiques des eaux permettent ainsi d'apprécier le risque du à des microorganismes pathogènes, susceptible d'être trouvés dans les eaux usées, et de ce fait, de provoquer des maladies, et permet aussi de contrôler l'efficacité des traitements de désinfection [B].

Les micro-organismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux (bactéries, levures, champignons filamenteux, parasites et virus) présents dans l'environnement appartiennent aux espèces opportunistes et aux espèces pathogènes pour l'homme. Leur omniprésence, issue de l'activité biologique naturelle, permet de les retrouver dans les eaux, y compris l'eau potable pour laquelle les causes d'introduction de germes dans un réseau résultent le plus souvent d'un manque de protection des ressources, conjugué à un traitement de l'eau défaillant ou inexistant, ou à une faille dans le circuit de distribution. La contamination de l'environnement varie qualitativement et quantitativement d'un type d'eau à l'autre et, au sein d'un même type, en fonction de l'environnement et de son aménagement, ainsi que de la capacité de survie des micro-organismes. Par ailleurs, l'identification de certaines sources environnementales potentiellement à l'origine d'infections nosocomiales (légionellose) rend indispensable la maîtrise de l'environnement pour protéger la population.

La mise à disposition de la population d'eaux de bonne qualité sanitaire constitue une préoccupation essentielle et permanente des autorités sanitaires (le ministère de la Santé et des Sports et les services santé-environnement des Directions départementales des affaires sanitaires et sociales), du fait des risques potentiels immédiats. La qualité microbiologique de l'eau se définit comme étant l'état de l'eau caractérisé par un niveau de présence de micro-organismes (virus, bactéries, protozoaires...) pouvant induire un risque sanitaire plus ou moins grand. Sa maîtrise repose sur des mesures de contrôle et de surveillance de paramètres microbiologiques et la mise en place d'une maintenance préventive. [M]

## *Introduction générale*

---

Notre travail consiste à faire des analyses microbiologiques de l'eau du barrage keddara. Ces analyses sont effectuées au niveau de laboratoire de l'ADE de la willaya de Blida, elles comportent la recherche des indicateurs de pollution.

Cette étude a pour but de décrire les avancées réglementaires en matière de contrôle sanitaire des paramètres microbiologiques de l'eau du barrage KEDDARA.

Le présent manuscrit est divisé en trois chapitres :

- ◆ Dans le premier chapitre : La présentation du site d'étude.
- ◆ Un aperçu sur les paramètres microbiologiques de la qualité des eaux de surface dans le deuxième chapitre.
- ◆ Les résultats d'étude des analyses microbiologiques sont détaillés dans le troisième chapitre.

## *Résumé*

### الملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير العوامل الميكروبيولوجية على نوعية مياه سد قدارة بسبب تشكيلة واسعة من السموم وتأثيرها على المياه الصالحة للشرب.

في هذه الدراسة، أجرينا تحاليل لتعقب بعض المعالم الميكروبيولوجية وهي مجموع القولونيات، بكتيريا القولون البرازية، العقديات البرازية والزائفة الزنجارية. هذا النوع من التحليل هو الأهم بالنسبة للحماية الصحية

الرقابة على نوعية المياه هي الأولى على البحث من الكائنات الحية الدقيقة، وخصوصا البكتيريا والفيروسات، والتي قد تؤثر على صحة البشر والموارد والحيوانات أو المحاصيل

### الكلمات الرئيسية:

سد قدارة، المعالم الميكروبيولوجية، نوعية المياه.

### Résumé :

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence des paramètres microbiologiques sur la qualité des eaux du barrage KEDDARA en raison de la grande variété de toxines de ces organismes synthétisent et de leurs conséquences sur l'eau potable.

Dans cette étude, nous avons réalisé pour suivi des certains paramètres microbiologique qui sont les coliforme totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux et Pseudomonas Aeruginosa. Ce type d'analyse est le plus important pour la protection de la santé. Il permet de déterminer si l'échantillon d'eau contient des bactéries qui peuvent donner des malaises ou des maladies.

Les contrôles de la qualité des eaux portent d'abord sur la recherche des microorganismes, surtout les bactéries et les virus, susceptibles d'affecter la santé de l'homme, ses ressources, ses animaux ou ses cultures.

### Mots clé

Barrage keddara, paramètres microbiologiques, qualité des eaux

## *Résumé*

---

### Abstract:

The objective of this work is to study the influence of microbiological quality Keddara dam waters because of the wide variety of toxins of these organisms synthesize and their impact on drinking water.

In this study, we carried out some monitoring for microbiological parameters are total coliforms, faecal coliforms, faecal streptococci and *Pseudomonas Aeruginosa*. This type of analysis is most important for health protection. It determines whether the water sample contains bacteria that can give discomfort or disease.

Controls on water quality are first on the search of microorganisms, especially bacteria and viruses, which may affect the health of humans, resources, animals or crops.

### Keywords

**Dam Keddara, microbiological parameters, water quality**



Conclusion générale





# *Introduction générale*

*Introduction*

# *chapitre 2*



chapitre 1

## **I. Introduction :**

Le barrage de KEDDARA a été construit pour assurer l'approvisionnement en eau potable de la ville d'Alger et les villages environnants. [1]

Le barrage de Kaddara est située sur le territoire de la wilaya de Boumerdes, à 8Km au sud de Boudouaou, et à 35 Km à l'est d'ALGER, les travaux de réalisation ont été entames en 1982 et se sont achevés en 1986, la mise en eau du barrage a été effectuée en 1986.

Le barrage de Keddara est un barrage en enrochement avec noyau central en argile, d'une hauteur de 106.00m et longueur de 468.00m, la retenue de Keddara d'une capacité de 142.391Hm<sup>3</sup> est alimentée par les apports des oueds Keddara et El Haad gravitairement par la galerie de transfère (d'une longueur de 3.2km), provenant en fin par pompage à partir du barrage réservoir de Béni Amrane (à travers une conduite et une galerie, la longueur est de 31.0km), les apports moyens annuel du barrage est de 23.30hm<sup>3</sup> ; le déversoir labyrinthe du barrage a une capacité d'épand 750m<sup>3</sup>/s et une vidange de fond d'une capacité de coulée 55m<sup>3</sup>/s.

L'aménagement est destiné à renforcer les besoin en eau potable de l'agglomération Algéroise et ce depuis Avril 1987 à ce jour.

## II. Présentation :

### 1. Barrage KEDDARA :

Barrage de Keddara, situé dans la wilaya de Boumerdas à 8 Km au sud de boudouaou et à 35 Km à l'est d'Alger, le barrage de Keddara forme la vallée de l'oued Boudouaou à 300 m à l'aval de la confluence des oueds Keddara et EL-Had, la mise en eau du barrage a été lancée en 1985.

Le barrage de Keddara a été spécialement construit pour assurer l'approvisionnement en eau potable de la ville d'Alger et ses environs. [2]

Les principales caractéristiques du barrage sont les suivants:

- Côte du niveau normale de la retenue. 145m
- Côte du niveau de plus hautes d'eaux. 147m
- Capacité de la retenue. 145.6Mm3
- Superficie du bassin versant. 93km2
- Surface du lac à la retenue normale 5.2km2
- La profondeur moyenne. 25.5m
- La profondeur maximale au niveau du barrage. 150m [1]



**Figure I-1: Image satellitaire du barrage KEDDARA. [2]**

## 2. Bassin versant de barrage :

Les versants du bassin sont très raides. Dans de la répartition de la superficie selon les catégories de pente, l'inclinaison pour plus de deux tiers dépasse 25% et pour environ un tiers elle est même plus forte que 40%.

La superficie du bassin versant de l'oued **Boudouaou** à l'emplacement du site du barrage de Keddara est de 93 km<sup>2</sup> ayant une forme presque arrondie. [2]

## 3. Oued principale :

Les affluents du barrage keddara sont :

- La retenue de Beni-Amrane qui a été faite de façon à remplir les fonctions principales suivantes :
  - Contrôler le débit de l'oued Isser de manière à ce que le système de pompage entre Béni-Amrane et KEDDARA puisse fonctionner avec une utilisation suffisante pour permettre de satisfaire les besoins en eau potable, actuels et prochains, non seulement du Grand Alger mais aussi des villes situées dans la zone est de la Mitidja, entre Alger et l'oued BOUDOUAOU ;
  - Contrôler le rôle de la retenue de sédimentation en assurant une évacuation efficace des sédiments de la retenue, permettent ainsi de maintenir un volume de stockage suffisant pour la régularisation adéquate du débit et l'amélioration de la qualité de l'eau ;
  - Assurer que les lâchers contrôlés ne causent pas de dégâts et de nuisances évitables aux habitants et propriétés de la vallée aval.
- Le bassin versant du barrage de keddara, est alimenté par les affluents des oueds KEDDARA, EL-HAAD et par les eaux de pluie.
- Le barrage Hamiz qui est destiné à l'irrigation du périmètre de la MITIDJA, il dérive par une galerie. Ses eaux excédentaires vers le barrage de KEDDARA. [2]

## III. Conclusion:

Vu sa situation géographique, le barrage de Keddara est destiné en grande partie à l'alimentation en eau potable du grand Alger et ses environs, il est donc important de préserver la qualité de son eau et d'adapter les moyens de lutte contre sa pollution.

### I. Introduction :

L'eau contient naturellement de nombreuses choses vivantes. La plupart d'entre elles sont inoffensives ou même bénéfiques, mais certaines autres peuvent provoquer des maladies. Les organismes vivant provoquant des maladies sont connus sous le nom d'agents pathogènes. On leur donne parfois d'autres noms, comme microorganismes ou microbes, selon le langage local et le pays.

Bien que plusieurs contaminants dans l'eau présentent un danger pour l'homme, la principale priorité est de s'assurer que l'eau de surface ne contient pas d'agents pathogènes. Le principal risque pour la santé publique posé par les microorganismes est associé à la consommation d'eau contaminée par des excréments humains et animaux (OMS, 2011).

Un paramètre microbiologique peut être effectué pour déterminer si des agents pathogènes sont présents dans l'eau de boisson. Cependant, d'autres indicateurs, comme la fréquence des maladies diarrhéiques, peuvent aussi être importants et parfois plus significatifs que les indicateurs de qualité de l'eau eux-mêmes. L'état général de santé, de bien-être ou d'énergie de la population locale peut aussi donner une idée de la qualité de l'eau de boisson de la communauté.

[D]

### II. Effets potentiels sur la santé

Les maladies associées à l'eau peuvent être classées en catégories en fonction de l'origine de l'agent pathogène et du chemin emprunté pour entrer en contact avec nous. Les maladies liées à l'eau sont celles que l'on contracte en buvant de l'eau contaminée par ces agents pathogènes. L'analyse de qualité de l'eau se concentre habituellement sur les agents pathogènes de l'eau dont la présence est due à une contamination fécale. [D]

Tableau II.1: Maladies associées à une eau contaminée par des agents pathogènes [D]

Maladies potentielles	source	Comment nous tombons malade	Comment cesser d'être malade
Diarrhée, choléra, typhoïde, shigellose, hépatites A et E, dysenterie amibienne,	Véhiculées par l'eau	En buvant de l'eau contenant des agents pathogènes	Traiter l'eau pour la rendre salubre.

<b>cryptosporidiose, giardiase, ver de Guinée.</b>			
<b>Trachome, gale</b>	Rinçage par l'eau	Quand les agents pathogènes entrent en contact avec la peau ou les yeux	Fournir assez d'eau pour l'hygiène de base. Améliorer les pratiques d'hygiène de base.
<b>Schistosomiase</b>	D'origine aquatique	Les agents pathogènes passent par la peau	Ne pas se baigner dans l'eau dont la contamination est connue. Améliorer la qualité de l'eau en éliminant ou en tuant les agents pathogènes.
<b>Malaria, dengue, fièvre jaune, filariose, onchocercose, maladie du sommeil</b>	Le vecteur est un insecte aquatique	Les agents pathogènes sont transmis par des insectes qui se reproduisent ou vivent dans l'eau, comme les moustiques	Empêcher les insectes de se reproduire dans l'eau. Utiliser des pesticides pour contrôler les insectes. Empêcher les insectes de piquer en utilisant des moustiquaires et en portant des vêtements longs.

### 1. Les bactéries pathogènes

Les bactéries sont de très petits organismes unicellulaires présents partout et sont les êtres vivants les plus courants dans les excréments humains et animaux. L'eau de boisson contenant des matières fécales est la principale cause des maladies liées à l'eau.

La diarrhée est un des principaux symptômes des maladies d'origine hydrique les plus courantes causées par des bactéries pathogènes. Parmi celles-ci on trouve le choléra, la typhoïde et la shigellose.

La présence du choléra a augmenté régulièrement dans le monde depuis 2005, avec des épidémies sur plusieurs continents dont l'Afrique subsaharienne, l'Asie, et plus récemment les Caraïbes (Haïti et la République Dominicaine). Le choléra demeure un grave problème de santé publique chez les populations des pays en développement n'ayant pas accès à des ressources appropriées d'eau et d'assainissement (OMS, 2013).

178 000 à 589 000 cas de choléra ont été rapportés chaque année à l'OMS entre 2007 et 2011 (OMS, 2012). Cependant, on sait que le nombre réel de cas de choléra est très supérieur. Ces chiffres sont sévèrement sous-estimés, car de nombreux pays ne rapportent pas ou minimisent le nombre de cas de choléra. Les cas de choléra officiellement rapportés ne mentionnent pas les 500 000 à 700 000 cas qualifiés de diarrhée aqueuse aiguë plutôt que de choléra. Ces cas apparaissent dans de vastes zones d'Asie centrale et du sud-est et dans certains pays africains, entraînent une grande sous-estimation du tribut prélevé par cette maladie dans le monde (OMS, 2013).

A l'instar du choléra, la typhoïde est surtout présente dans les pays où l'on n'a pas accès à une eau potable salubre et un assainissement. Le véritable impact de la typhoïde dans les pays en développement est difficile à estimer. Selon de récentes estimations, 22 millions de cas (entre 16 et 33 millions) apparaissent chaque année, entraînant 216000 morts dont surtout des enfants en âge d'être scolarisés et des jeunes adultes. L'Asie connaît le plus grand nombre de cas de typhoïde dans le monde, notamment dans les pays du sud-est et le sous-continent indien, suivie par l'Afrique subsaharienne et l'Amérique Latine (OMS, 2009).

La bactérie *Shigella* peut provoquer de graves maladies intestinales, dont la dysenterie bacillaire. Plus de deux millions d'infections ont lieu chaque année, entraînant environ 600 000 morts, la plupart chez des enfants de moins de 10 ans. Des épidémies de shigellose

apparaissent dans les communautés surpeuplées et où l'hygiène est mauvaise, surtout dans les pays en développement (OMS, 2011). [D]

## 2. Les Virus :

Les virus sont les plus petits des microorganismes. Les virus sont incapables de se reproduire par eux-mêmes et doivent utiliser un autre être vivant (ex : autre microorganisme, animal, humain) pour produire davantage de virus. Cela perturbe les fonctions ou provoque la mort de l'être vivant. Il est difficile et onéreux d'étudier les virus, c'est pourquoi nous en savons moins à leur sujet que sur les autres agents pathogènes.

Certains virus pathogènes présents dans l'eau peuvent entraîner l'hépatite A et l'hépatite E. On estime que chaque année 1.4 millions de cas d'hépatite A (OMS, 2013) et 20 millions de cas d'hépatite E provoquent 57 000 morts (OMS, 2013).

L'hépatite E se rencontre dans le monde entier, mais sa prévalence est la plus importante en Asie du sud et de l'est.

Dans les pays en développement ayant de très mauvaises conditions sanitaires et pratiques hygiéniques, la plupart des enfants (90%) ont été infectés par le virus de l'hépatite A avant d'avoir 10 ans. Cependant, les personnes infectées durant l'enfance ne souffrent d'aucun symptôme remarquable et les épidémies sont peu fréquentes car les enfants plus âgés et les adultes sont généralement immunisés. Dans les pays en développement ayant des conditions sanitaires et des pratiques hygiéniques améliorées, les pays avec des économies de transition, et les régions où les conditions sanitaires varient, les enfants ne sont souvent pas infectés par l'hépatite A à un jeune âge. De manière ironique, ces conditions sanitaires et économiques améliorées peuvent entraîner davantage d'infections chez les adolescents et les adultes, et d'importantes épidémies peuvent survenir (OMS, 2013).

L'eau ne peut transmettre les virus d'immunodéficience humaine (VIH) et de la grippe. L'eau ne fournit pas à ces virus l'environnement nécessaire à leur survie. [D]

### 3. Les protozoaires pathogènes

Les protozoaires sont beaucoup plus grands que les bactéries et les virus. Certains protozoaires sont des parasites qui ont besoin d'un hôte vivant pour survivre. Ils affaiblissent l'hôte en utilisant sa nourriture et son énergie, en endommageant ses organes internes ou en provoquant des réactions immunitaires.

L'Entamoeba histolytica, le Cryptosporidium le Giardia sont des protozoaires pathogènes présents dans l'eau dans le monde entier. Ces protozoaires peuvent former d'oocystes qui leur permettent de survivre sans hôte et dans des environnements hostiles. Les oocystes de protozoaire s'activent lorsque les conditions environnementales sont optimales pour leur développement. Les oocystes sont aussi très résistants aux méthodes de désinfection utilisées dans le traitement de l'eau.

Entamoeba histolytica, qui provoque la dysenterie amibienne, est le protozoaire intestinal pathogène le plus présent dans le monde entier. La dysenterie amibienne touche environ 500 millions de personnes chaque année. La transmission potentielle par l'eau est plus importante sous les climats tropicaux que tempérés (OMS, 2011).

Cryptosporidium est très résistant à la désinfection au chlore et est de taille relativement petite (par rapport aux autres protozoaires, mais il reste bien plus gros que les bactéries et les virus), donc il peut être difficile à éliminer pour certains types de filtres (ex : filtres à sable lents). De nombreuses épidémies cryptosporidiose apportées par l'eau ont été rapportées à travers le monde, y compris dans les pays industrialisés où des systèmes de traitement de l'eau conventionnels à grande échelle sont utilisés, comme aux USA et au Royaume-Uni. La plupart des épidémies ont été dues à une mauvaise utilisation ou un dysfonctionnement des systèmes de traitement et de distribution de l'eau. Plus important, beaucoup d'épidémies sont apparues là où la qualité de l'eau était considérée comme étant sûre et répondait aux normes nationales et aux Directives de l'OMS en ce qui concerne les niveaux d'E. coli et de turbidité (OMS, 2009).

Giardia peut se transmettre de différentes manières. La voie de transmission de loin la plus commune est le contact entre personnes, notamment entre enfants. Une eau de boisson contaminée est aussi une voie de transmission possible et a été liée à des épidémies (OMS, 2011). La giardiase est une maladie mondiale. Elle touche près de 2% des adultes et jusqu'à

8% des enfants dans les pays développés. Près de 33% des personnes dans les pays en développement ont eu la giardiase. [D]

### III. Organismes indicateurs

Il existe de nombreux types différents d'agents pathogènes et il serait trop cher et trop long de les analyser un par un. A la place, et puisque la plupart des agents pathogènes responsables de maladies viennent des excréments, il est plus pratique de chercher des signes de présence d'excréments dans l'eau. On peut déterminer la contamination fécale de l'eau de boisson en utilisant des organismes indicateurs, habituellement des organismes indicateurs bactériens. Il existe des microorganismes dont la présence dans l'eau signale la présence probable d'excréments, et potentiellement d'agents pathogènes.

Selon l'OMS (2011), les organismes indicateurs de contamination fécale doivent avoir les caractéristiques suivantes :

- Est universellement présent, en grandes quantités, dans les excréments humains et animaux
- Ne se multiplie pas dans les eaux naturelles
- Survit dans l'eau de façon similaire aux agents pathogènes fécaux
- Est présent en plus grand nombre que les agents pathogènes fécaux
- Réagit aux processus de traitement de manière similaire aux agents pathogènes fécaux
- Est facilement détecté par des méthodes de culture simples et bon marché
- N'est pas pathogène lui-même

Il existe plusieurs types d'indicateurs, chacun avec certaines caractéristiques. E. coli et les coliformes thermorésistants (CTR) sont les deux principaux indicateurs bactériens utilisés pour l'analyse de qualité de l'eau. Comme la montre le diagramme suivant, les coliformes thermorésistants sont un type de coliformes totaux, et E. coli fait partie du groupe des coliformes thermorésistants. Ces indicateurs sont décrits plus en détail dans les sections suivantes.

Les indicateurs bactériens comme E. coli et les coliformes thermorésistants ne sont pas destinés à être des indicateurs absolus de la présence d'agents pathogènes dans l'eau de boisson. La présence de ces indicateurs bactériens dans un échantillon d'eau suggère plutôt que l'eau a probablement été contaminée par des excréments et qu'elle présente un risque plus élevé de provoquer des maladies. [D]

## 1. Coliformes fécaux :

### a. Définition :

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermo tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermo tolérants détectés. Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire. C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermo tolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux ». L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales. Par ailleurs, puisque les coliformes fécaux ne prolifèrent habituellement pas dans un réseau de distribution, ils sont utiles pour vérifier son étanchéité, permettant de détecter une contamination fécale découlant par exemple d'infiltrations d'eau polluée dans les canalisations. Ils sont aussi de bons indicateurs de l'efficacité du traitement de l'eau, mais comme leur nombre est moins élevé que celui des coliformes totaux, ces derniers leur sont préférables pour cette fonction. [G]

### b. Normes et recommandations :

Le *Règlement sur la qualité de l'eau potable* (Gouvernement du Québec, 2001), les recommandations canadiennes pour la qualité de l'eau potable (Santé Canada, 2001) ainsi que les lignes directrices de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS, 2000) et celles de l'agence de protection de l'environnement des États-Unis (US EPA, 2001) précisent qu'aucun coliforme fécal ne doit être présent dans un échantillon d'eau potable. Le règlement québécois précise aussi que 50 % des échantillons doivent être prélevés en bout de réseau, l'autre moitié pouvant être prélevée à divers endroits déterminés par

l'exploitant; la détection d'un seul coliforme fécal/100 ml entraîne un avis immédiat de faire bouillir l'eau. [G]

**c. Risque sanitaire :**

La détection de coliformes fécaux dans une eau traitée doit faire sérieusement soupçonner une contamination d'origine fécale. La présence de coliformes fécaux peut être une indication de la présence de micro-organismes entéropathogènes, comme les salmonelles et le virus de Norwalk. Le risque est plus particulièrement lié aux réseaux qui ont un traitement minimal, comme une simple chloration; des vérifications effectuées au Québec sur de petits réseaux ont confirmé la présence d'*E. Coli* dans 95 % des échantillons positifs en coliformes fécaux (travaux effectués au Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, ministère de l'Environnement). Par contre, dans les réseaux qui ont un traitement plus élaboré (floculation, sédimentation, filtration et chloration), la majorité des coliformes fécaux appartiennent à une espèce autre que l'*E. Coli*. Toutefois, puisqu'il n'est pas toujours possible de déterminer rapidement la nature des coliformes fécaux, le *Règlement sur la qualité de l'eau potable* du Québec précise donc que toute détection de coliformes fécaux doit donc entraîner immédiatement un avis d'ébullition de l'eau. [I]

Il importe de noter que certaines espèces de coliformes, comme *Klebsiella pneumoniae*, sont souvent reconnues comme étant des micro-organismes pathogènes en milieu hospitalier, mais les souches retrouvées en milieu naturel ne sont habituellement pas les mêmes et n'ont pas un pouvoir pathogène aussi important. En période estivale, en particulier lorsque la température de l'eau dépasse 15°C, des proliférations de bactéries sont parfois observées de manière récurrente dans certains réseaux de distribution. Il est alors possible que l'énumération révèle des coliformes fécaux qui n'ont pas une origine fécale; leur présence fausse ainsi l'interprétation du test. C'est pourquoi, il peut devenir nécessaire de procéder à l'étape de confirmation pour détecter la présence d'*E. Coli*, qui est en fait l'indicateur véritablement recherché; dans ce contexte l'emploi de milieux de culture spécifiques à l'*E. Coli* permet d'éviter ce problème. [G]

## 2. Coliforme totaux :

### a. Définition:

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35 °C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié. Les principaux genres inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*. La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé, à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* (*E. coli*) ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes. [H]

### b. Normes et recommandations :

Le Règlement sur la qualité de l'eau potable du Québec précise que si 21 échantillons d'eau doivent être prélevés mensuellement, au moins 90 % d'entre eux doivent être exempts de coliformes totaux

Par contre, si moins de 21 échantillons sont prélevés mensuellement, la présence de coliformes totaux ne sera tolérée que dans un seul échantillon. Dans tous les cas, le maximum acceptable dans un échantillon positif est de 10 coliformes totaux par 100 ml. Il importe cependant de noter qu'un échantillon contenant entre 1 et 9 coliformes/100 ml doit être comptabilisé dans le cadre de la fréquence maximale de dépassement (10 % ou 1 seul échantillon) à respecter. Quant aux recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada, elles font état des mêmes critères en précisant toutefois que la concentration maximale acceptable (CMA) 1 est de 0 coliforme par 100 ml (Santé Canada, 2001). Aux États-Unis, où la méthode présence-absence est favorisée, la présence de coliformes totaux est tolérée dans 5 % des échantillons Ceci est similaire aux critères de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS, 2000). Notons par ailleurs que d'après le règlement québécois, 50 % des échantillons doivent être prélevés en bout de réseau et l'autre 50 % au milieu du réseau. [H]

### c. Risque sanitaire :

Le groupe des coliformes totaux est utilisé depuis la fin du 19<sup>e</sup> siècle comme indicateur de pollution. La présence de coliformes totaux dans l'eau traitée, ou le dépassement des normes réglementaires, n'implique pas nécessairement un risque pour la santé publique. En effet, la plupart des espèces de ce groupe se retrouvent naturellement dans le sol ou la végétation et certaines espèces qui se retrouvent rarement dans les fèces peuvent se multiplier dans l'eau de consommation comme *Serratia fonticola* (OMS, 2000).

Le risque sanitaire relié directement à la présence de bactéries du groupe des coliformes totaux est donc faible, à l'exception de certaines souches d'E. Coli et de certaines bactéries opportunistes qui peuvent causer de graves maladies chez les patients débilisés. Ainsi, *Klebsiella pneumomiae*, peut causer des infections des voies respiratoires et génito-urinaires ainsi qu'une septicémie, particulièrement en milieu hospitalier. Cependant, les souches présentes dans l'eau n'ont pas le même pouvoir pathogène que celles retrouvées en milieu hospitalier. Par ailleurs, *Enterobacter Aerogenes* peut engendrer des problèmes respiratoires chez des personnes hospitalisées ou ayant une immunodéficiences.

De façon générale, la présence de coliformes totaux dans l'eau potable est un indicateur de risque très imprécis. Ces bactéries peuvent croître dans un réseau d'aqueduc étanche dont l'usine de traitement est parfaitement fonctionnelle; cette croissance se produit habituellement à partir du biofilm microbien qui se forme sur la paroi des canalisations, particulièrement en cas de faible chlore résiduel. Par ailleurs, on sait aussi que des micro-organismes pathogènes (virus, parasites et bactéries) peuvent être présents dans l'eau distribuée en l'absence de coliformes totaux. Il existe cependant des cas où on a mis en évidence une association entre la détection de coliformes totaux et l'apparition d'épidémies d'origine hydrique, bien qu'une eau sans coliformes puisse aussi être à l'origine de problèmes de nature gastro-entérique. Cette dernière situation a d'ailleurs été mise en évidence qui a démontré que, pour l'ensemble des épidémies dues à des protozoaires entre 1975 et 1989 aux États-Unis, les coliformes totaux n'avaient pas été des indicateurs fiables. Les coliformes totaux ne sont donc pas, sauf exception, de bons indicateurs de la présence d'agents pathogènes dans l'eau de consommation; ils sont cependant très utiles comme indicateurs de l'efficacité du traitement, de l'intégrité du réseau de distribution ainsi que comme indicateurs de la recroissance bactérienne après traitement (OMS, 2000).

Selon les données recueillies aux cours des dernières années, les coliformes fécaux, l'E.coli et les entérocoques sont des indicateurs de risque plus valides. [H]

### 3. Streptocoque fécaux :

#### a. Définition :

La classification générale des streptocoques fécaux a été modifiée dans les années 80 par la création d'un nouveau genre, Enterococcus. Dans ce contexte, plusieurs espèces appartenant antérieurement au genre Streptococcus ont été transférées vers le genre Enterococcus, ce dernier correspondant, grosso modo, aux streptocoques du groupe sérologique D de la classification de Lancefield. Le genre Enterococcus comprend une vingtaine d'espèces qui se retrouvent dans différents habitats et chez différents hôtes. On les retrouve souvent dans le tractus gastro-intestinal des humains et de plusieurs animaux; Enterococcus faecalis et E. faecium sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain. Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains, à des concentrations variant de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries/g. Quant aux streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer les eaux d'approvisionnement, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme Streptococcus bovis, S. equinus, S. gallolyticus et S. alactolyticus. Ces espèces colonisent le bétail, les chevaux et la volaille bien qu'elles peuvent parfois être présentes chez l'humain, en particulier S. bovis et elles n'ont pas été transférées dans le genre Enterococcus. Cette nomenclature, basée sur des modifications à la classification bactérienne, peuvent engendrer une certaine confusion d'autant plus que certains documents récents utilisent toujours le terme Streptococcus pour décrire des espèces du genre Enterococcus; c'est le cas du Méthodes normalisées pour l'examen de l'eau et des eaux usées. À cet égard, il faut cependant rappeler que le Règlement sur la qualité de l'eau potable du Québec ne fait mention que des entérocoques. [I]

La persistance des entérocoques dans divers types d'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs, notamment à cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants, ce qui fait d'eux des indicateurs privilégiés pour évaluer l'efficacité du traitement de l'eau (OMS, 2000). De plus, leur grande résistance à la dessiccation fait des entérocoques des indicateurs pour le contrôle lors des réparations du réseau de distribution nécessitant un assèchement. Par ailleurs, puisqu'il n'y a généralement pas de croissance des entérocoques dans un réseau de distribution, leur détection témoigne généralement d'une pollution fécale récente. Dans ce contexte, on a récemment reconnu le rôle des

entérocoques à titre d'indicateur de contamination fécale dans les aquifères (nappes d'eau souterraine) (OMS, 2000), des études menées aux États-Unis ayant démontré leur utilité pour mettre en évidence une contamination fécale de l'eau souterraine. Cet intérêt à l'égard des entérocoques s'expliquerait par le fait que, comparativement aux coliformes (incluant *Escherichia coli*), ils sont plus résistants à des conditions environnementales difficiles et persistent plus longtemps dans l'eau; de telles conditions sont typiques des eaux souterraines où la température est généralement plus froide et qui sont pauvres en éléments nutritifs. [I]

Il importe de mentionner que, pendant plusieurs décennies, le rapport coliformes fécaux/entérocoques était utilisé comme un élément informatif de premier ordre pour déterminer si une pollution fécale était d'origine animale ou humaine. La validité de ce rapport a cependant été sérieusement remise en question parce qu'il est impossible à mettre en évidence dans diverses situations et il n'est maintenant plus utilisé. [I]

### **b. Normes et recommandation :**

Dans le contexte du *Règlement sur la qualité de l'eau potable* du Québec, la recherche des entérocoques vise à :

- évaluer la qualité d'une eau souterraine non désinfectée sur une base routinière (mensuelle)
- détecter une contamination d'origine fécale dans une eau souterraine non désinfectée après la détection de coliformes fécaux ou d'*E. coli* dans le réseau de distribution.

L'exploitant d'un réseau de distribution dont l'eau provient totalement ou partiellement d'une source souterraine non désinfectée et vulnérable doit donc vérifier mensuellement la présence d'entérocoques, parallèlement à celle des virus coliphages et d'*E. coli*, dans l'eau brute qui alimente le réseau. Par ailleurs, si une contamination d'origine fécale est détectée dans un réseau de distribution approvisionné en partie ou totalement par un aquifère non désinfecté, l'exploitant doit immédiatement vérifier la présence d'entérocoques et d'*E. coli* dans l'eau brute qui approvisionne le réseau afin de savoir si le problème est localisé à la source. Dans tous les cas, l'aquifère devraient être exempt d'entérocoques. Les entérocoques ne sont pas mentionnés dans les recommandations canadiennes pour la qualité de l'eau potable (Santé Canada, 2001), dans les lignes directrices de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS, 2000) ou dans celles de l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis. Cependant, en 2000, l'EPA a proposé d'inclure la

recherche des entérocoques à titre d'indicateurs de contamination fécale de l'eau souterraine, au même titre que l'*Escherichia coli* et les virus coliphages. Selon cette agence, un seul échantillon positif devrait entraîner une notification aux autorités sanitaires et l'application de mesures adéquates, comme la désinfection, afin de protéger la santé publique. Par ailleurs, en Australie, la recherche des entérocoques est fortement suggérée à titre d'indicateur de pollution fécale de l'eau potable, notamment en présence de coliformes et en absence d'*E. coli*. Dans les pays de la communauté européenne, la directive concernant les paramètres microbiens de l'eau de consommation, émise en 1998, précise qu'il faut viser l'absence d'entérocoques à titre de critère de qualité de l'eau potable. [I]

### **c. Risque sanitaire :**

La détection d'entérocoques dans une nappe d'eau souterraine doit faire sérieusement soupçonner une contamination d'origine fécale et la présence de micro-organismes entéropathogènes. Simmons *et al.* (2001) font ainsi état d'une certaine corrélation ( $r = 0,59$ ,  $p = 0,001$ ) entre la présence d'entérocoques et celle de coliformes fécaux dans une eau de consommation non traitée. De manière plus probante, Charrière *et al.* (1994) ont clairement démontré que la détection d'entérocoques était fortement associée à la présence d'*E. coli* dans des réseaux de distribution approvisionnés par des eaux souterraines. Ils ont mis en évidence un risque accru de développer une gastro-entérite avec un nombre relativement restreint de streptocoques fécaux (3 à 10 bactéries/100 ml). Ed Charrière *et al.* (1997) suggèrent d'ailleurs de ne pas consommer une eau souterraine dans laquelle des entérocoques ont été identifiés.

Bien que les entérocoques fassent partie de la flore normale de l'intestin humain, certaines espèces sont impliquées dans diverses infections nosocomiales où le genre *Enterococcus* est reconnu comme la troisième plus importante cause de ce type d'infection. Il n'est cependant pas démontré que les souches présentes en milieu hospitalier se retrouvent dans l'environnement, particulièrement dans l'eau. Ces données recueillies en milieu hospitalier servent plutôt à démontrer que les personnes les plus à risque d'être infectées par un entérocoque résistant à la vancomycine sont habituellement celles ayant un état de santé débilite ou qui subissent des traitements médicaux. [I]

#### 4. Pseudomonas Aeruginosa :

##### a. Définition :

La bactérie pathogène opportuniste actuellement connue sous le nom de *P. aeruginosa* a reçu plusieurs noms à travers son histoire sur la base de ses cultures de coloration bleu-vert caractéristique produisant le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine, ainsi que son odeur aromatique caractéristique (seringat). Le chirurgien Charles-Emmanuel Sedillot en 1850 fut le premier à observer que la coloration de pansements chirurgicaux a été associée à un agent transmissible. C'est en 1869 que Fordos a souligné que la coloration était due à un pigment bleu cristallin appelé pyocyanine. *P. aeruginosa* a été isolé pour la première fois treize ans plus tard en 1882 par Gessard qui a démontré que ce pigment a été le produit d'un organisme, *Bacillus pyocyaneus* (bacille pyocyanique).

Il s'agit d'un bacille à Gram négatif en forme de bâtonnet de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large. *P. aeruginosa* est une bactérie dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (Hafiane et Ravaoarino, 2008). C'est une bactérie mésophile capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C avec une température optimale de croissance entre 30 et 37°C. *P. aeruginosa* est une bactérie aérobie possédant un métabolisme oxydatif, mais en absence d'oxygène elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons.

Le génome de *P. aeruginosa* a été séquencé en 2000 chez la souche de référence PA. C'est l'un des plus grands génomes bactériens séquencés, avec 6,3 millions de paires de bases. Ce génome donne un aperçu sur sa grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique ainsi que la résistance intrinsèque aux antibiotiques.

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire retrouvée dans l'environnement (sols, eaux...) sous forme planctonique, ou à l'état sessile dans un biofilm. La pathogénicité de *P. aeruginosa* est attribuée à la production de plusieurs facteurs de virulence, hautement induits dans l'infection et s'expriment préférentiellement sur les terrains immunodéprimés.

En 1996, Galtier a rapporté dans son ouvrage « La Stérilisation » que c'est lorsque le malade est à l'hôpital qu'il court le plus de risques d'infection, dont la conséquence sera l'altération de sa santé. Il a mentionné que la cause en est la surinfection intra-hospitalière, appelée « nosocomiale », en référence à un mot d'origine grecque, utilisé pour la première fois au II<sup>e</sup> siècle ap. J.-C. par Arrien de Nicomédie, disciple d'Epictète avec le sens : soin du malade. Le risque de survenue de ces surinfections étant particulièrement élevé dans les

services de soins intensifs, de grands brûlés, de polytraumatisés et chez les patients atteints de déficits immunitaires.

*P. aeruginosa* est un agent pathogène opportuniste essentiellement responsable d'infections nosocomiales. Une enquête méditerranéenne de prévalence en 2010, le classe comme étant le troisième principal agent des infections nosocomiales, juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Il est naturellement résistant aux pénicillines des groupes V, G, M et A, aux céphalosporines de première et deuxième génération, à la plupart des céphalosporines de troisième génération, aux quinolones de première génération et à la kanamycine, et est caractérisé par son aptitude particulière à acquérir et cumuler de nombreux mécanismes de résistance pendant le traitement d'une infection. En outre, il a toujours été considéré comme un microorganisme difficile à traiter. Malheureusement, la perspective d'avoir de nouveaux agents antipseudomonas à l'utilisation clinique dans un avenir proche n'est pas prometteur.

*P. aeruginosa* est un commensal du tube digestif, peu abondant chez l'homme en bonne santé (2 à 10 % de porteurs), mais la proportion de porteurs asymptomatiques chez les patients hospitalisés (essentiellement des personnes immunodéprimées) peut atteindre 50% sur certains sites et 60 % sur les plaies de brûlures ou d'escarres. Ainsi, la principale source de contamination des patients hospitalisés est donc leur flore endogène mais l'environnement est également incriminé. La transmission croisée est le plus souvent manportée par le personnel soignant, soit directement de patient à patient, soit indirectement à partir de surfaces inertes préalablement contaminées. Dans les services de soins intensifs, *P. aeruginosa* évolue par bouffées épidémiques sur un fond endémique. [P]

### **b. Risque sanitaire :**

La présence d'une population particulièrement vulnérable dans les établissements de santé conduit à la nécessité de disposer d'une qualité d'eau exempte de microorganismes pathogènes, notamment en terme de *Pseudomonas aeruginosa*.

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire, vivant dans les sols, milieux humides et tous types d'eau, très résistante aux désinfections et fréquente en milieux hospitaliers. Elle provoque des pathologies diverses plus ou moins graves (infections de l'œil, des plaies, des poumons) avec des complications chez les personnes immuno-déficientes. La

bactérie peut être présente dans les réseaux d'eaux, mais ceux-ci peuvent être contaminés également par les malades via les robinets et les douches (on parle de rétro-contamination). Les risques sanitaires liés à l'eau imposent des mesures de contrôle de la prolifération bactérienne sur les différentes parties des réseaux hydriques des établissements hospitaliers et recevant du public et la mise en place de plans de surveillance adaptés. [A]

**c. Normes et recommandation :**

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la recherche et l'identification du microorganisme spécifié *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits cosmétiques. Les microorganismes considérés comme spécifiés dans la présente Norme internationale peuvent différer d'un pays à un autre, suivant les pratiques ou les réglementations nationales. Pour garantir la qualité du produit et la sécurité des consommateurs, il est recommandé d'effectuer une analyse appropriée du risque microbiologique afin de déterminer les types de produit cosmétique qui relèvent de la présente Norme internationale. Les produits dont on considère qu'ils présentent un faible risque microbiologique comprennent ceux ayant une faible activité de l'eau, les produits hydroalcooliques, ceux ayant des valeurs de pH extrêmes, etc. La méthode décrite dans la présente Norme internationale repose sur la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* dans un milieu liquide non sélectif (milieu liquide d'enrichi). [L]

**IV. Les contrôles microbiologiques :**

Les contrôles de la qualité des eaux portent d'abord sur la recherche des microorganismes, surtout les bactéries et les virus, susceptibles d'affecter la santé de l'homme, ses ressources, ses animaux ou ses cultures. [F]

**1. Les raisons du contrôle sanitaire :**

Les eaux destinées à l'alimentation humaine, mais aussi celles qui sont destinées à l'alimentation animale, à l'arrosage des légumes et des fruits, à la baignade et à un grand nombre d'autres usages doivent être exemptes de tout organisme pathogène ou opportuniste susceptible de provoquer des troubles de la santé chez ceux qui les consommeraient ou les utiliseraient.

Cependant, la recherche des germes pathogènes ou opportunistes se heurte à un certain nombre de difficultés parmi lesquelles l'impossibilité ou la grande difficulté de recherche et de caractérisation d'un certain nombre de germes (*Salmonella*, *Shigella*, *Gardia*, *Campylobacter*, *Vibrio*, virus de l'hépatite A, virus de la poliomyélite, rotavirus, etc.), le coût

des analyses, voire leur absence de signification dans le domaine de la prévention vis-à-vis des contaminations (présence aléatoire, irrégulière, trop dépendante de conditions environnementales peu ou pas maîtrisées ou connues ou de traitements avec des agents antimicrobiens ou des désinfectants, etc.).

Il s'est trouvé que la plupart des germes pathogènes présents dans les eaux avaient un habitat fécal. C'est la raison pour laquelle, dans les normes de contrôle, on a retenu la recherche des germes témoins de contamination ou de pollution fécale. Ce sont des germes banals, vivant préférentiellement dans les intestins des animaux et de culture et de caractérisation facile et rapide.

On admet généralement que si on trouve ces germes témoins de contamination en nombre suffisant dans un milieu, c'est que ce milieu a été, à un moment ou à un autre, pollué par des déjections et des excréments d'origine animale. On admet également que, dès lors, la probabilité que ces matières fécales polluantes aient pu abriter des germes pathogènes de même origine est importante.

Dans le cas où on ne trouverait pas de germes témoins ou tests de pollution fécale, on admet que, soit il n'y a pas eu de contamination, soit que l'abattement naturel au cours du temps des germes banals s'est accompagnée d'un même abattement des germes pathogènes. Ce dernier point mériterait d'être discuté pour la raison que rien n'indique que la survie hors de l'intestin des germes banals et des germes pathogènes présente la même dynamique, non plus d'ailleurs que les germes résistent identiquement aux conditions écologiques qu'ils vont rencontrer dans le milieu ou aux traitements désinfectants auxquels on pourrait les soumettre. C'est la raison pour laquelle aux germes témoins de contamination, on leur préfère parfois les germes témoins de l'efficacité d'un traitement.

Aujourd'hui, on recherchera donc les germes témoins de contamination fécale : bactéries entérocoques, coliformes thermotolérants, *Escherichia coli* ; puis des indicateurs d'efficacité de traitement : spores de bactéries sulfitoréductrices ou spores de *Clostridium perfringens* ; enfin on dénumbrera les germes aérobies revivifiables à 22° C et à 36° C (distribution d'eau potable).

Évidemment, on retiendra les numérations de ces différents types de germes (dépassement de nombre guide), mais aussi les variations observées et particulièrement les augmentations

brusques qui signent remarquablement une altération évidente de la qualité microbiologique d'un milieu. [F]

## 2. Contrôle des eaux de boisson :

Les eaux destinées à la consommation humaine et animale (eaux potables) font l'objet de contrôles de leur qualité dans des laboratoires agréés. Les eaux minérales naturelles, les eaux utilisées dans les industries alimentaires et la glace alimentaire (pain de glace, vrac concassé, etc.) font aussi l'objet de contrôles, mais dans des conditions réglementaires et techniques légèrement différentes.

Toutes ces eaux font l'objet de trois types d'analyses. Une au niveau de la ressource, dite réduite et qui concerne la recherche des coliformes thermo tolérants, des streptocoques fécaux. Une autre au niveau de la distribution, dite sommaire, qui comprend en plus un dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 22° C et à 37° C. Enfin, une troisième, dite complète, qui comprend aussi une analyse portant sur les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.

La recherche des coliformes thermo tolérants ou coliformes fécaux, dont *Escherichia coli* sont spécifiques de la recherche des germes tests des contaminations fécales récentes. La recherche des streptocoques fécaux dont *Enterococcus faecalis* est de spécificité moyenne, puisque de nombreux entérocoques et streptocoques, naturellement présents dans les eaux, ne sont pas d'origine fécale. La recherche des bactéries revivifiables n'est pas significative d'une pollution fécale, mais elle donne de bonnes indications sur l'histoire bactérienne d'une eau et en particulier d'une eau d'origine souterraine. La recherche des *Clostridium* sulfito-réducteurs est très significative d'une pollution fécale ancienne ou intermittente. D'autres bactéries peuvent être recherchées dans les eaux destinées à la consommation humaine, c'est le cas, par exemple, de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les analyses effectuées sur les eaux minérales, de source ou thermales sont les mêmes que celles effectuées sur les eaux de distribution. Sur les eaux thermales, toutefois, on procède à la recherche des *Legionella*. [F]

V. Normes relatives à la qualité des eaux de surface en vue de la potabilisation :

Les indicateurs de contamination fécale ont servi de base à l'établissement de l'ensemble des normes de qualité microbiologique des eaux. Pour un niveau de contamination microbiologique donné, le risque sanitaire dépend de l'usage qui est fait de l'eau. L'eau qui est directement consommée, qui est utilisée comme ressource dans une usine de production d'eau potable, qui sert pour l'hygiène, la baignade ou pour d'autres activités récréatives nautiques, ou encore qui est utilisée pour l'irrigation des cultures n'expose évidemment pas aux mêmes risques sanitaires. De ce fait, des normes différentes ont été établies pour chacun de ces usages.

Les niveaux fixés par ces normes sont, la plupart du temps, issus d'études épidémiologiques qui permettent de faire le lien entre l'exposition à un facteur donné et l'incidence d'infections dues à cette exposition. Elles donnent une estimation du risque en fonction d'un niveau d'exposition ou dose (dans le cas des maladies d'origine hydrique, une abondance d'indicateurs) et peuvent donc être utilisées pour définir des normes appropriées. [O]

Tableau II.2: les normes de la qualité des eaux de surface. [J]

Paramètres	A1	A2	A3
Coliformes totaux (pour 100 ml)	<50	5000	50000
Coliformes fécaux (pour 100 ml)	20	2000	20000
Streptocoques fécaux (pour 100 ml)	20	1000	10000
Pseudomonas Aeruginosa	08	-	-

Ce tableau nous donne les valeurs guides, c'est-à-dire l'objectif de qualité à atteindre.

- **A1** : Traitement physique simple et désinfection. Ex : filtration rapide et désinfection.
- **A2** : Traitement normal physique, chimique et désinfection. Ex : préchloration, coagulation, floculation, décantation, filtration, désinfection (chloration finale).
- **A3** : Traitement physique, chimique poussé, affinage, désinfection. Ex : chloration au « break point », coagulation, floculation, décantation, filtration, affinage (charbon actif), désinfection (ozone, chloration finale). [J]

**VI. Conclusion :**

Parmi les critères de qualité de l'eau distribuée, le paramètre microbiologique mérite la plus grande vigilance car il reflète le risque immédiat pour la santé du consommateur. La réglementation impose la recherche d'indicateurs de contamination fécale cultivables l'*Escherichia coli* et les entérocoques.

Les critères et les seuils sont différents pour les eaux brutes destinées à la production d'eau destinée à la consommation humaine. D'une part, il existe un paramètre supplémentaire : les coliformes fécaux qui sont des bactéries spécifiques d'origine fécale, qui apparaissent en grandes quantités dans les déjections humaines ou animales. Malgré cette importance majeure pour la santé, plusieurs millions de personnes sont confrontées à des contaminations microbiologiques d'origine hydrique de façon plus ou moins régulière. [N].

**I. Introduction :**

Ce type d'analyse est le plus important pour la protection de la santé. Il permet de déterminer si l'échantillon d'eau contient des bactéries qui peuvent donner des malaises ou des maladies. Les autorités recommandent de faire effectuer ce type d'analyses une à deux fois par année et de conserver les résultats.

L'analyse microbiologique courante permet de détecter la présence de coliformes fécaux (E.Coli), soit les bactéries les plus dangereuses pour la santé.

L'analyse microbiologique permet aussi de dénombrer les coliformes totaux. La présence de coliformes totaux est une indication que l'eau du puits est sous l'influence des eaux de surface. Le Règlement tolère la présence de quelques unes de ces bactéries dans l'eau potable, mais si leur nombre dépasse 10 l'eau sera déclarée non-conforme.

Finalement, le nombre des colonies atypiques qui figure sur le rapport donne une mesure de l'abondance des bactéries dans l'eau. [Q]

**II. Méthodes générales de prélèvement, transport et conservation :****1. Matériel de prélèvement :**

Le récipient utilisé doit assurer, une fois bouché, une protection totale contre toute contamination. Il ne doit pas céder à l'échantillon de substances toxiques vis-à-vis des bactéries. On peut utiliser des flacons en verre de 250, 500, 1000ml, de préférence borosilicatés, à bouchage émeri. Avant l'usage, ces flacons doivent être soigneusement lavés, puis rincés car il ne doit rester aucune trace d'un éventuel détergent ou antiseptique. Ils sont ensuite séchés puis bouchés au coton cardé ; il est recommandé d'apposer une étiquette permettant d'inscrire ultérieurement l'identification du prélèvement. Le bouchon émeri, destiné à la fermeture après le prélèvement est lavé, rincé, séché, puis enveloppé séparément dans un morceau de papier filtre. Il est avantageux, pour la commodité des manipulations ultérieures, d'utiliser des bouchons à méplat. Le bouchon emballé et le flacon sont alors enveloppés de papier filtre et stérilisés soit à l'autoclave (120°C) durant 15 minutes, soit au four pasteur (170°C) durant 1 heure. Il est souhaitable de disposer chaque flacon dans un étui métallique adapté à sa taille. Pour assurer sa protection durant les transports et éviter la déchirure de l'enveloppe de papier filtre. [3]

## 2. Méthodes de prélèvement :

- Se désinfecter les mains.
- Sortir le flacon stérile contenant du thiosulfate de sodium de son emballage et le plonger à l'horizontale (pour éviter le déversement du thiosulfate). Le redresser jusqu'à ce que le volume d'eau recueilli soit suffisant tout en gardant un volume d'air dans le flacon (goulot) pour permettre une agitation correcte avant l'analyse.
- Inscire sur le flacon et sur la fiche MB PS 04 F2 (Fiche de demande d'analyse d'eaux) toutes les informations concernant le prélèvement (site, lieu, date, heure, éventuels problèmes rencontrés...). [C]

## 3. Transport et conservation :

### a. Transport

- Le prélèvement ainsi réalisé doit être acheminé au laboratoire dans les plus brefs délais. Pour les eaux potables, il convient dans l'idéal de commencer l'analyse le jour même.
- Durant le transport, les échantillons sont conservés dans une enceinte réfrigérée avec blocs réfrigérants et à l'abri des rayonnements solaires.
- Il est recommandé de séparer les échantillons chauds des échantillons froids.
- Ne pas mettre de blocs réfrigérants en contact direct avec l'échantillon, car cela pourrait entraîner sa congélation. La formation de glace peut entraîner la mort de la majorité des cellules. Seuls les échantillons destinés à l'analyse des virus peuvent être conservés à -70°C.[C]

### b. Conservation :

Les modes de conservation des différents paramètres analytiques exigés par le Règlement sur la qualité de l'eau des surfaces sont intimement liés aux méthodes analytiques utilisées en laboratoire. En effet, la sensibilité et les limites de quantification souhaitées peuvent servir à définir le volume et le type d'échantillon à prélever. De plus, les méthodes d'analyse peuvent influencer sur le choix des contenants et sur les techniques de conservation des échantillons. Il est primordial de travailler de concert avec le personnel du laboratoire pour obtenir les renseignements supplémentaires requis. En plus des dispositions spécifiques qui sont décrites au tableau III.1, les considérations générales suivantes s'appliquent [E]:

- tous les échantillons doivent être conservés à environ 4 °C ou être maintenus dans un environnement d'environ 4 °C entre le moment du prélèvement et la réception au laboratoire (utiliser des glacières et des agents réfrigérants ou de la glace);
- les glacières utilisées doivent être propres et réservées si possible à l'analyse de l'eau de surface.
- la conservation et le transport sont sous la responsabilité du préleveur ou du responsable du bassin et il est essentiel de travailler en étroite collaboration avec le laboratoire. [Q]

**Tableau III.1: Modes de conservation des paramètres microbiologiques (évaluation en laboratoire) [E]**

Paramètre	Volume suggéré (ml)	Délai entre le prélèvement et l'analyse
<b>Coliformes fécaux</b>	100	48 heures
<i>Escherichia coli</i>	100	48 heures
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	48 heures
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	48 heures

### III. Recherche et dénombrement des *Escherichia Coli* et des bactéries coliformes :

#### 1. Méthode par filtration (méthode solide) :

##### a. Objet et domaine d'application :

Il s'agit là d'une méthode de référence qui consiste en la recherche et le dénombrement des *Escherichia Coli* et des bactéries Coliformes éventuellement présent dans les eaux destinées à la consommation humaine par comptage des colonies obtenues en milieu solide après 24 à 48 heures d'incubation en aérobiose à  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  puis à  $42\pm 2^{\circ}\text{C}$ .

La présente méthode est recommandée pour les eaux peu contaminées

##### b. Définition :

Au sens de cette méthode, on entend par Coliformes bacilles à gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporulés, ne possédant pas d'oxydase, capables de se multiplier

en présence de sels biliaries et capables fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37°C.

Les coliformes thermo tolérants ont des mêmes propriétés que les coliformes mais à 42±2°C. Les *Escherichia coli* sont des coliformes thermo tolérants ayant la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane présente dans le milieu à 42±2°C.

### **c. Mode opératoire :**

La recherche des bactéries coliformes par filtration sur membrane nécessite une préparation au préalable, qui se déroule selon les étapes suivantes :

- Tout d'abord, il faudrait stériliser l'entonnoir gradué en acier inoxydable ainsi que la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen.
- Les refroidir tout de suite après, avec de l'eau à analyser si on en dispose en quantité suffisante ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de porosité nominale de 0.45µ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dispositif avec la pince correspondant.
- Déposer ensuite aseptiquement 100 ou 250ml de l'eau à analyser, selon les types d'eau à analyser, devant un bec bunsen.
- Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane.
- Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, sur la surface d'une plaque de gélose TTC préalablement préparé. Cette dernière sera incubé couvercle en bas à 36±2°C pendant 21±3 heures voire 44±4 heures et servira à la recherche des bactéries coliformes, suivie de l'identification biochimique des *Escherichia coli*.

### **d. Lecture et l'interprétation :**

Après la période d'incubation spécifiée, dénombrer les colonies caractéristiques qui se présentent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentés en jaune orangé ou en jaune.

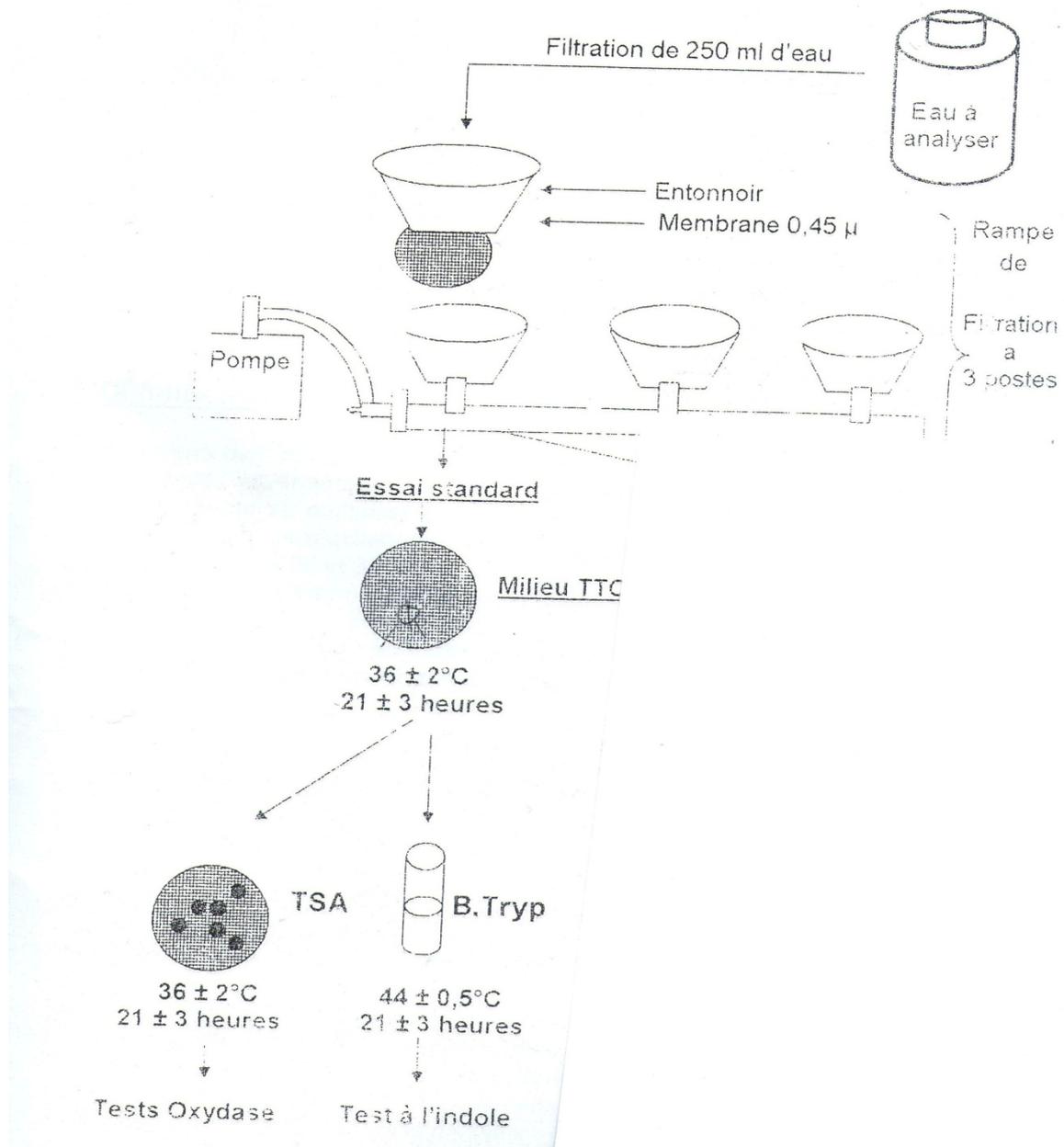
Repiquer de façon aléatoire 5 à 10 colonies à des fins de confirmation basée sur le test à l'oxydase d'une part et la production d'indole d'autre part.

➤ Test de l'oxydase :

Pour les besoins de ce test, effectuer tout d'abord un repiquage sur gélose TSA à la caséine de 5 à 10 colonies, à incuber à  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant  $21\pm 2$  heures, puis effectuer le teste de l'une des façons suivantes :

- Imbiber un disque d'oxydase avec une goutte d'eau distillée stérile puis déposer une colonie caractéristique.
- Verser 2 à 3 gouttes du réactif à l'oxydase préparé extemporanément (Tétraméthyl-p-ohénylènediamine) sur un papier filtre puis étaler dessus partie de la culture.

Dans les deux cas la réaction se traduit par un virage au bleu violet foncé donc les résultats sont positive.



**Figure III.1** : mode opératoire de la recherche des bactéries coliformes par la méthode solide.

➤ **Illustration :**

D'après le test d'oxydase, il y a un grand virage de coloration de la plus part des colonies au jaune donc le résultat est considéré comme bactéries coliformes totaux sont **indénombrable à 37°C et 6 à 44°C**



**Figure III.1: résultat de Coliforme totaux à 37°C et 44°C**

Le résultat finale sera donc de :

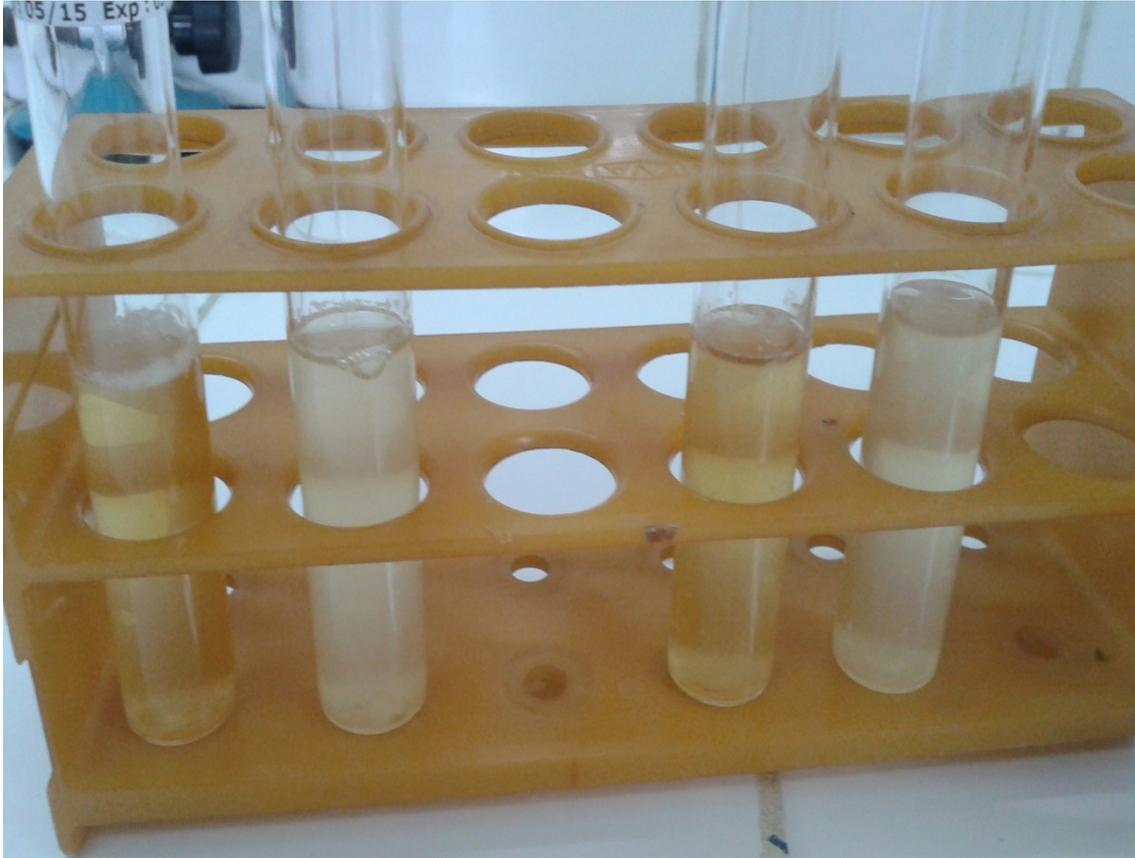
**Coliformes totaux sont indénombrables dans 100 ml d'eau à analyser à 37°C et 6 à 44°C.**

➤ **Test à l'indole :**

Pour cela transférer chaque colonie caractéristique séparément (5 à 10) dans un tube contenant 3 ml de bouillon au tryptophane. Bien triturer la colonie dans le milieu puis incubé ce dernier à  $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$  pendant  $21 \pm 3$  heures puis rechercher la production d'indole en ajoutant 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs. La présence d'une coloration rouge à la surface du bouillon traduit la production d'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu.

➤ **Illustration :**

Le test d'indole est négatif parce que on observé une absence de coloration rouge à la surface du bouillon.



**Figure III.3:** résultats des coliformes fécaux

Le résultat finale sera donc de :

**Absence totale de Coliformes fécaux dans l'eau à analyser que se soit à 37°C ou 44°C**

## 2. Méthode en milieu liquide

### a. Objet et domaine d'application

Cette méthode de routine consiste en la recherche et le dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo tolérants et des *Escherichia coli* dans les eaux destinées à la consommation humaine, en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable (NPP)

### b. Définitions

Au sens de cette méthode , on entend par Coliformes des bacilles a gram négatifs , aérobies ou anaérobies facultatifs , non sporulés , ne possédant pas d'oxydase , capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37°C

Les Coliformes thermo tolérants ont les mêmes propriétés que les coliformes mais à  $42\pm 2^{\circ}\text{C}$

Les Escherichia coli sont des coliformes thermo tolérants ayant la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à  $42\pm 2^{\circ}\text{C}$

***c. Mode opératoire :***

La recherche et dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo tolérants et des Escherichia coli dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

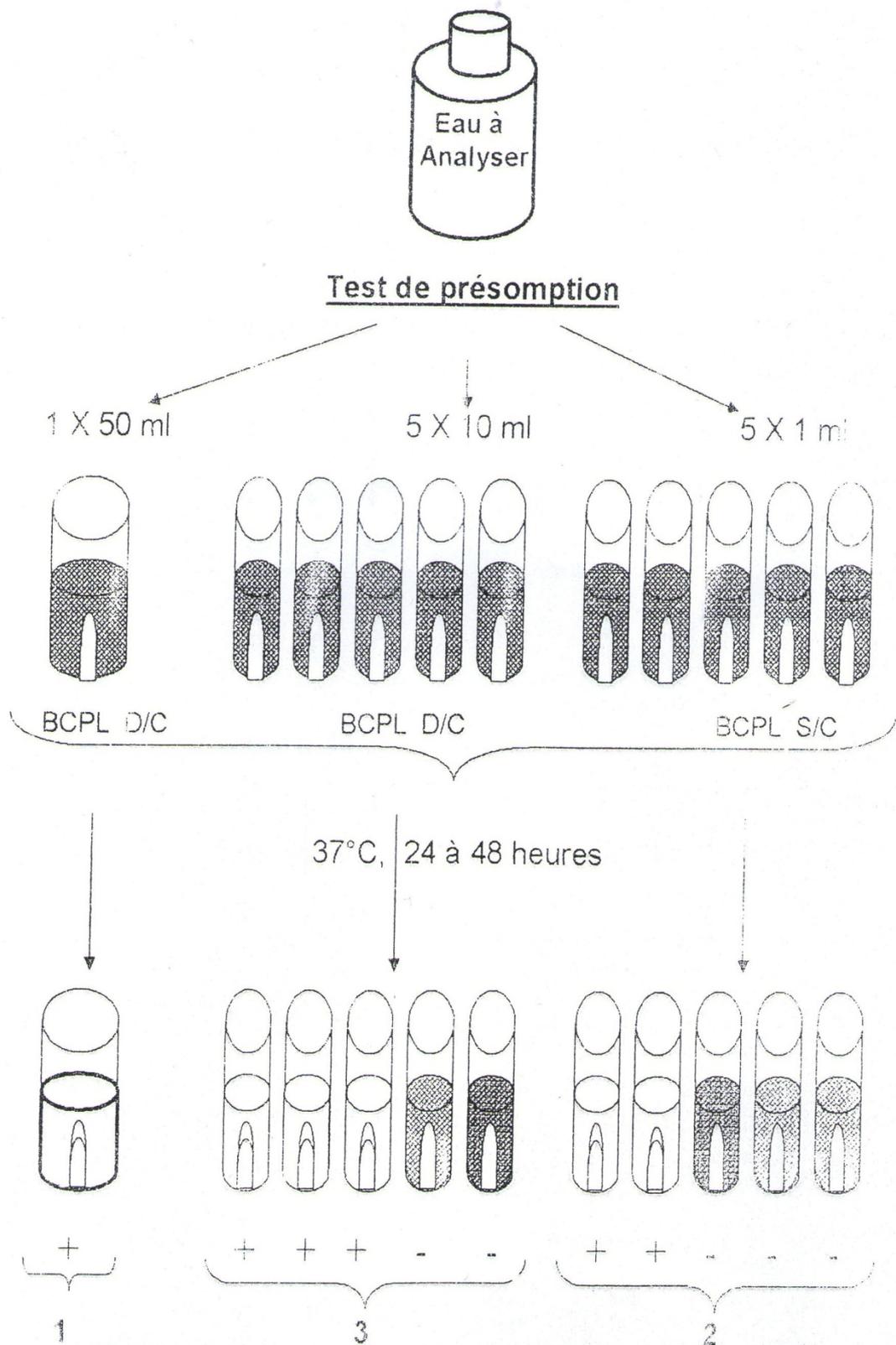
- Le test de présomption : réservé à la recherche des Coliformes
- Le test de confirmation : réservé à la recherche des Coliformes thermo tolérants et Escherichia coli

➤ ***Test de présomption :***

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham
- 5 fois 10ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham
- 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham, comme l'indique schéma n°2.

Chassez l'air éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37 pendant 24 à 48 heures.



**Figure III.4:** teste présomption de coliforme totaux en milieu liquide.

**➤ Lecture :**

Les résultats sont positifs, Les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10<sup>ème</sup> de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présente dans le milieu).

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites.

Le lecteur final se fait selon les prescriptions de la table du NNP

**➤ Illustration :**

Nous avons 11 tubes à repiquer à savoir :

- Le flacon de BCPL D/C.
- 5 tubes sur 5 de BCPL D/C.
- 5 tubes sur 5 de BCPL S/C.



**Figure III.5 : résultats des coliformes totaux.**

**Tableau III.2 : résultats de test de présomption de coliformes totaux**

Inoculum	Test de présomption	Nombre caractéristique
1 X 50 ml	+	1
5 X 10 ml	+	5
	+	
	+	
	+	
	+	
5 X 1 ml	+	5
	+	
	+	
	+	
	+	

Le nombre caractéristique est donc « 155 » ; ce qui correspond sur la table NPP au suivant ;

**Tableau III.3:** table NPP

1X50 ml	5X10 ml	5X1 ml	Nombre caractéristique (NPP)
0	0	0	<1
0	0	1	1
0	0	2	2
0	1	0	1
0	1	1	2
0	1	2	3
0	2	0	2
0	2	1	3
0	2	2	4
0	3	0	3
0	3	1	5
0	4	0	5
1	0	0	1
1	0	1	3
1	0	2	4
1	0	3	6
1	1	0	3
1	1	1	5
1	1	2	7
1	1	3	9
1	2	0	5
1	2	1	7
1	2	2	10
1	2	3	12
1	3	0	8
1	3	1	11
1	3	2	14
1	3	3	18
1	3	4	21

1	4	0	13
1	4	1	17
1	4	2	22
1	4	3	28
1	4	4	35
1	4	5	43
1	5	0	24
1	5	1	35
1	5	2	54
1	5	3	92
1	5	4	160
1	5	5	>240

Le nombre caractéristiques relatif au dénombrement des coliformes totaux est donc « 155 », ce qui correspondant sur la table du NPP au chiffre supérieur à 240

Le résultat finale sera donc de :

**Supérieur à 240 coliformes totaux dans 100 ml d'eau à analyser**

➤ **Test de confirmation :**

Le teste de confirmation est basé sur la recherche des Coliformes thermo tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'Escherichia Coli.

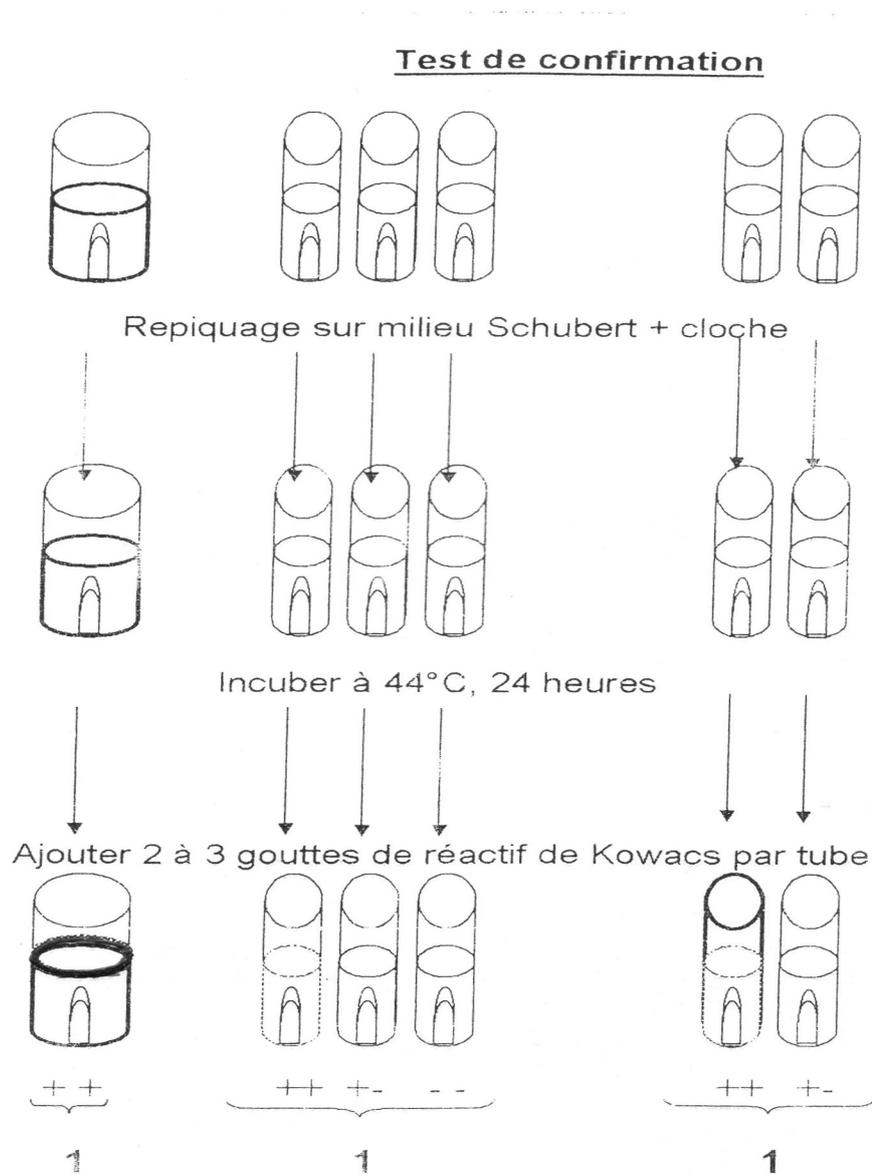
Les coliformes thermo tolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C.

Escherichia coli est un coliforme thermo tolérant qui entre autre :

- Produit de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à 44°C.
- Donne un résultat positif à l'essai au rouge de méthyle.
- Ne produit pas de l'acétyl méthyl carbinol,
- N'utilise pas le citrate comme source unique de carbone.

Les tubes de BCPL trouvé positifs lors du dénombrement des coliformes feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse bouclée dans tube contenant le milieu SCHUBERT MUNI d'une cloche de Durham.

Chasser l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci au bain marie à 44°C pendant 24 heures.



**Figure III.6 :** teste de confirmation de coliformes fécaux en milieu liquide.

➤ **Lecture :**

Les résultats sont positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux
- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de KOVACS.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de NPP, en tenant compte du fait qu'*Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C.

➤ **Illustration:**

Nous avons 7 tubes à repiquer à savoir :

- Le flacon de ROTHE D/C.
- 4 tubes sur 5 de ROTHE D/C.
- 2 tubes sur 5 de ROTHE S/C.

**Tableau III.4: test de confirmation de coliformes fécaux.**

Inoculum	Test de présomption	Nombre caractéristique	Test de confirmation		Nombre caractéristique
			gaz	indole	
1 X 50 ml	+	1			1
5 X 10 ml	+	5			4
	+				
	+				
	+				
5 X 1 ml	+	5			2
	+				
	+				
	+				

Le nombre caractéristiques relatif au dénombrement des coliformes totaux est donc « 142 », ce qui correspondant sur la table du NPP au chiffre 22

Le résultat finale sera donc de :

**22 coliformes fécaux dans 100 ml d'eau à analyser****IV. Recherche et dénombrement des streptocoques:****1. Objet et domaine d'application :**

Cette méthode de référence, consiste en la recherche et le dénombrement des streptocoques du groupe « D » de la classification de Lance Field, ou encore streptocoque fécaux dans les eaux destinées à la consommation humaine par filtration sur membrane.

**2. Définition :**

Au sens de cette méthode, on entend par streptocoque des bactéries qui se présente sous forme de cocci à Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chaînettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe D.

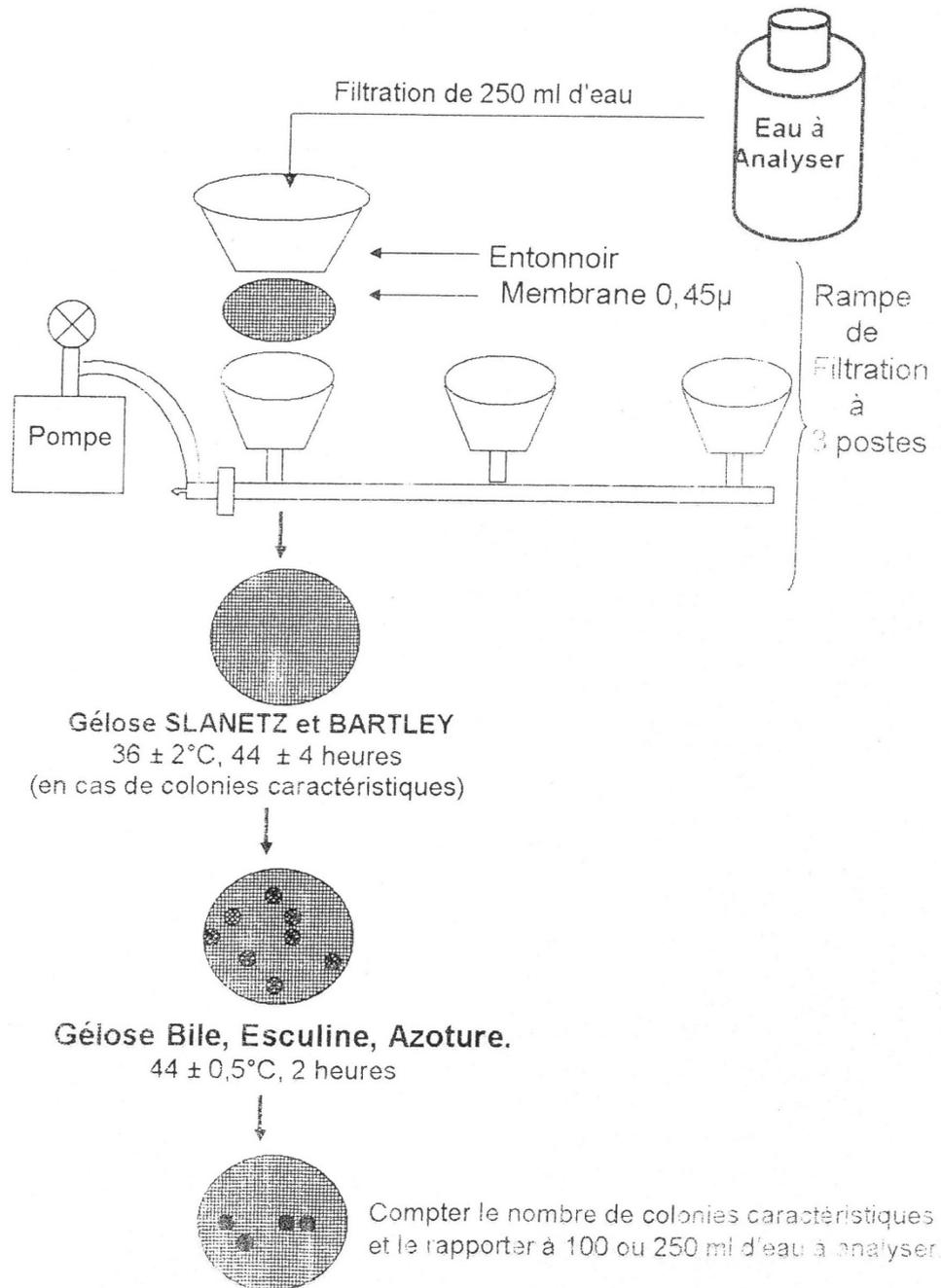
Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37 °C sur un milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques réduisant le TTC et qui de plus hydrolysent l'esculine en 2 heures à 44°C après repiquages d'une colonie sur gélose biliée à l'esculine et l'azoture.

**3. Mode opératoire :****a. Méthode par filtration (méthode solide) :**

La recherche des streptocoques du groupe D, par filtration sur membrane nécessite une préparation au préalable, qui se déroule selon les étapes suivantes :

- Tout d'abord, il faudrait stériliser l'entonnoir gradué en acier inoxydable ainsi que la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen.
- Les refroidir tout de suite après, avec l'eau à analyser si on en dispose en quantité suffisante ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de porosité nominale de 0.45µ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dispositif avec la pince correspondante.
- Déposer ensuite aseptiquement 100 ou 250 ml d'eau à analyser, selon les types d'eaux à analyser, devant un bec bunsen.
- Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane.
- Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, à la surface d'une plaque de gélose SLANETZ et BARTLEY préalablement préparée.

Cette dernière sera incubée couvercle en bas à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant  $44 \pm 4$  heures.



**Figure III.7:** test de recherche des Streptocoques fécaux par la méthode solide

➤ **Lecture et interprétation :**

Après la période d'incubation spécifiée, les streptocoques du groupe D apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en rouge, marron ou rose.

Transférer aseptiquement la membrane du milieu de SLANETZ et BARTLEY sur un plaque de gélose Bile esculine azoture (BEA) préchauffée préalablement à 44°C, cette dernière sera incubée à son tour à 44±0.5°C pendant 2 heures.

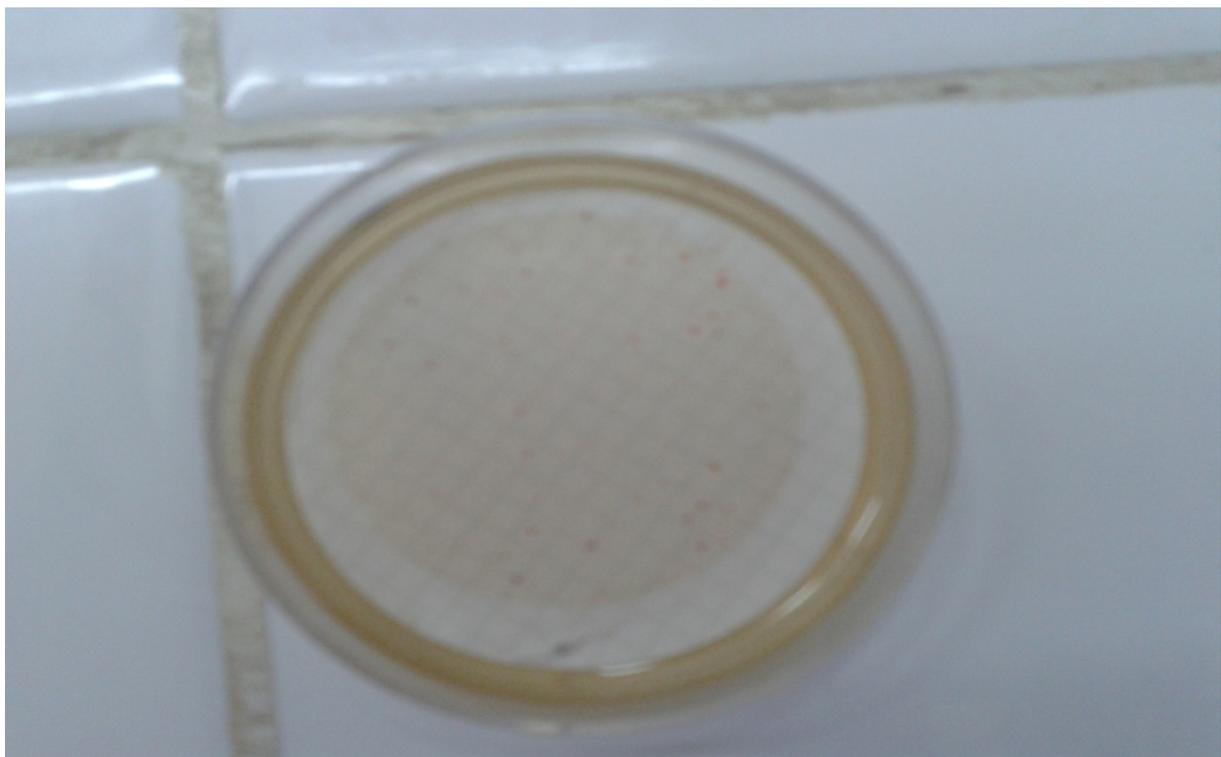
Les colonies caractéristiques prennent alors une coloration noire traduisant ainsi l'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu.

Compter le nombre de colonies et le rapporter à 100 ou 250 ml d'eau à analyser.

➤ **Illustration :**

Les résultats sont positifs

D'après la recherche de streptocoque fécaux, il y a un virage de coloration des colonies au noire donc le résultat de streptocoque fécaux sont 12 colonies



**Figure III.8: résultats des streptocoques fécaux**

Le résultat finale sera donc de :

**12 streptocoques fécaux dans 100 ml d'eau à analyser.**

**b. Méthode en milieu liquide :**

La recherche et le dénombrement des streptocoques du groupe D dans les eaux en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives:

- Le test de présomption : réservé à la recherche présomptive des streptocoques.
- Le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des streptocoques du groupe « D ».

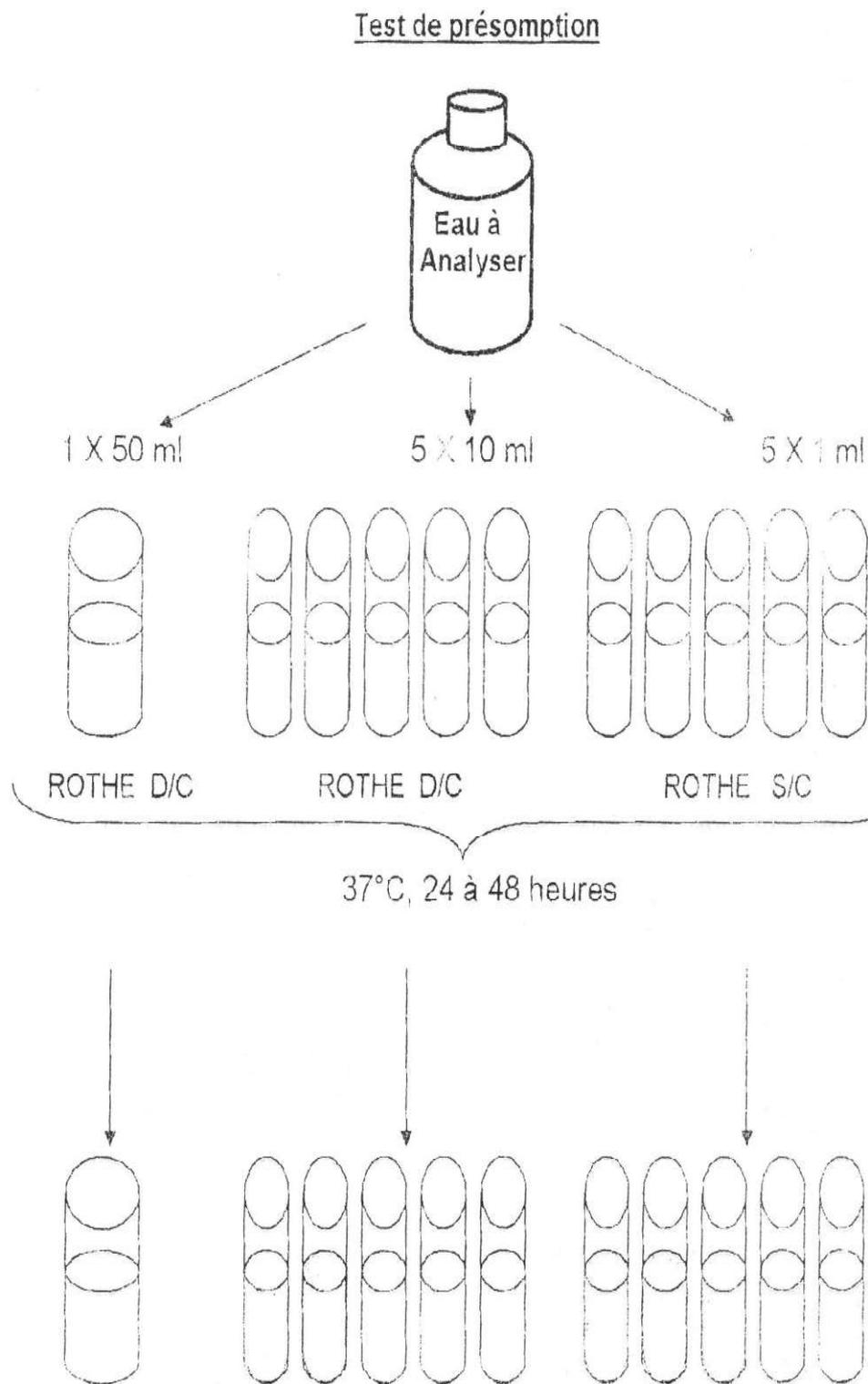
**➤ Test de présomption :**

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu ROTHE D/C.
- 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C.
- 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.



**Figure III.9:** teste présomption de streptocoques fécaux en milieu liquide

➤ **Lecture :**

Seront considérés comme présomptifs présentant un trouble microbien, seulement ces derniers :

- Ne doivent en aucun cas faire l'objet de dénombrement.
- Doivent par contre, absolument faire l'objet d'un repiquage sur le milieu LITSKY EVA dans le but d'être justement confirmé

➤ **Illustration :**

Nous avons 10 tubes à repiquer à savoir :

- Le flacon de ROTHE D/C.
- 5 tubes sur 5 de ROTHE D/C.
- 4 tubes sur 5 de ROTHE S/C.



**Figure III.10** : résultat de test de présomption de streptocoques fécaux.

Tableau III.5 : test de présomption de streptocoques du groupe « D ».

inoculum	Teste de présomption
1 X 50 ml	+
5 X 10 ml	+
	+
	+
	+
	+
5 X 1 ml	+
	+
	+
	+
	-

➤ Test de confirmation :

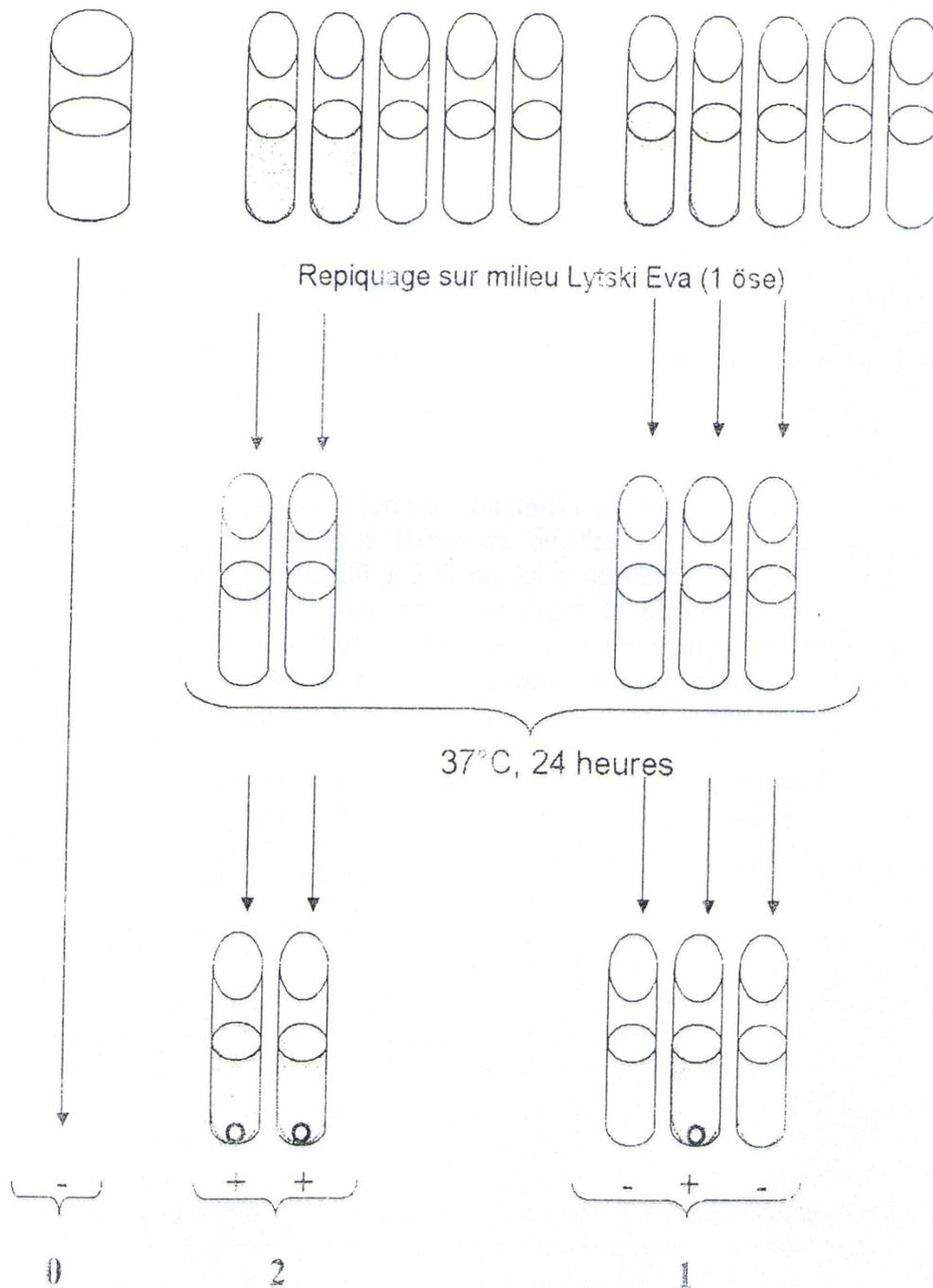
Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques du groupe « D » éventuellement présent dans le test de présomption.

Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse bouclée dans tube contenant le milieu LITSKY EVA.

Bien mélanger le milieu et inoculum.

L'incubation se fait cette fois-ci à 37°C, pendant 24 heures.

Test de confirmation



**Figure III.11 :** teste confirmation de streptocoques fécaux en milieu liquide

➤ **Lecture :**

Les résultats sont positifs, les tubes présentant à la fois

- Un trouble microbien ; et
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

La lecture également selon les prescriptions de la table NPP.

➤ **Illustration :**

Nous avons 8 tubes à repiquer à savoir :

- Le flacon de ROTHE D/C.
- 4 tubes sur 5 de ROTHE D/C.
- 3 tubes sur 5 de ROTHE S/C.

**Tableau III.6 : test de confirmation de streptocoques fécaux**

Inoculum	Test de présomption	Nombre caractéristique
1 X 50 ml	+	1
5 X 10 ml	+	4
	+	
	+	
	+	
	-	
5 X 1 ml	+	3
	+	
	+	
	-	
	-	

Le nombre caractéristiques relatif au dénombrement des streptocoques fécaux est donc « 143 », ce qui correspondant sur la table du NPP au chiffre 28

Le résultat finale sera donc de

***28 streptocoques fécaux dans 100 ml d'eau à analyser.***

## V. Recherche de *Pseudomonas Aeruginosa* dans les eaux destinées à la consommation humaine. Méthode par filtration sur membrane

### 1. Définition :

Au sens de cette méthode, on entend par *Pseudomonas Aeruginosa*, une bactérie qui se présente sous forme de bacille à gram négatif possédant l'enzyme oxydase et capable de produire de l'ammoniac à partir de l'acétamide.

*Pseudomonas Aeruginosa*, est également une bactérie hautement pathogène et résistante à plusieurs antibiotiques.

### 2. Mode opératoire :

La recherche de *Pseudomonas Aeruginosa* par filtration sur membrane nécessite une préparation préalable, qui déroule selon les étapes suivantes:

- Tout d'abord, il faut stériliser l'entonnoir gradué en acier inoxydable ainsi que la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen.
- Les refroidir tout de suite après, avec l'eau à analyser si on en dispose en quantité suffisante ou bien avec l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de porosité nominale de  $0.45\mu$  entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dispositif avec la pince correspondant.
- Déposer ensuite aseptiquement 100 ou 250 ml d'eau à analyser, selon les types d'eaux à analyser, devant un bec bunsen.
- Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane.
- Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, à la surface d'une plaque de gélose au CÉTRÉMIDE préalablement préparée.
- Cette dernière sera incubée couvercle en bas à  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant  $44\pm 4$  heures.

**3. Lecture et interprétation :**

Après la période d'incubation spécifiée :

- Les colonies pigmentées en bleu vert donc productrices de pyocyanine sont considérées d'emblée comme des colonies de *Pseudomonas Aeruginosa* : **compte le nombre de colonies.**
- Les colonies qui présentent une fluorescence sous UV, nécessitent une confirmation biochimique basée essentiellement sur un repiquage sur bouillon à l'acétamide qui sera incubé à  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant  $20\pm 4$  heures.

Après l'incubation, la production d'ammoniac à partir de bouillon à l'acétamide.

Après avoir ajouté une à deux gouttes du réactif de Nessler est caractérisé par une décoloration de jaune au rouge brique, et en faveur de *Pseudomonas Aeruginosa* : **compter le nombre de colonies.**

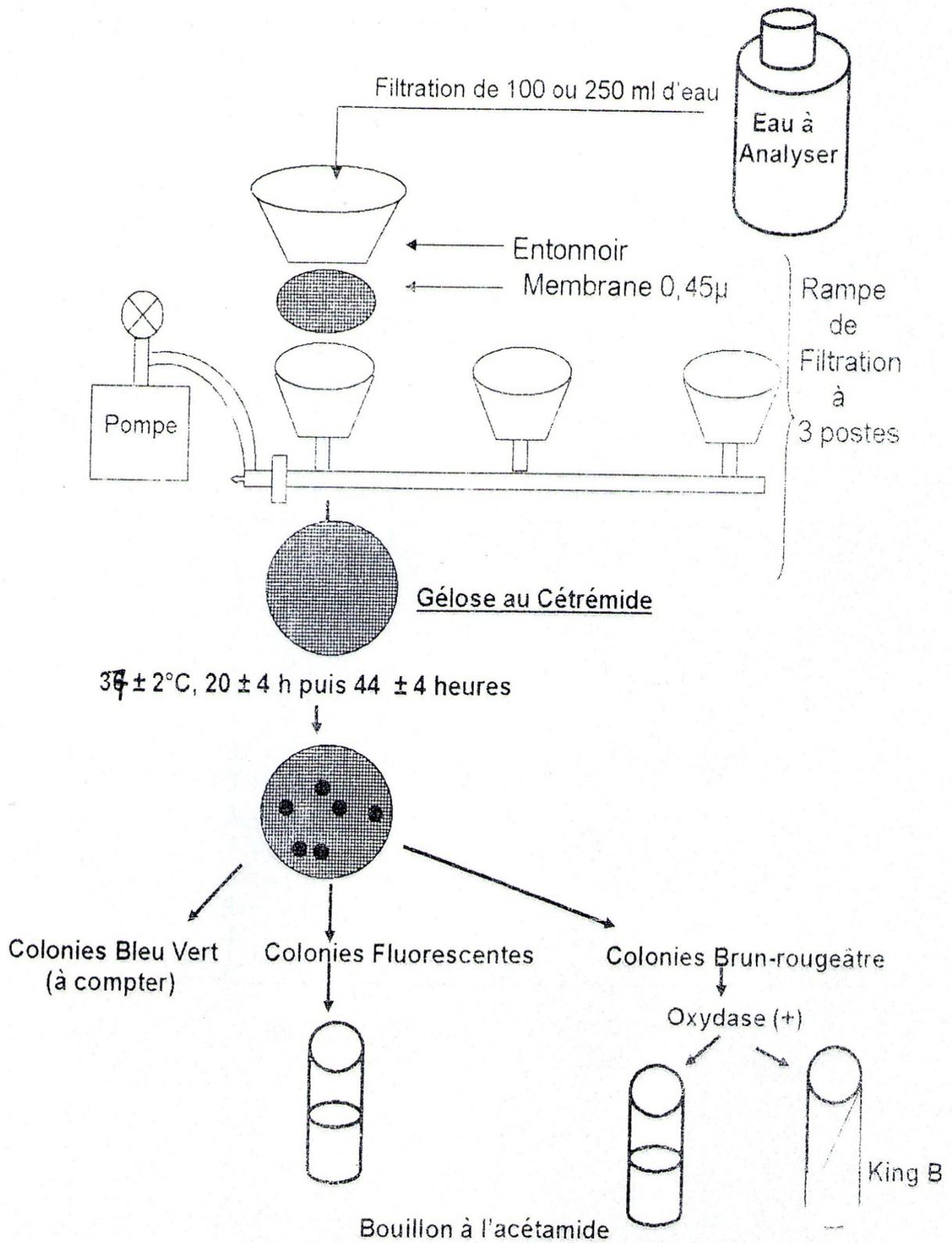


Figure III.12 : de recherche des Pseudomonas Aeruginosa par la méthode solide

**4. Illustration :**

Les résultats sont négatifs

D'après la recherche de *Pseudomonas Aeruginosa*, il y a absence de virage de coloration des colonies au bleu vert donc le résultat de streptocoque fécaux sont 0 colonies



***Figure III.13 : résultat finale de Pseudomonas Aeruginosa***

Le résultat finale sera donc de :

**0 Pseudomonas Aeruginosa dans 100 ml d'eau à analyser.**

**Tableau III.7:** résultats des analyses microbiologique de l'eau de barrage KEDDARA.

	Méthode par filtration (méthode solide)		Méthode en milieu liquide
Coliforme totaux	37°C	<b>Indénombrable</b>	<b>&gt;240</b>
	44°C	<b>06</b>	
Coliforme fécaux	37°C	<b>0</b>	<b>22</b>
	44°C	<b>0</b>	
Streptocoques fécaux	<b>12</b>		<b>28</b>
Pseudomonas Aeruginosa	<b>0</b>		

**VI. Conclusion :**

Les résultats de l'analyse bactériologique des eaux de barrage keddara :

- coliformes totaux qui sont indénombrable par la méthode solide et supérieure à 240 par la méthode liquide,
- absence totale de coliformes fécaux par la méthode solide par contre, nous avons trouvé 22 coliformes fécaux par la méthode liquide
- nous avons trouvé 12 Streptocoques fécaux par la méthode solide et 28 par la méthode liquide.
- et à la fin on observe une absence totale de la Pseudomonas Aeruginosa.

## *Liste des abréviations*

---

- **ANBT**: agence nationale des barrages et transferts.
- **ANRH** : Agence Nationale des Ressources Hydrauliques
- **BEA** : Bile esculine azoture.
- **CMA** : concentration maximale acceptable.
- **CTR** : coliformes thermorésistants.
- **D/C**: double concentration
- **DRS**: Drag Reduction System
- **E. coli** : Escherichia coli.
- **NE**: Nord-Est.
- **NPP**: Nombre le Plus Probable
- **NW**: Nord-Ouest.
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **P. Aeruginosa**: Pseudomonas Aeruginosa
- **PA**: Pseudomonas Aeruginosa.
- **PS 04 F2** : Fiche de demande d'analyse d'eaux
- **S.A.U** : superficie agricole utile.
- **S.E.F.M.V.T**: secrétaire d'Etat aux forêts et à la mise en valeur des terres
- **S/C**: simple concentration.
- **TSA**: Trypticase soja
- **TTC**: Lactosé au Tergitol 7
- **UNICEF** : Fonds des Nations unies pour l'enfance
- **US EPA** : United States Environmental Protection Agency
- **USA** : États-Unis d'Amérique
- **UV**: ultra violet
- **VIH** : virus d'immunodéficience humaine.

## *Liste des figures*

---

- **Figure I-1** : Image satellitaire du barrage KEDDARA.....5
- **Figure III.1** : mode opératoire de la recherche des bactéries coliformes par la méthode solide.....32
- **Figure III.1**: résultat de Coliforme totaux à 37°C et 44°C.....33
- **Figure III.3**: résultats des coliformes fécaux.....34
- **Figure III.4**: teste présomption de coliforme totaux en milieu liquide.....36
- **Figure III.5** : résultats des coliformes totaux.....37
- **Figure III.6** : teste de confirmation de coliformes fécaux en milieu liquide.....41
- **Figure III.7**: test de recherche des Streptocoques fécaux par la méthode solide .....44
- **Figure III.8**: résultats des streptocoques fécaux.....45
- **Figure III.9**: teste présomption de streptocoques fécaux en milieu liquide.....47
- **Figure III.10** : résultat de test de présomption de streptocoques fécaux.....48
- **Figure III.11** : teste confirmation de streptocoques fécaux en milieu liquide.....50
- **Figure III.12** : de recherche des Pseudomonas Aeruginosa par la méthode solide .....54
- **Figure III.13** : résultat finale de Pseudomonas Aeruginosa.....55

## *Liste des tableaux*

---

- **Tableau II.1:** Maladies associées à une eau contaminée par des agents pathogènes .....7
- **Tableau II.2:** les normes de la qualité des eaux de surface. ....25
- **Tableau III.1:** Modes de conservation des paramètres microbiologiques (évaluation en laboratoire).....29
- **Tableau III.2 :** résultats de test de présomption de coliformes totaux.....33
- **Tableau III.3:** table NPP.....34
- **Tableau III.4:** test de confirmation de coliformes fécaux.....36
- **Tableau III.5 :** test de présomption de streptocoques du groupe « D ». ....49
- **Tableau III.6 :** test de confirmation de streptocoques fécaux.....51
- **Tableau III.7:** résultats des analyses microbiologique de l'eau de barrage KEDDARA.....56

# *Sommaire*

---

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>CHAPITRE 1 : présentation du site d'étude</b> .....	3
<b>I. Introduction</b> .....	3
<b>II. Présentation</b> .....	4
1. Barrage KEDDARA.....	4
2. Bassin versant de barrage .....	6
3. Oued principale.....	6
<b>III. Conclusion</b> .....	6
<b>CHAPITRE 2: les paramètres microbiologiques</b> .....	7
<b>I. Introduction</b> .....	7
<b>II. Effets potentiels sur la santé</b> .....	7
1. Les bactéries pathogènes.....	9
2. Les Virus .....	10
3. Les protozoaires pathogènes .....	11
<b>III. Organismes indicateurs</b> .....	12
1. Coliformes fécaux .....	13
a. Définition .....	13
b. Normes et recommandations .....	13
c. Risque sanitaire.....	14
2. Coliforme totaux.....	15
a. Définition.....	15
b. Normes et recommandations.....	15

# Sommaire

c. Risque sanitaire .....	16
3. Streptocoque fécaux.....	17
a. Définition .....	17
b. Normes et recommandation.....	18
c. Risque sanitaire .....	19
4. Pseudomonas Aeruginosa .....	20
a. Définition .....	20
b. Risque sanitaire .....	21
c. Normes et recommandation .....	22
IV. Les contrôles microbiologiques .....	22
1. Les raisons du contrôle sanitaire .....	22
2. Contrôle des eaux de boisson .....	24
V. Normes relatives à la qualité des eaux de surface en vue de la potabilisation.....	25
VI. Conclusion.....	26
<b>CHAPITRE 3 : les analyses microbiologiques .....</b>	<b>27</b>
I. Introduction.....	27
II. Méthodes générales de prélèvement, transport et conservation.....	27
1. Matériel de prélèvement .....	27
2. Méthodes de prélèvement .....	28
3. Transport et conservation .....	28
a. Transport.....	28
b. Conservation.....	28
III. Recherche et dénombrement des Escherichia Coli et des bactéries coliformes.....	29
1. Méthode par filtration (méthode solide) .....	29
a. Objet et domaine d'application.....	29

# Sommaire

---

<b>b.</b> Définition.....	29
<b>c.</b> Mode opératoire.....	30
<b>d.</b> Lecture et l'interprétation.....	30
➤ Test de l'oxydase.....	31
➤ Illustration.....	33
➤ Test à l'indole.....	33
➤ Illustration.....	33
2. Méthode en milieu liquide.....	34
<b>a.</b> Objet et domaine d'application.....	34
<b>b.</b> Définitions.....	34
<b>c.</b> Mode opératoire .....	35
➤ Test de présomption .....	35
➤ Lecture .....	37
➤ Illustration .....	37
➤ Test de confirmation.....	40
➤ Lecture.....	41
➤ Illustration.....	42
IV. Recherche et dénombrement des streptocoques.....	43
<b>1.</b> Objet et domaine d'application .....	43
<b>2.</b> Définition.....	43
<b>3.</b> Mode opératoire.....	43
<b>a.</b> Méthode par filtration (méthode solide).....	43
➤ Lecture et interprétation.....	45
➤ Illustration.....	45
<b>b.</b> Méthode en milieu liquide.....	46

# *Sommaire*

---

➤ Test de présomption.....	46
➤ Lecture.....	48
➤ Illustration.....	48
➤ Test de confirmation.....	49
➤ Lecture.....	49
➤ Illustratio.....	51
<b>V. Recherche de Pseudomonas Aeruginosa dans les eaux destinées à la consommation humain.</b>	
Méthode par filtration sur membrane .....	52
<b>1. Définition .....</b>	<b>52</b>
<b>2. Mode opératoire.....</b>	<b>52</b>
<b>3. Lecture et interprétation.....</b>	<b>53</b>
<b>4. Illustration.....</b>	<b>55</b>
<b>VI. Conclusion.....</b>	<b>56</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>57</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>58</b>
<b>Web-graphi.....</b>	<b>58</b>

## Bibliographie

- [1] *AZRIL Said* ; « impact des dépôts vaseux sur la qualité des eaux des barrages de Hamiz et de Keddara » mémoire de master, Université SAAD DAHLEB-Blida 2011/2012
- [2] *BENZIRA Ibtissem* ; « étude de la qualité des eaux des barrages de l'algérois : Béni-Amrane, Keddara et Hamiz » mémoire de master, Université SAAD DAHLEB-Blida 2013/2014
- [3] *Rodier .J* « L'analyse de l'eau naturelle », livre, Paris, 1996

## Web-graphie :

- A-** *Aqua-Tools* « eaux sanitaires » Rapport de recherche.
- B-** *A.MAKHLOUFI et DJ. ABDELOUAHIB* « étude de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau potable dans la ville de bechar .sud ouest algerie » 1er Séminaire International sur la Ressource en eau au sahara 2011
- C-** *BOCA. J* « eaux : techniques de prelevement et transport des echantillons » document
- D-** *CAWST* « Introduction à l'Analyse de Qualité de l'Eau de Boisson » manuel, octobre 2013
- E-** Centre D'expertise En Analyse Environnementale Du Québec « Méthodes de prélèvement, de conservation et d'analyse des échantillons relatifs à l'évaluation de la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels » Rapport de recherche, 2009
- F-** *Ecosociosystemes* « Con trôles de la qualité des eaux » Rapport de recherche
- G-** Groupe scientifique sur l'eau « coliforme fécaux » Institut national de santé publique du Québec, Mai 2003

- H-** Groupe scientifique sur l'eau « coliforme totaux » Institut national de santé publique du Québec, Mai 2003
- I-** Groupe scientifique sur l'eau « entrécoques et streptocoques fécaux » Institut national de santé publique du Québec, Mai 2003
- J-** Hydrobio-Analyses « analyse microbiologique de l'eau » rapport de recherche.
- K-** Laboratoires d'analyses S.M. Inc « Analyses microbiologiques et physico-chimiques de l'eau potable »
- L-** L'élaboration de normes d'AFNOR « Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* » Rapport de recherche, Septembre 2009
- M-** Mélinda MAUX, Tristan SIMONART\_« Surveillance microbiologique de l'eau » ; Article de référence 2010
- N-** M. Gérard Miquel «la qualité de l'eau et de l'assainissement en France » Rapport de recherche, 2003.
- O-** *Pierre SERVAIS, Gilles BILLEN, Tamara Garcia-ARMISEN, Isabelle GEORGE, Alexandre GONCALVEZ et Sylvie THIBERT* « La contamination microbienne des eaux du bassin de la Seine » Rapport de recherche.
- P-** *SEFRAOUI Imane* « Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien » ; thèse de doctorat de l'université Abou Bekr Belkaid, 2014/2015
- Q-** techn-eau « Analyse microbiologique en laboratoire » Rapport de recherche, 2011.

## *Conclusion générale*

---

Barrage de Keddara est destiné en grande partie à l'alimentation en eau potable du grand Alger et ses environs, il est donc important de préserver la qualité de son eau et d'adapter les moyens de lutte contre sa pollution.

Parmi les critères de qualité de l'eau distribuée, le paramètre microbiologique mérite la plus grande vigilance car il reflète le risque immédiat pour la santé du consommateur. La réglementation impose la recherche d'indicateurs de contamination fécale cultivables l'*Escherichia coli* et les entérocoques.

Les résultats des analyses microbiologiques obtenus ont révélé que:

- Coliformes totaux sont indénombrables à 37°C et 6 à 44°C par la méthode solide. et Supérieur à 240 par la méthode liquide dans 100 ml d'eau à analyser.
- Absence totale de Coliformes fécaux dans l'eau à analyser que se soit à 37°C ou 44°C par la méthode solide et 22 coliformes fécaux par la méthode liquide dans 100 ml d'eau à analyser
- 12 streptocoques fécaux par la méthode solide et 28 streptocoques fécaux par la méthode liquide dans 100 ml d'eau à analyser.
- absence totale de *Pseudomonas Aeruginosa* dans 100 ml d'eau à analyser.

Ceci peut s'expliquer d'une part par le traitement microbiologique utilisé que les eaux de barrage Keddara sont des eaux brutes, et les résultats obtenus sont des résultats dans les normes microbiologiques des eaux prévues à la consommation humaine. Et les eaux de barrage Keddara sont classées de bonne qualité microbiologique.

Et d'après les normes microbiologiques de l'eau de surface et les résultats des analyses obtenus, il faut que l'eau de barrage doive être passée par des traitements physiques, chimiques et désinfections. Ex : préchloration, coagulation, floculation, décantation, filtration, désinfection (chloration finale).