

République Algérienne Démocratique Et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université De Blida 1



كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

قسم البيولوجيا

## *Mémoire de fin d'études*

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en Biologie

Option : microbiologie

### *Thème*

**Mise en évidence et dénombrement de bactéries  
au moyen de géloses chromogènes ; comparaison  
avec la méthode de référence dans l'analyse des  
eaux**

Présenté par :

soutenu le : 13/09/2022

Mme METIDJI Fatima Ilhem

Mlle MOULOUDJ Ouissam

Devant le jury composé de :

MOUAISSIA.W

MCB

USB1

Président

BOKRETA.S

MCB

USB1

Examinatrice

TOBAL SEGHIR.

MAA

USB1

Promotrice

HAMAID.F

Professeur

USB1

Co-Promotrice

## **Remerciements**

*Avant tous nous tenons à remercier **ALLAH***

*Le tout puissant de nous avoir donné santé, patience et courage pour mener à terme ce modeste travail. Nous remercions vivement notre chère promotrice, Mme **TOBAL SEGHIR GUENOUNE Salima** maitre assistante A à l'université de Blida 1, de l'aide et du soutien qu'il nous a apporté pour la réalisation de ce travail, nous saluons sa disponibilité, ses conseils à la fois éveilleurs et formateurs. Notre Co-promotrice **HAMAIDI F** Professeur à l'université de Blida 1.*

*Nous tenons à remercier la contribution de l'ensemble des membres de jury représenté par :*

*-Présidente du jury : Mme **MOUIASSIA W** Maitre De Conférence B*

*-Examinatrice : Mme **BOKRETA S** Maitre De Conférence B*

*Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail.*

*Nous remercions également le personnel du laboratoire bactériologie et physico-chimie de l'entreprise Société des Eaux et de l'Assainissement d'Alger sans oublier le personnel du laboratoire de l'ADE.*

*. En fin, nous remercions toute personne ayant contribué à l'élaboration de ce travail.*

*Merci infiniment ...*

## ***Dédicace***

*Je dédie ce mémoire*

*A notre **Dieu**, le tout puissant, pour le souffle dont il nous fait grâce, car c'est à lui seul que nous devons notre vie. Que la gloire lui soit rendue.*

*A mon bras droit, mon héros, mon cher «**Papa**».*

*A celle qui a tout sacrifiée pour nous, ma chère «**Ma mère**».*

*Vous êtes et vous serez à jamais ma grande fierté et la source de mon bonheur, que Dieu vous garde pour nous, je vous aime infiniment.*

*A mes frères «**Mahfoud**» «**Rayane**», et mes sœurs «**Rania**» «**Chahinez**» «**Linda**», et toute ma famille.*

*Mes dédicaces vont spécialement à ma binôme «**Ilhem**», grâce à qui ces durs mois de travail ne ressemblaient qu'à de vrais moments de plaisir et d'amitié et de partage.*

*A notre chère promotrice, Mme **TOBAL Salima**.*

*A tous mes amis (es) et mes chers. Et a ma promo **M2 microbiologie 2021/2022***

*Enfin, je dédie ce mémoire à chacun qui a participé à sa réalisation de près ou de loin, merci à tous.*

***Ouissam M***

## ***Dédicace***

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail*

*A mon honneur, mon très cher «**Papa**» qui a guidé mes premiers pas à l'école et qui m'a toujours soutenu ; Que Dieu vous donne santé et longue vie*

*A celle qui attendue avec patience les fruits de sa bonne éducation, qui m'a tout donnée, qui a toujours été là pour moi, a celle qui tient le paradis sous ses pieds, A mon ange «**Ma mère**» que Dieu vous garde pour moi et vous donne santé et de longue vie.*

*A mes sœurs **Kamilia** et **Lilia***

*A celui qui m'a soutenu dans mes choix ; mon bras droit*

*Et avec lui je partagerai le meilleur et le pire, mon cher mari «**Mohamed**» que dieu te garde pour moi et pour nos petits anges **ADEM** et **RIHAM***

*Ainsi que ma belle-mère et toute ma belle famille*

*A mes grands-pères et mes grandes mères vous avez été toujours là pour moi avec vos mots vos encouragements, vos douaa*

*En particulier à ma binôme, **Ouissam** qui a partagée avec moi les bons et les mauvais moments durant toutes les 5 Années universitaires ; merci pour tes encouragements et ton soutien*

*A tous ce qui m'ont donné de la force de continuer ...*

*Et finalement à tous les étudiants de ma section **M2 microbiologie de Blida2021/2022***

***Fatima Ilhem M***

## *Liste des abréviations*

**ADE** : Algérienne des eaux.

**AFNOR** : Association Française de la Normalisation.

**BEA** : Bile Esculin Agar

**C** : Conductivité ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )

**CF** : Coliformes fécaux

**CT** : Coliformes totaux

***E. coli*** : *Escherichia coli*

**EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique.

**ISO** : International Standardisation Organisation (Organisation Internationale de la Normalisation).

**JORADP** : Journal National de la République Algérienne Démocratique et populaire.

**MES** : Matières en suspension

**NTU** : Unité de turbidité néphélométrique

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**ONA** : Office national d'assainissement

**TH** : Titre Hydrotimétrique.

**TSA** : Tryptone Soy Agar

**UFC** : Unités Formant Colonies

**CCA** : Chromocult Coliform Agar

**TTC** : Triphenyl Tetrazolium Chloride

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I</b> : Normes physico-chimiques et organoleptiques.....	12
<b>Tableau II</b> : Normes chimiques.....	13
<b>Tableau III</b> : Normes microbiologiques.....	14
<b>Tableau IV</b> : Relation entre la conductivité et la minéralisation .....	18
<b>Tableau V</b> : Les classes de turbidité de l'eau .....	19
<b>Tableau VI</b> : de matériel et réactifs utilisées dans l'analyse bactériologique .....	<b>Annexe n°4</b>
<b>Tableau VII</b> : les dates de prélèvements des échantillons .....	<b>Annexe n°5</b>
<b>Tableau VIII</b> : Analyse de la variance à un seul facteur.....	<b>Annexe n°6</b>
<b>Tableau IX</b> : Analyse de la variance à deux facteurs des coliformes totaux.....	<b>Annexe n°6</b>
<b>Tableau X</b> : Analyse de la variance à deux facteurs des E. coli.....	<b>Annexe n°6</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure n°1</b> : Aspect des coliformes totaux sur milieu CCA.....	4
<b>Figure n°2</b> : Aspect des colonies <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu chromogène.....	5
<b>Figure n°3</b> : Aspect des colonies sur milieu Chromagar Candida.....	6
<b>Figure n°4</b> : Aspect des colonies <i>Malassezia spp</i> sur milieuCHROMagar <i>Malassezia</i> .....	7
<b>Figure n°5</b> : Aspect des Colonies <i>Streptococcus agalactiae</i> Sur Milieu CHROMAgar.....	7
<b>Figure n°6</b> : Aspect des Colonies <i>Campylobacter</i> thermotolérants Sur Milieu chromogéniques .....	8
<b>Figure n°7</b> : Aspect des Colonies salmonelles sur MilieuCHROMagar Salmonella.....	9
<b>Figure n°8</b> : Aspect des Colonies <i>C. difficile</i> sur Milieu CHROMagar <i>C.difficile</i> .....	10
<b>Figure n°9</b> : Aspect des Colonies sur Milieu CHROMagar Orientation.....	10
<b>Figure n°10</b> : Localisation géographique des sites de l'échantillonnage des eaux de sources (Google Maps, 2022).....	23
<b>Figure n°11</b> : Etapes de prélèvement.....	25
<b>Figure n°12</b> : La rampe de filtration .....	26
<b>Figure n°13</b> : Les entérocoques sur milieu BEA pendant 2h.....	28
<b>Figure n°14</b> : Aspects des colonies coliformes totaux et fécaux sur gélose Tergitol.....	31
<b>Figure n°15</b> : Coliformes sur gélose chromogène.....	33
<b>Figure n°16</b> : Schéma résume la version antérieure et la nouvelle version de la méthode filtration des eaux sur membrane .....	34
<b>Figure n°17</b> : Entérocoques après confirmation sur gélose de BEA (originale).....	44
<b>Figure n°18</b> : Résultats des entérocoques des sources analysées En n germes/100ml.....	45
<b>Figure n°19</b> Aspect Des Colonies Sur Milieu Tergitol (originale).....	46
<b>Figure n°20</b> : Résultats coliformes totaux sur gélose lactosée.....	47

<b>Figure n°21</b> Test de confirmation a l'oxydase .....	47
<b>Figure n°22</b> : Ensemencement Sur gélose TSA.....	47
<b>Figure n°23</b> : Résultats des coliformes totaux sur milieu CCA.....	48
<b>Figure n°24</b> : Coliformes Sur Milieu CCA (originale). .....	49
<b>Figure n°25</b> : Confirmation par test oxydase.....	49
<b>Figure n°26</b> : Résultats des coliformes totaux durant l'étude.....	50
<b>Figure n°27</b> : Production d'indole positif ; apparition d'anneau rouge.....	52
<b>Figure n°28</b> : Résultats des Escherichia coli sur milieu gélose lactosée.....	52
<b>Figure n°29</b> : Résultats des Escherichia coli sur milieu CCA.....	53
<b>Figure n°30</b> : Escherichia coli sur milieu CCA.....	53
<b>Figure n°31</b> : Résultats des Escherichia coli durant l'étude.....	54
<b>Figure n°32</b> : Les valeurs du pH des sources échantillonnées.....	56
<b>Figure n°33</b> : Les valeurs de la conductivité des échantillons.....	57
<b>Figure n°34</b> : Les valeurs de température des sources échantillonnées.....	58
<b>Figure n°35</b> : Les valeurs de la turbidité des sources échantillonnées.....	59
<b>Figure n°36</b> : Variation de la teneur en nitrates dans les échantillons d'eau.....	60
<b>Figure n°37</b> : Les valeurs de sulfates des sources échantillonnées.....	61
<b>Figure n°38</b> : Les valeurs de l'orthophosphate des sources échantillonnées.....	62
<b>Figure n°39</b> : Les valeurs d'aluminium dans les sources échantillonnées.....	62
<b>Figure n°40</b> : Les valeurs du Calcium et Magnésium.....	64
<b>Figure n°41</b> : Les valeurs de la dureté totale des sources échantillonnées.....	64
<b>Figure n°42</b> : Valeurs de nitrites dans les sources étudiées.....	65

## Sommaire

Introduction .....	1
<b>Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</b>	
I. Généralité sur l'eau .....	2
I.1. Les Eaux Souterrains .....	2
I.1.1. Eau de source .....	2
I.1.2. Eau minérale naturelle.....	2
II. Les milieux chromogènes.....	3
II.1. Généralités .....	3
II.2. Les différents types et utilisations des milieux chromogènes.....	4
II.2.1. Milieu chromogène pour les coliformes CCA.....	4
II.2.2. Milieu chromogène pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	5
II.2.3. Milieu chromogène pour les Candidas.....	5
II.2.4. Milieu chromogène pour la détection de <i>Malassezia spp.</i> .....	6
II.2.5. Milieu chromogène pour <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	7
II.2.6. Milieu chromogène pour <i>Campylobacter thermotolérant</i> .....	8
II.2.7. Milieu chromogène pour les salmonelles.....	8
II.2.8. Milieu chromogène pour <i>Clostridium difficile</i> .....	9
II.2.10. – Milieu chromogène Orientation .....	10
III. Législation et textes .....	10
III.1. Textes législatifs .....	10
IV. Les paramètres de qualité .....	14
IV.1. Les paramètres microbiologiques .....	14
IV.1.1. Les coliformes .....	14

IV.1.1.1.	Les	coliformes	
totaux .....			15
IV.1.1.2.	Les coliformes fécaux .....		15
➤ <i>Escherichia coli</i> .....			15
IV.1.2.		<i>Les Pseudomonas</i> .....	16
IV.1.3.	<i>Les Entérobactéries</i> .....		16
IV.2.	Les paramètres physico-chimiques et organoleptiques .....		17
IV.2.1.	Paramètres organoleptiques .....		17
IV.2.2.	Paramètres physiques .....		18
IV.2.3.	Paramètres Chimiques .....		19
❖	Minéralisation Globale .....		19
IV.2.3.1.	Cations .....		19
IV.2.3.2.	Les Anions .....		20
IV.2.4.	Paramètres de toxicité et de pollution .....		21

## Partie expérimentale

### Chapitre I : Matériel et méthodes

I.	Objectif .....	23
II.	Matériel .....	24
III.	Méthodes .....	24
III.1.	Echantillonnage .....	24
III.1.1.	Les prélèvements de l'eau destinée à l'analyse physico-chimique .....	24
III.1.2.	Les prélèvements de l'eau destinée à l'analyse bactériologique .....	24
IV.	Analyses bactériologiques .....	25
IV.1.	Méthode du dénombrement par filtration sur membranes .....	25
IV.1.1.	Recherche et dénombrement des <i>pseudomonas aeruginosa</i> .....	26
IV.1.2.	Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux.....	27
IV.3.1.	Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux (E. coli).....	29
IV.1.1.2.	Sur gélose lactosée au Tergitol et au T.T.C .....	29
➤	Test à l'oxydase .....	30

➤ Test à l'indole .....	30
IV.3.1.1. Sur gélose chromogène CCA .....	31
V. L'analyse physicochimique .....	35
V.1. Le pH .....	35
V.2. Température .....	35
V.3. Conductivité électrique .....	35
V.4. Turbidité.....	35
V.5. Méthode volumétrie ou titrage .....	36
V.5.1. Dosage de la somme du calcium et magnésium .....	36
V.5.2. Titre calcique (TCa <sup>+2</sup> ) .....	36
V.5.3. Dosage du sulfate (SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> ) .....	38
V.5.4. Dosage d'Ortho-phosphore .....	39
V.5.5. Dosage d'aluminium par kit LCK 301 .....	40
V.5.6. Dosage de Nitrates NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .....	40
V.5.7. Dosage des Nitrites.....	41

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

I.	Les résultats des analyses bactériologiques.....	44
	Résultats de la recherche des Pseudomonas aeruginosa.....	44
	Résultats de la recherche et le dénombrement des Entérocoques.....	44
	Résultats de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux.....	46
	• Sur milieu lactosée au Tergitol et au TTC.....	46
	• Sur milieu chromogène.....	48
	Résultats de la recherche et le dénombrement des Escherichia coli.....	51
	• Sur milieu lactosée au Tergitol et au TTC.....	51
	• Sur milieu chromogène.....	53
II.	Les résultats des analyses physicochimiques.....	55
	• Le pH.....	55
	• La conductivité.....	57
	• La température.....	57
	• La turbidité.....	59
	• Le nitrate.....	60
	• Le sulfate.....	60
	• L'orthophosphate.....	61
	• L'aluminium.....	62

- Calcium et Magnésium.....63
- Titre Hydrométrique .....64
- Nitrites.....65

**Conclusion.....67**

**Références bibliographiques.**

**Annexes.**

## ***Résumé***

Ce travail contribue au contrôle physicochimique et microbiologique des eaux de huit sources naturelles de la commune de Chiffa (wilaya de Blida) ; on se référant aux normes de potabilité (algérienne et OMS) ; dont l'objectif est la mise en évidence et le dénombrement des bactéries (coliformes totaux, *E. coli*, entérocoques et *P.aeruginosa*) au moyen de gélose chromogène ; comparaison avec la méthode de référence (gélose Tergitol).

Nous avons déterminé les paramètres physicochimiques suivante (pH, Température, conductivité, turbidité, dosage de Calcium, de Magnésium, d'orthophosphate, d'aluminium, des nitrates, nitrite).

Les résultats que nous avons trouvés montrent que la majorité des paramètres physicochimiques étudiés répondent aux normes admissibles sauf **l'orthophosphate** (les échantillons d'eaux des sources **A** et **B** présentent des teneurs en phosphate qui dépassent largement la valeur maximale admissible à savoir **< 0.5 mg/l** ).

Concernant les résultats bactériologiques on trouve que les eaux présentent une contamination fécale, ils sont donc de mauvaise qualité bactériologique. La comparaison entre les deux méthodes a révélé que l'utilisation de la gélose chromogène est plus facile à réaliser que la méthode utilisant la gélose Lactosée au Tergitol. On a obtenues des résultats clairs grâce aux différents substrats chromogènes permettant la coloration des colonies, et elle est plus rapide jusqu'à 24 h de moins que l'ancienne méthode.

**Mots clés :** Milieu chromogène, gélose lactosée au tergitol, eau de source, contrôle physicochimique, contrôle microbiologique, commune de Chiffa.

## ***Abstract***

In this work we made the physico-chemical and microbiological control of 8 natural spring waters of Chiffa (province of Blida) ; referring to the standards of potability (Algeria and World Health Organization) ; whose objective is the detection and counting of bacteria (total coliforms, E. coli, enterococci and P.aeruginosa) by the use of chromogenic agar ; compared to a reference method (Tergitol agar).

We determined the following physico-chemical parameters (pH, temperature, conductivity, turbidity, calcium, magnesium, orthophosphate, aluminum, nitrate, nitrite).

The results we found showed that in addition to **orthophosphate** (of the water samples from A and B exceeded the maximum allowed value, **< 0.5 mg/ l**).

Regarding the bacteriological results, we found that these waters had faecal contamination, so they were of poor bacteriological quality. A comparison of the two methods shows that the method using chromogenic agar is easier to perform than the method using Tergitol Lactose Agar.

**Keywords :** Chromogenic medium, Tergitol lactose agar, spring water, physicochemical control, microbiological control, commune of Chiffa.

## المخلص

يتمثل هذا البحث في التحليل الفيزيوكيميائي والبكتريولوجي لثمانية مصادر مياه طبيعية ببلدية شفة، ولاية البليدة وذلك استنادا على معايير القابلية للشرب وفقا لمنظمة الصحة العالمية والجزائر. يتمثل هدف هذا العمل في الكشف عن البكتيريا وحسابها (القولونيات الكلية، الاشريكية القولونية والزائفة الزنجارية) على وسط كروموجيني مقارنة مع الطريقة المرجعية (وسط تيرجيتول).

قمنا بتحديد المؤشرات الفيزيوكيميائية الموالية (درجة الحموضة، الحرارة، الموصلية، التعكر، الكالسيوم، المغنسيوم، الاورثوفوسفات، الالمنيوم، النترات، النتريت).

تظهر النتائج المتحصل عليها ان غالبية المؤشرات الفيزيوكيميائية تخضع للمعايير المسموح بها، باستثناء الاورثوفوسفات (تخطى القيمة المسموح بها **0.5مغ/ل** في المصادر أ وب).

نتائج التحليلات البكتريولوجية وجدنا ان المياه بها تلوث برازي، لذا فهي ذات جودة بكتريولوجية رديئة؛ أيضا كشفت المقارنة بين الطريقتين ان استعمال الوسط الكروموجيني أسهل في الأداء من استعمال طريقة وسط تيرجيتول، حيث تم الحصول على نتائج واضحة بفضل ركائز الكروموجينيك المختلفة التي تسمح بتلوين المستعمرات، وهي أسرع حتى 24 ساعة أقل من الطريقة القديمة.

**الكلمات الرئيسية:** وسط كروموجيني، وسط تيرجيتول، مياه مصادر، التحليل الفيزيوكيميائي، التحليل البكتريولوجي، بلدية شفة.



# ***Introduction***

# *Introduction*

---

L'eau est extrêmement importante tant sur le plan biologique qu'économique. L'hydrosphère est le moyen de subsistance et d'équilibre écologique, et une ressource naturelle indispensable et irremplaçable. Elle a une valeur socio-économique environnementale et géopolitique particulière (**Kettab, 2020**).

L'eau peut provenir de nombreuses sources naturelles, tel que les eaux de surfaces, les ruisseaux, les rivières, les lacs et les eaux de sources (**Batool et al ., 2018**).

La consommation d'eau potable est un facteur important dans la prévention des maladies d'origine hydrique. En fait, l'eau est sans danger pour la consommation humaine si elle ne contient aucun élément, substance chimique et/ou biologique susceptible de nuire à plus ou moins long terme à la santé des Individus (**John et Donald, 2010**). Plusieurs polluants provenant de divers champs d'activités humaine, à savoir les déchets agricoles, industriels et urbaines sont conduit souvent vers les eaux naturelles sont traitement préalable. Cela pourrait être la cause de leur pollution (**Bougane et al ., 2019**).

Diverses études sur la qualité de l'eau ont été menées en Algérie, permettant d'évaluer la potabilité, l'aptitude à l'irrigation et l'impact sur la santé humaine et l'environnement (**kahoul et touhami, 2014**).

En ce sens, des normes de qualité sont définies pour évaluer la qualité de l'eau potable au niveau national (**normes algériennes**), international (**normes européennes**) et mondiale (**normes OMS**).

C'est dans ce cadre que cette étude liminaire a été entreprise dont les objectifs sont :  
De réaliser un diagnostic de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau des huit sources dans la commune de Chiffa ; De contrôler l'efficacité d'utilisation des milieux chromogènes dans l'analyse des eaux de sources prélevées du mois de mai jusqu'au mois de Juillet et les comparées avec la méthode de référence.

Notre rédaction est structurée en trois chapitres fondamentaux : chapitre I: englobe une synthèse bibliographique ; chapitre II : présente le matériel et la méthodologie utilisés dans l'étude ; chapitre III : détaille les résultats obtenus ainsi que leurs interprétations.



*Chapitre*  
*bibliographique*

## I. Généralité sur l'eau :

L'eau est un élément indispensable à la croissance et au développement de tous les êtres vivants et de l'homme en particulier (**COCKER et al ., 2019**).C'est un composant essentiel du régime alimentaire de la société ; il joue un rôle essentiel dans l'hydratation ; L'accès à l'eau est un préalable. Préalable à la vie, mais aussi préalable au développement, et constitue le défi le plus important pour l'humanité, en facilitant son accès à chaque personne dans le monde. Malheureusement, comme l'eau de la planète terre est à 97,2 % salée, et que l'eau douce ne représente que 2,8 % de l'eau totale du globe, l'eau devient donc une ressource précieuse. Plus d'un milliard de personnes n'a pas toujours accès à l'eau potable et plus de 50 pays sont menacés par la pénurie d'eau potable à l'horizon de l'année 2025(**MOUSSAOUI et BENHABIB, 2015**).

### I.1. Les Eaux Souterraines :

#### I.1.1. Eau de source :

L'eau de source, Il s'agit d'eaux souterraines, comme les eaux minérales naturelles EMN, mais, en général, faiblement minéralisées (**Roques-Latrilie et al ., 2022** ).Selon le **Décret n° 04-196 15 juillet 2004 ( JO du 15 juillet 2004 )**, l'Eau de source est une eau d'origine exclusivement souterraine, apte à la consommation humaine microbiologiquement saine et protégée contre les risques de pollution.

#### I.1.2. Eau minérale naturelle :

Une eau microbiologiquement saine provenant d'une nappe ou d'un gisement souterrain, exploitée à partir d'une ou plusieurs émergences naturelles ou forées, à proximité desquelles elle est conditionnée. Elle se distingue nettement des autres eaux destinées à la consommation humaine par sa nature caractérisée par sa pureté, et par sa teneur spécifique en sels minéraux, oligo-éléments ou autres constituants. Ces caractéristiques sont appréciées sur les plans :

- géologique et hydrogéologique,
- physique, Chimique et physico-chimique,
- microbiologique,
- pharmacologique.

Ces eaux minérales naturelles peuvent posséder des propriétés thérapeutiques favorables à la santé humaine. **Décret n°04-196 du 27 Joumada El Oula 1425 correspondant au 15 juillet 2004(JO du 15 juillet 2004).**

« L'eau minérale naturelle » se caractérise par une origine souterraine et protégée, par une microbiologie saine (absence de bactéries pathogènes) et par une minéralisation stable, qui peut lui conférer des effets bénéfiques pour la santé. **(Bligny et Harteman, 2004).**

Les eaux minérales naturelles se caractérisent par leur pureté à la source. et par leur teneur constante en minéraux **(Albertini et al., 2007).**

## II. milieux chromogènes :

### II.1. Généralités :

Le premier milieu de culture chromogène (pour la détection d'*E. coli*) a été inventé et breveté par le Dr. A. Rambach, en 1979. L'introduction de ce milieu a déclenché une révolution dans le diagnostic microbien et l'introduction de toute une gamme de milieux chromogènes pour la détection de pathogènes cliniques majeurs présents dans l'alimentaire. Ce sont des milieux gélosés solides permettant, suite à la transformation d'un substrat préalablement incorporé dans la gélose en un produit coloré, l'identification directe de certaines espèces bactériennes. La transformation du substrat en un produit coloré est le résultat de l'action d'une enzyme produite par une ou plusieurs espèces bactériennes. Cette coloration des colonies permet de repérer le microorganisme cultivé sur le milieu et d'orienter son identification **(Stefaniuk, 2018)**. L'aspect attendu de la colonie est le suivant : *E. coli*, rose foncé à rose ; *Enterococcus*, petit bleu-vert ; *Klebsiella*, *Groupe Enterobacter* et *Serratia*, plus grand bleu foncé ; *Amoeba*, *Flore Providencia* et *Morganella*, pâle à beige ; *Staphylococcus saprophyticus*, petit rose pâle et *streptocoque agalactiae*, point bleu clair **(Baron et al., 2008)**.

Tous les milieux chromogéniques étaient cliniquement équivalents en termes de spécificité et de sensibilité et restreint le nombre de tests de confirmation à réaliser par rapport aux tests conventionnels **(Martinet et al., 2016)**.

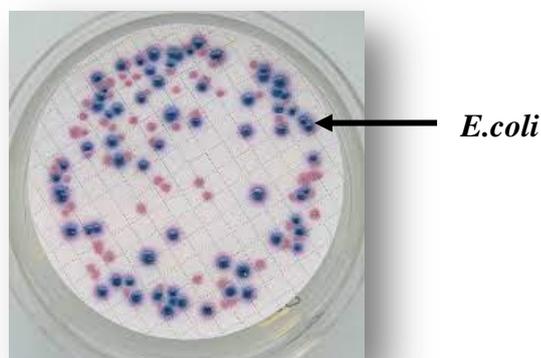
## II.2. Différents types et utilisations des milieux chromogènes :

### II.2.1. Milieu chromogène pour les coliformes CCA :

Selon les normes **ISO 11133 / ISO 9308**, *E.coli*-coliformes Agar chromogène (CCA) est un milieu sélectif pour la détection d'*E.coli* et d'autres coliformes dans les eaux et les aliments. Le mélange chromogène contient différents substrats chromogènes voir **annexe 1**.

La détection de la  $\beta$ -glucuronidase est largement utilisée pour différencier *Escherichia coli*, car l'enzyme est présente chez *E. coli* mais pas chez d'autres groupes de coliformes. La  $\beta$ -D-galactosidase clive Salmon-GAL substrat, et donne une couleur rose aux colonies de coliformes. Et clive le X-glucuronide, donnant une couleur bleue à ces colonies. *E. coli* a les deux enzymes et clive les deux substances chromogènes donnant un bleu foncé à des colonies violettes **Figure n°1**. *E. coli* métabolise à la fois le méthylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (MUG) et l'indoxyl- $\beta$ -D-glucuronide (IBG) (**Haines et al., 1993**). Les coliformes totaux sont la somme des colonies d'*E.coli* et des colonies de rose.

Chez les coliformes, l'enzyme b-D-galactosidase catalyse la dégradation du lactose en glucose et galactose. Cependant, la b-D-galactosidase s'est également avérée être produit par certaines bactéries non coliformes, telles que *Aeromonas* spp. Et *Vibrio* spp. Pour éviter des résultats faussement positifs, causés par des bactéries positives à l'oxydase, les colonies présumées coliformes ont été confirmées par une réaction négative à l'oxydase. (**Palmer et al., 1993; Davies et al., 1995; Alonso et al., 1996**).



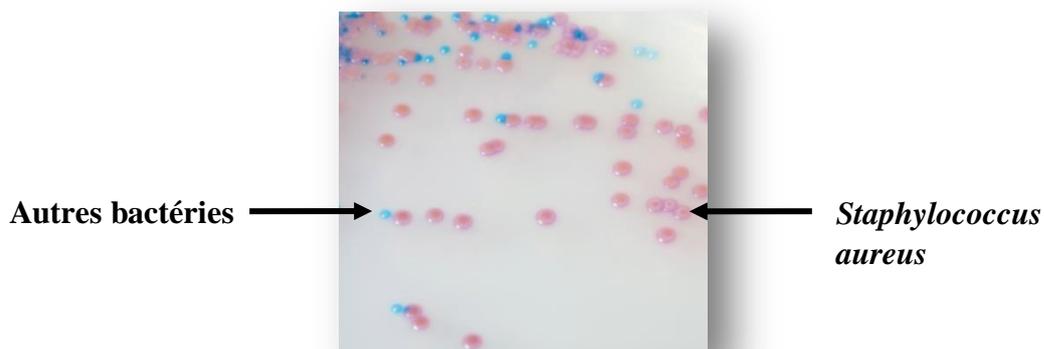
**Figure n°1** : Aspect des coliformes totaux et fécaux sur milieu CCA

## II.2.2. Milieu chromogène pour *Staphylococcus aureus* :

Les milieux traditionnels (basés sur la fermentation du Mannitol) mènent à de nombreux faux négatifs et faux positifs. CHROMagar *Staphylococcus aureus* une sensibilité et une spécificité inégalée pour la détection de *S. aureus* après 24 heures. Ceci évite de nombreux tests d'agglutination latex et catalase sur des souches non *Staphylococcus aureus*.

Des peptones spécialement sélectionnées fournissent des éléments nutritifs. L'addition d'agents sélectifs inhibe la croissance des organismes Gram négatifs, des levures et de quelques cocci Gram positifs. Le mélange chromogène se compose de substrats artificiels (chromogènes), qui libèrent un composé coloré insoluble lorsqu'ils sont hydrolysés par des enzymes spécifiques.(annexe 1).

Les espèces de staphylocoques produisent des colonies roses à mauve (**Figure n°2**), les autres bactéries seront de couleur bleue, incolores ou inhibées (**Gaillot et al., 2000**).

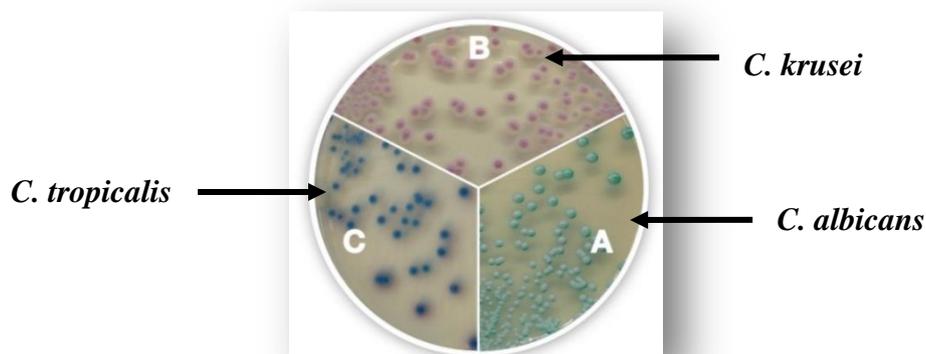


**Figure n°2** : Aspect des colonies *Staphylococcus aureus* sur milieu chromogène.

## II.2.3. Milieu chromogène pour les *Candidas* :

Le Chromagar Candida est un milieu de culture différentiel permettant l'isolement sélectif et simultané des colonies de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida krusei*. La différenciation entre ces espèces est basée sur l'apparition de colonies de couleurs très contrastées, résultant de réactions enzymatiques spécifiques utilisant les substrats chromogènes contenus dans la gélose (**Coignard-Chatain et al., 1998**). Des peptones spécialement sélectionnées fournissent les éléments nutritifs du CHROMagar Candida. Ce

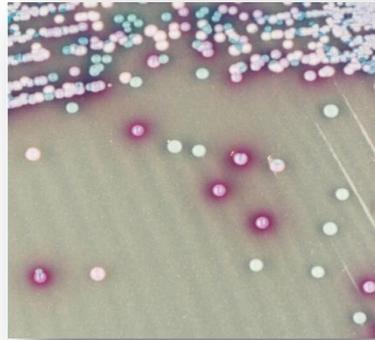
mélange chromogène spécialement mis au point se compose de substrats artificiels (chromogènes) qui libèrent des composés de diverses couleurs lorsqu'ils sont dégradés par des enzymes spécifiques. Cela permet de différencier certaines espèces ou de détecter certains groupes de microorganismes à l'aide d'un nombre minimum de tests de confirmation. Le chloramphénicol inhibe la plupart des contaminants bactériens (**annexe 1**). *C. albicans* (colonies vertes), *C. tropicalis* (colonies bleu métallique) et *C. krusei* (colonies rose pâle et mates) sont ainsi identifiées alors que les autres espèces se présentent sous forme de colonies blanches à mauves, lisses à brillantes (**figure n°3**). Permet une meilleure détection des cultures mixtes. (**Ouanes et al., 2013**).



**Figure n°3** : Aspect des colonies sur milieu Chromagar Candida

#### II.2.4. Milieu chromogène pour la détection de *Malassezia spp* :

*Malassezia* est un champignon naturellement présent sur les peaux humaines et animales. Sur une peau saine, il ne provoque pas d'infections. Mais lorsque la peau est altérée, les *Malassezia* sont à l'origine de diverses maladies cutanées comme la dermatite ou l'otite. CHROMagar *Malassezia* a été développé dans le but de non seulement faciliter la détection mais aussi d'améliorer l'algorithme de différenciation des différentes espèces ses composantes clés (le glycérol et le tw 40) (**annexe 1**), ont été ajoutées au Chromagar. après incubation pendant quatre jours à 30°C, Les colonies de *Malassezia furfurs* ont Larges, roses pâles et rugueuses (**Figure n°4**) basé sur leurs caractères biologiques (production de précipitation autour de tw 40 sur milieu Chromagar (**Ben salah et al., 2010**), les autres *Malassezia spp* incluant *M. globosa* et *M. restricta* sont principalement roses à violettes (**Takamasa et al., 2007**).



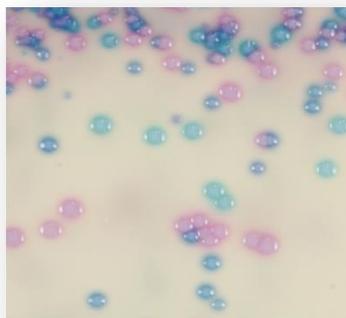
**Figure n°4 :** Aspect Des Colonies *Malasseziaspp* Sur MilieuChromagarmalassezia.(Takamasa et al.,2007).

## II.2.5. Milieu chromogène pour *Streptococcus agalactiae*

Le streptocoque du groupe B (SGB ; *Streptococcus agalactiae*) est la première cause d'infections néonatales (Edwards et Baker, 2005). CHROMAgar StrepB est un milieu sélectif pour la détection et l'identification présomptive des SGB dans les prélèvements vaginaux ou vagino-rectaux. La composition en peptones et substances nutritives favorise la croissance des SGB. Le mélange sélectif composé d'antibiotiques/antifongiques permet d'inhiber la croissance de la majorité des microorganismes, à l'exception des Streptocoques, de certains entérocoques et lactobacilles (annexe 1).

Plusieurs substrats chromogéniques permettent la détection d'activités enzymatiques conférant une coloration caractéristique des colonies des espèces suivantes :

- SGB : Colonies bleues
- Entérocoques : Colonies de couleur rose à violet
- Lactobacilles : Petites colonies de couleur rose. (Figure n°5).



**Figure n°5 :** Aspect Des Colonies *Streptococcus agalactiae* Sur Milieu CHROMAgar StrepB.

## II.2.6. Milieu chromogène pour *Campylobacter* thermotolérant :

C'est une gélose riche contenant des antibiotiques et un antifongique qui facilitent la détection de *Campylobacter* thermotolérants en rouge sur un agar translucide (**Figure n°6**), facilite la lecture par rapport à une gélose traditionnelle à base de charbon où le dénombrement est difficile. Les autres microorganismes seront inhibés par le présence d'un mélange d'antibiotiques tel que : céfopérazone ; inhiber les bactéries à Gram négatif, vancomycine ; inhibe essentiellement les bactéries à Gram positif et Amphotéricine B ; empêchent le développement des levures et des moisissures (**annexe 1**), ou se développeront en bleu (**Bettelheim ,1998**).



**Figure n°6 :** Aspect Des Colonies *Campylobacter* thermotolérants Sur Milieu chromogéniques.

## II.2.7. Milieu chromogène pour les salmonelles :

Les milieux conventionnels pour la détection des *Salmonella* par H<sub>2</sub>S ont une spécificité très faible entraînant de nombreux faux positifs (*Citrobacter*, *Proteus*, etc.). En raison de leur faible spécificité, les milieux conventionnels nécessitent un examen fastidieux d'au moins 10 colonies par échantillon positif. Au contraire, CHROMagar *Salmonella* élimine la plupart de ces faux positifs et permet aux techniciens de se concentrer sur les vrais échantillons contaminés, *Salmonella* spp. apparaissent en Mauve et les autres bactéries en Bleu (**Figure n°7**), incolore ou seront inhibées par L'addition d'un agent antifongique empêche la croissance des espèces de *Candida* tandis que d'autres agents antimicrobiens servent à inhiber la croissance des bactéries à Gram-négatif ne fermentant pas

le glucose ainsi que des espèces de *Proteus*, qui pourraient potentiellement supplanter par leur croissance plus rapide les colonies de *Salmonella* (Gaillot et al., 1999).

Des peptones spécialement sélectionnées apportent les éléments nutritifs. Les organismes à Gram-positif sont en général inhibés du fait de la base sélective du milieu (annexe 1).



**Figure n°7 :** Aspect Des Colonies salmonelles sur Milieu CHROMagar Salmonella.

## II.2.8. Milieu chromogène pour *Clostridium difficile* :

*Clostridium difficile* est la principale cause d'infection nosocomiale responsable de diarrhée chez l'adulte. Même si la PCR est devenue la principale technique de détection de *C. difficile*, la culture reste essentielle pour caractériser la souche et faire l'antibiogramme. CHROMagar *C.difficile* est un nouveau milieu fluorogène, très sensible et spécifique. constituée d'une base nutritive riche associant différentes peptones et du taurocholate favorisant la germination des spores (Rousseau et al., 2009). Elle contient un substrat chromogène (Perry et al., 2010) et un mélange d'antibiotiques permettant :

- La recherche et l'identification des souches de *Clostridium difficile* productrices de  $\beta$ -glucosidase par la coloration caractéristique grise à noire des colonies.
- L'inhibition de la plupart des bactéries Gram (+), bactéries Gram (-), levures et moisissures.(annexe 1)

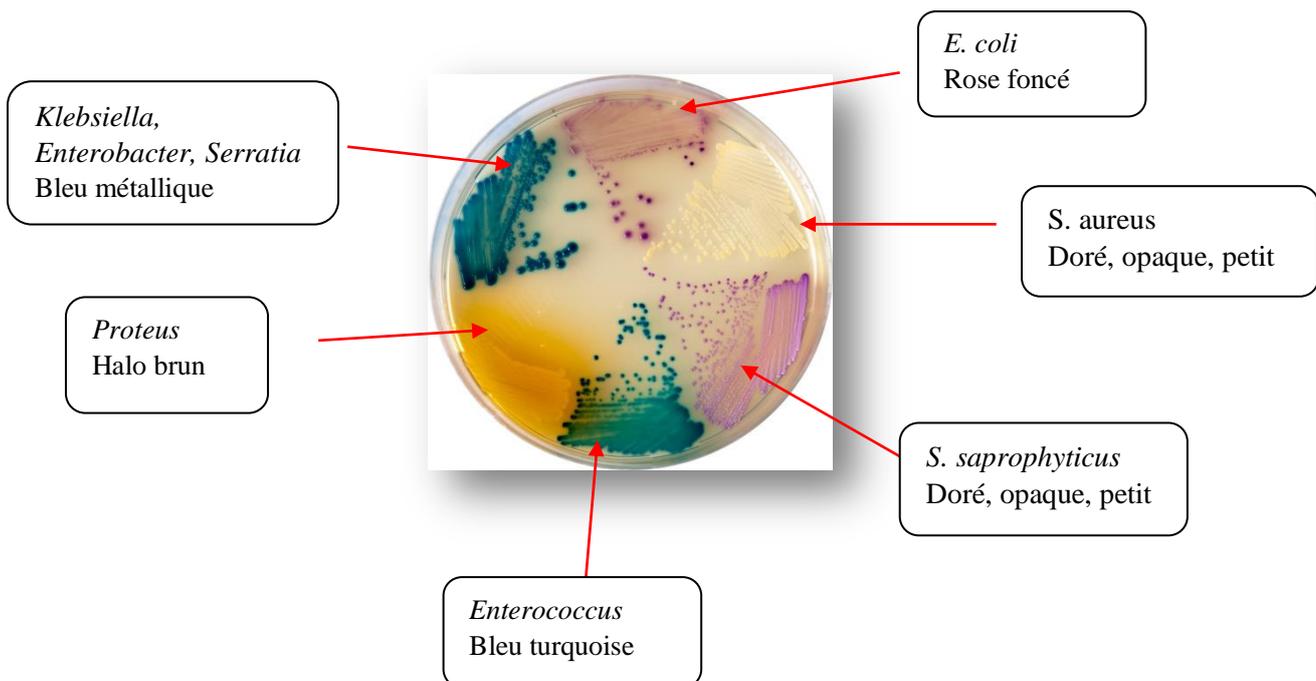
Il a été développé pour simplifier la culture de *C. difficile* et rendre sa détection plus rapide, après 24 h *C. difficile* donne des colonies incolores et fluorescentes sous lumière UV (Figure n°8), Les autres bactéries seront incolores, non fluorescentes ou inhibés (Gaillot et al., 2014).



**Figure n°8 :** Aspect Des Colonies *Clostridium difficile* sur Milieu CHROMagar  
*C.difficile*

## II.2.10. – Milieu chromogène pour l'isolement et la différenciation des agents pathogènes des voies urinaires :

CHROMagar Orientation a une application plus large en tant que gélose nutritive pour l'isolement des différents micro-organismes. Par exemple, CHROMagar Orientation peut être utilisé pour différencier les divers micro-organismes dans d'autres zones infectées, par exemple dans les cicatrices. CHROMagar Orientation est aussi utile lorsqu'il est complété par divers antibiotiques dans la détection des micro-organismes multi-résistants (Merlino et al., 1996).



**Figure n°9 :** Aspect Des Colonies sur Milieu CHROMagar Orientation.

### III. Législation et textes :

L'eau doit répondre à certains critères établissant une concentration "seuil". Pour un certain nombre de substances dangereuses, qui ne doit pas être dépassé.

L'eau potable répond aux normes, qui cependant, exempt de ces substances, à condition que leur teneur soit suffisamment faible ; Ne pas mettre en danger la santé des consommateurs (**Berger, 2004**). La norme est exprimée Par une valeur numérique définissant la limite supérieure de la substance à ne pas dépasser une borne inférieure donnée ou à satisfaire, ou min et max.

#### III.1.Textes législatifs :

Loi n° 05-12 du 28 Joumada Ethania 1426, correspondant au 4 août 2005 ;

L'eau.

✚ Article 111 : Pour l'application de la présente loi :

Eau destinée à la consommation humaine pour :

- Boissons et usage domestique.
- Fabrication de boissons gazeuses et de glaces.
- Préparation de tous les emballages alimentaires et stockage

Aliments.

✚ Article 69 : Protection des ressources en eaux souterraines et de surface

Soumis au contrôle de leurs propriétés physiques,

Chimique, biologique, bactériologique.

Conditions d'échantillonnage et

L'analyse des échantillons est précisée par règlement.

L'Algérie s'est basée sur les normes internationales, pour établir ses propres normes, ont peut dire que c'est une combinaison de normes existantes sur le plan international (**Ghettas, B., 2011**).

**Tableau I :** Normes physico-chimiques et organoleptiques (OMS, 2006 ; UE, 1998 ; Journal Officiel de la République Française [JORF], 2007 ; ministre des ressources en eau algérienne 2011)

GROUPE DE PARAMETRE	Paramètres	Unités	Normes algériennes	Normes françaises	oms	Normes UE
Paramètres physico-chimiques en relation avec la structure naturelle des eaux	PH	Unité pH	$\geq 6.5$ et $\leq 9.5$	$\geq 6,5$ et $\leq 9$	$\geq 6.5$ et $\leq 9.5$	$\geq 6.5$ et $\leq 9.5$
	Conductivité	$\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20°C	2800	$\geq 180$ et $\leq 1\ 000$	Pas de norme	2500
	Température	°C	25	25	Acceptable	25
	Dureté	mg/l	200	Pas de norme	200	Pas de norme
	Alcalinité	mg/l	500	Pas de norme		
	Calcium	mg/l	200	Pas de norme	100	Pas de norme
	Chlorures	mg/l	500	0.0005	250	250
	Potassium	mg/l	12	Pas de norme	12	Pas de norme
	Résidu sec	mg/l	1500	Pas de norme	Pas de norme	Pas de norme
	Sodium	mg/l	200	200	20	200
	Sulfates	mg/l	400	250	500	250
Paramètres organoleptiques	Couleur	mg/l Platine	15	15	Pas de norme	Acceptable
	Turbidité	NTU	5	0.5	5	Acceptable
	Odeur 12°C	Taux dilution	4	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Saveur 25°C	Taux dilution	4	Acceptable	Acceptable	Acceptable

**Tableau II :** Normes chimiques (OMS, 2006 ; UE, 1998 ; Journal Officiel de la République Française [JORF], 2007 ; ministre des ressources en eau algérienne 2011).

paramètres	Paramètres	Unités	Normes algériennes	Normes françaises	Normes OMS	Normes UE
Paramètres chimiques	Aluminium	mg/l	0,2	0.2	0.2	0.2
	Ammonium	mg/l	0,5	0.1	0.5	0.5
	Bore	mg/l	1	1	0.5	1
	Fer total	mg/l	0,3	0.2	Pas de norme	0.2
	Fluorures	mg/l	1,5	1.5	1.5	1.5
	Manganèse	µg/l	50	50	40	50
	Nitrates	mg/l	50	50	50	50
	Nitrites	mg/l	0,2	0.5	0.2	0.5
	Antimoine	µg/l	20	5	20	5
	Argent	µg/l	100	Pas de norme	50	Pas de norme
	Arsenic	µg/l	10	10	10	10
	Cadmium	µg/l	3	5	3	5
	Chrome total	µg/l	50	50	50	50
	Cuivre	mg/l	2	2	2	2
	Cyanure	µg/l	70	50	70	50
	Mercure	µg/l	6	1	6	1
	Plomb	µg/l	10	10	10	10
	Sélénium	µg/l	10	Pas de norme	10	10
	Zinc	mg/l	5	5	3	Pas de norme
	Hydrocarbures polycycliques aromatiques (H.P.A) totaux	µg/l	0,2	0.1	0.1	0.0001
	Pesticides (Totaux)	µg/l	0,5	0.5	0.1	Pas de norme
	Trihalométhanes (THM)	µg/l	0.00001	100	0.004	0.01
Magnésium	µg/l	150	Pas de norme	50	50	

**Tableau III :** Normes microbiologiques (OMS, 2006 ; UE, 1998 ; Journal Officiel de la République Française [JORF], 2003 ; ministre des ressources en eau algérienne 2011)

Groupe de paramètres	Paramètres	Unités	Normes algériennes	Normes françaises	Normes OMS	Normes UE
Paramètres microbiologiques	<i>Escherichia Coli</i>	nb /100ml	0	0	0	0
	Entérocoques	nb /100ml	0	0	Non mentionnées	0
	Bactéries sulfitoréductices y compris les spores	nb/20ml	0	0	0	0
	Coliformes totaux et fécaux	nb /100ml	0	Non mentionnées	0	Non mentionnées
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	nb /100ml	0	Non mentionnées	0	Non mentionnées
	Spores et bactéries	nb/20ml	Non mentionnées	Non mentionnées	0	
	Chlostridium sulfito-réducteurs	nb /100ml	Non mentionnées	Non mentionnées	0	Non mentionnées
	Streptocoques fécaux	nb /100ml	Non mentionnées	Non mentionnées	0	Non mentionnées

#### IV. Paramètres de qualité :

##### IV.1. Paramètres microbiologiques :

##### IV.1.1. Coliformes :

Sont des bactéries qui, à la température spécifiée, c'est-à-dire. 30°C, 35°C ou 37°C. Provoquent la fermentation du lactose avec production de gaz, et la formation des colonies caractéristiques en gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre. (**Bernard J, 2000**).

## IV.1.1.1. Coliformes totaux :

Sont utilisés depuis longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Les CT 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 (**Benajiba et al ., 2013** ).

## IV.1.1.2. Coliformes fécaux :

Les CF (ou coliformes thermo tolérants), sont un des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de **44,5 °C**. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des Coliformes fécaux détectés. Bien que la présence de ces bactéries témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale (**Groupe Scientifique sur l'eau, 2003**).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, les coliformes fécaux permettent de détecter une contamination fécale découlant (**Benajiba et al ., 2013** ).

- *Esherishia coli*

*E. coli* fait partie de la flore normale des mammifères et a été proposé comme indicateur primaire de l'eau potable dans les années 1890 (**Prescott et Winslow, 1915**).Puisqu'elle est considérée comme étant le meilleur indicateur d'une contamination récente du milieu aquatique par du matériel fécal, On croyait à l'époque que la plupart des événements de contamination de l'eau potable étaient d'origine fécale et, par conséquent, la méthode des coliformes totaux a détecté une forte proportion d'*E. coli*, impliquant directement une menace pour la santé publique. Malheureusement, s'il était vrai que la plupart des coliformes totaux étaient des *E. coli* au début des années 1900, ce n'est plus vrai aujourd'hui.

Grâce à la mise en œuvre de techniques modernes de construction et d'ingénierie, la grande majorité des échantillons positifs pour les coliformes totaux provenant des réseaux de distribution ne contiennent pas d'*E. coli*, n'est plus valable (Edberg et al., 2000). Certaines souches d'*E. coli* et de certaines bactéries pathogènes opportunistes peuvent causer de graves maladies chez les patients débilisés (Benajiba et al., 2013).

#### IV.1.2. *Pseudomonas* :

Sont des bacilles à Gram négatif non fermentant (BGNnF), aérobies strictes, ils se développent plus facilement dans un environnement humide. Le *Pseudomonas* est un germe opportuniste pathogène à l'origine d'infections nosocomiales graves, dont l'extrême virulence va s'exprimer en présence de conditions idéales offertes par les centres de brûlés et leurs patients immunodéprimés soumis aux techniques invasives. Très résistants à de nombreux antibiotiques. Ils possèdent également la capacité d'acquiescer très rapidement d'autres résistances soit par mécanisme enzymatique (protéases, bêta-lactamases à spectre élargi [BLSE], type céphalosporines, imipénèmes) soit par mécanisme non enzymatique (impermeabilité) (Chaibdraa et al., 2008). Selon Chaibdraa et al. (2008), dans ces infections nosocomiales, *Pseudomonas aeruginosa* est le sous-groupe le plus fréquemment isolé, auquel il faut ajouter que 90% des *Pseudomonas sp.* isolés sont en fait des *Pseudomonas aeruginosa*.

#### IV.1.3. *Entérocoques* :

Les entérocoques appartiennent au genre bactérien *Enterococcus*. Ce sont des bactéries Gram positif, de forme sphérique, se présentant seules, en paires ou en chaînettes. Les entérocoques sont présents naturellement dans les intestins des humains et d'une gamme d'animaux, dont les mammifères, les oiseaux, les reptiles et les insectes. Les excréments humains et animaux constituent un habitat pour pratiquement toutes les espèces d'entérocoques (Byappanahalli et coll., 2012). Des entérocoques ont aussi été détectés dans des milieux environnementaux divers (Staley, 2014).

La classification des entérocoques a évolué au cours des années. Ces bactéries ont d'abord été considérées comme une division du genre *Streptococcus*. Les entérocoques ont aussi porté le nom de streptocoques fécaux, car ils ont été découverts dans des intestins

d'animaux. L'élaboration de méthodes moléculaires a mené à la création d'un nouveau genre, *Enterococcus*, en 1984 (Fisher et Phillips, 2009).

## IV.2. Paramètres physico-chimiques et organoleptiques :

L'eau destinée à la consommation humaine doit être conforme à la réglementation générale. Toutes les mesures appropriées pour maintenir l'hygiène et la santé humaine.

### IV.2.1. Paramètres organoleptiques :

#### Couleur :

L'eau potable ne doit pas présenter une couleur. En général, elle est due à la présence de substances colorantes, qui consistent principalement en :

- Présence naturelle de minéraux, notamment de fer et de manganèse.
- Eutrophisation (croissance excessive d'algues et de plancton) et Décomposition végétale.
- Industrie chimique (teinture et industrie textile).

La couleur de l'eau est indésirable car elle soulève toujours des questions sur ses propriétés.

Pour le rendre plus facile à boire, il faut le retirer (Dégremont, 1989).

#### Odeur :

Une eau destinée à l'alimentation doit être inodore. La présence d'une odeur est un signe de pollution ou de la présence de la matière organique en décomposition.

(Roder, 2005).

#### Goût et saveur :

Une saveur peut être définie comme un ensemble de goûts, d'odeurs et de goûts. Sensibilités chimiques courantes ressenties lorsque des liquides sont dans la bouche.

Le goût peut être défini comme un ensemble de sensations perçues suite à :

Stimulation des papilles gustatives par certaines substances solubles (Rodier, 2005).

## IV.2.2. Paramètres physiques :

### ✚ Température :

La température de l'eau potable doit être basse en été et élevée en hiver à la température de l'air. Pour que l'eau se désaltère, sa température doit être comprise entre 8°C et 15 °C (**Rodier, 1984**).

Elle agit aussi comme un facteur physiologique influençant sur le métabolisme de croissance des micro-organismes vivant dans l'eau (**Rodier et al 1996**).

### ✚ Potentiel d'hydrogène (pH) :

Le pH de l'eau est une mesure de la concentration en ions hydrogène (H<sup>+</sup>). En fait, l'échelle de pH va de 0 (très acide) à 14 (très alcalin) ; la valeur médiane "7" correspond à une solution neutre à 25°C. Le pH n'a pas de signification hygiénique, mais il présente une notion très importante pour la détermination de l'agressivité de l'eau (**Rodier, 1984**).

Le pH d'une eau potable comprise entre  $\geq 6.5$  et  $\leq 9.5$  (**JORAD,2011 ;OMS, 2006**).

### ✚ Conductivité :

La conductivité électrique est la capacité à conduire le courant électrique entre deux électrodes .elle dépend de la présence des ions et de leur concentration relative, ainsi que de la température à laquelle s'opère la mesure.

Les mesures de conductivité peuvent donc faire des déclarations sur la quantité de sel dissous dans l'eau (**Zeghoud, 2014**).Le tableau IV représente la relation entre la conductivité et la minéralisation.

**Tableau IV** : Relation entre la conductivité et la minéralisation (**Rejsek, 2002**).

Conductivité ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Minéralisation
$C > 100$	Très faible
$100 < C < 200$	Faible
$200 < C < 333$	Moyenne
$333 < C < 666$	Moyenne accentuée
$C > 1000$	Elevée

## **Turbidité :**

La turbidité a pour origine la présence de matière en suspension (MES) qui donne un aspect trouble à l'eau. Autrement dit, c'est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes (**Rodier et al., 2009**).

Pour la sécurité du consommateur, l'eau destinée à la consommation doit présenter une turbidité inférieure à 5 NTU selon (**JORAD, 2011 ;OMS, 2006**).

Les classes de turbidité usuelles sont représentées dans le tableau V.

**Tableau V :** Les classes de turbidité de l'eau (**Rodier et al., 2009**).

NTU<5	Eau claire
5<NTU<30	Eau légèrement trouble
NTU>50	Eau trouble

## **IV.2.3. Paramètres Chimiques :**

### **Minéralisation Globale :**

La minéralisation de la plupart des eaux est dominée par huit ions appelés couramment les ions majeurs. On distingue les cations calcium, magnésium, sodium, potassium, les anions chlorures, sulfates, nitrates et bicarbonates (**Rodier et al., 2009**).

#### **IV.2.3.1. Cations :**

##### **Calcium (Ca<sup>2+</sup>) :**

Il provient principalement de la dissolution des calcaires et des marnes. Sa présence en grande quantité peut être aussi due à la dissolution du gypse. La dissolution ou la précipitation du calcaire dépend de la teneur en CO<sub>2</sub> et du pH.

Les eaux potables de bonne qualité renferment 100 à 140 mg/l de  $\text{Ca}^{2+}$  (Saidi, 2014), inférieure à 200 mg/l selon la norme algérienne et inférieure à 100 mg/l selon la norme OMS (JORAD, 2011 ; OMS, 2006).

## ✚ Magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) :

Constitue l'élément significatif de la dureté de l'eau avec les ions de calcium, c'est l'un des éléments les plus répons dans la nature (Rodier et al., 2009).

D'une part, il peut avoir des origines dérivées de la dissolution des roches (Dolomite, magnésite, basalte, argile) et d'autre part origine industrielle. Le Magnésium en excès dans l'eau (supérieure à 100mg/l) donne une saveur désagréable à l'eau (kammer, 1984).

## ✚ Sodium ( $\text{Na}^+$ ) :

Le sodium est l'élément alcalin présent dans les sels sous forme d'ion  $\text{Na}^+$ . C'est un composant de l'eau, mais sa teneur peut varier considérablement d'une méthode générale. Il est très soluble dans l'eau et se produit à des concentrations assez faibles dans l'eau brute. Le dépassement de la teneur affectera la qualité organoleptique de l'eau lorsqu'il dépasse 200 mg/l (Si Abderrahmane, 2016).

## ✚ Potassium ( $\text{K}^+$ ) :

Le potassium est rarement présent dans l'eau il est donc moins abondant que le sodium, À des concentrations supérieures à 20 mg/l. Il n'y a pas d'inconvénients particuliers, mais  $^{40}\text{K}$  est l'une des sources radioactives dans l'eau. Les eaux potables de bonne qualité renferment 12 mg/l de  $\text{K}^+$  selon la norme algérienne et la norme OMS (JORAD, 2011 ; OMS, 2006).

### IV.2.3.2. Les Anions :

#### ✚ Chlorures ( $\text{Cl}^-$ ) :

Les chlorures sont naturellement présents dans les eaux. Leur origine est essentiellement géologique (argile, marnes, et calcaire dolomitiques), Elle ils peuvent issu également d'une pollution organique par les pesticides Organochlorés, détergents, épaves et eaux usées

industrielles. Dans les eaux de surfaces il est présent en faible concentration, alors que dans les eaux souterraines, il peut également atteindre quelques grammes par litre au contact avec certaines formations géologiques (**Lapegue et Ribstein, 2006**).

Les directives de l'Union Européenne et de l'O.M.S précisent qu'au-delà d'une concentration de 250 mg/l de chlorure ( $\text{Cl}^-$ ), des risques peuvent s'apercevoir sur le plan sanitaire (**JORF, 2007 : OMS, 2006**), alors que selon la norme algérienne (**JORAD, 2011**), il affecte la qualité physico-chimique de l'eau lorsque la teneur dépasse 500mg/l

#### **Les sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) :**

Ils proviennent des argiles, des marnes, des matières d'origine animale (matières fécales) et des détergents. Les sulfates participent au métabolisme des bactéries sulfite-réductrices contenues dans l'eau qui transforment les sulfates en sulfures avec dégagement de gaz sulfureux créant des perturbateurs environnementaux (**Mizi, 2006**).

La limite supérieure admise dans l'eau potable est 400 mg/l selon la norme algérienne (**JORAD, 2011**), 500mg/l selon la norme OMS (**OMS, 2006**), et 250mg/l selon la norme de l'Union européenne (**UE, 1998**).

#### **IV.2.4. Paramètres de toxicité et de pollution :**

La pollution des eaux peut avoir de multiples origines (**Kherifi, 2016**). La présence de composants toxiques dans l'eau est nocive pour la santé lorsque la consommation est régulière. Les toxines sont composées de micropolluants inorganiques (métaux lourds)

On distingue :

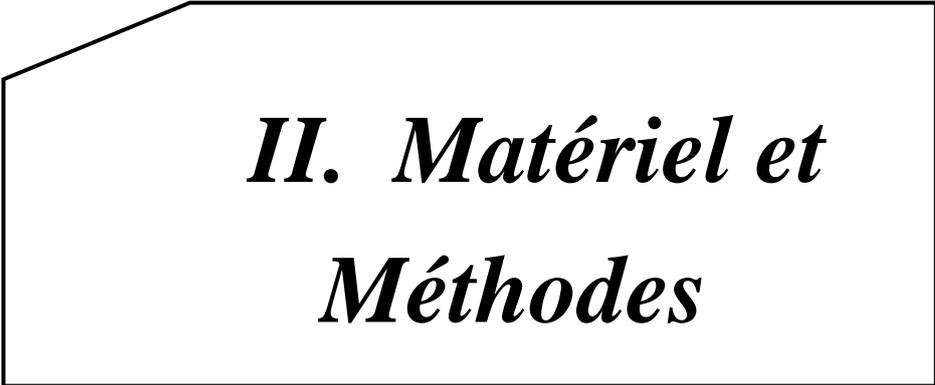
 **Arsenic (As) :** Tous les composés d'arsenic comportent des risques de toxicité humains, mais ceux-ci varient en solubilité dans l'eau (**Potelon, 1998**).

 **Cadmium (Cd) :** Le cadmium est un élément toxique même en petite quantité. Peut causer les cancers des voies respiratoires, notamment du poumon (**Potelon, 1998**).

 **Plomb (Pb) :** Les eaux de surface atteignent des concentrations de 600  $\mu\text{g/l}$ . S'enlève facilement avec les traitements conventionnels (**Potelon, 1998**).

- ✚ **Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ )** : L'ammonium est la forme d'azote la plus toxique. Sa présence dans l'eau y est également associée aux rejets urbains et industriels ou des formes d'azote (nitrites et nitrates). conditions sont réduites. (**PourriotteMeybek 1995**).
- ✚ **Nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )** : le Nitrite s'est considéré comme un élément toxique et est la forme la plus instable du cycle de l'azote. Cela est dû à la réduction de l'ammonium  $\text{NH}_4^+$ . Son origine est liée aux déchets agricoles, municipaux et industriels (**Aouissi et Houhamdi, 2014**).
- ✚ **Nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )** : Le nitrate est l'état d'oxydation final de l'azote organique. Ils sont Abondants dans le sol, les plantes et la plupart des plans d'eau. soluble. Ils se produisent naturellement dans les eaux souterraines et les eaux de surface. sans ça Approvisionnées artificiellement, les eaux de surface contiennent moins de  $10 \mu\text{g/l}$  de nitrate (**Lepertier, 2005**).
- ✚ **Phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ )** : Les ions nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) sont un stade intermédiaire entre l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et les ions nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). Les bactéries nitrifiantes (nitrosomonas) transforment l'ammonium en nitrites. Ce processus, qui nécessite une forte consommation d'oxygène, est la nitrification. Le nitrite se forme lors de la réduction bactérienne du nitrate appelée dénitrification. La toxicité augmente avec la température (**Rodier, 2005**).
- ✚ **phosphore (P4)** : Une eau riche en phosphore favorise le développement du phytoplancton (eutrophisation), entraînant le dépôt de matière organique dans la nappe. Il confère également à l'eau un goût et une odeur désagréables (**Degremont, 2005**).





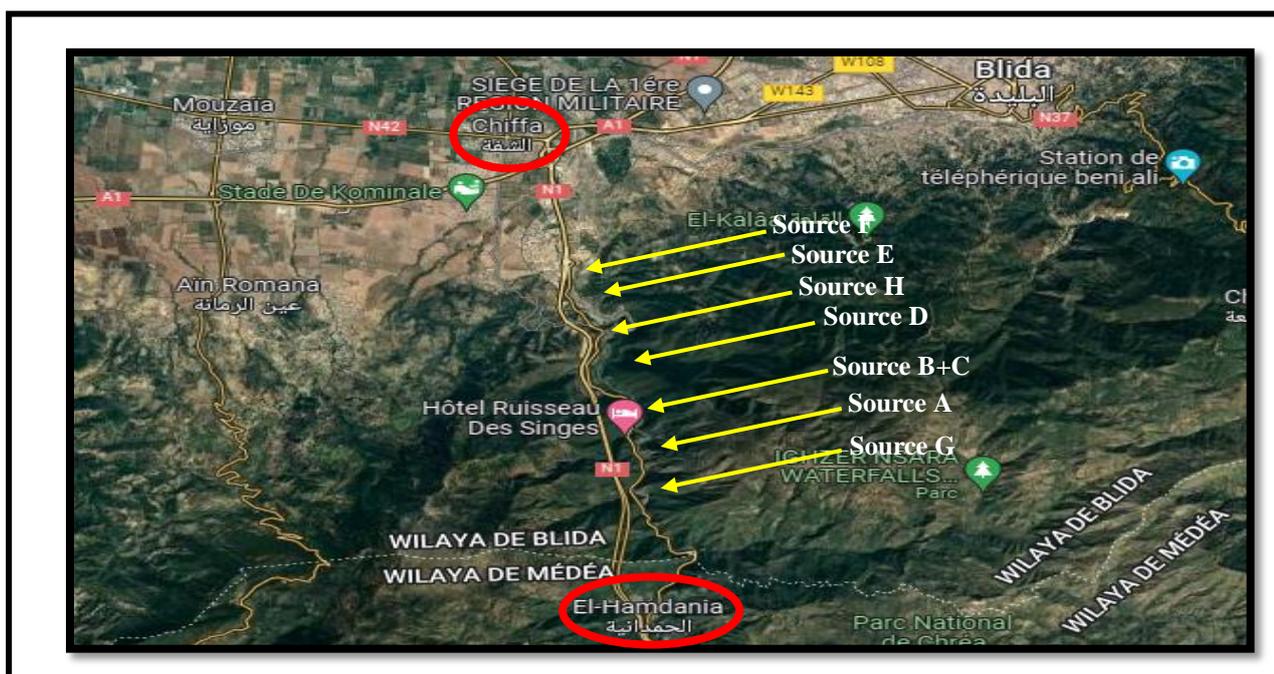
## ***II. Matériel et Méthodes***

**I. Lieu de stage :**

Notre travail s'est étalé sur les mois de mai, juin et juillet. Les analyses bactériologiques et physico-chimiques ont été effectuées au sein du laboratoire centrale de SEAAL –Kouba de la wilaya d'Alger ainsi qu'au niveau du laboratoire de microbiologie de l'ADE-Chiffa (Blida).

**✚ Description de la région d'étude :**

La **figure n° 10**, ci-dessous présente la localisation géographique des sources en question.



**Figure n°10** : Localisation géographique des sites de l'échantillonnage des eaux de sources (Google Maps, 2022).

### II. Matériel :

Le matériel utilisé dans notre étude est représenté par l'appareillage, la verrerie, les additifs, les réactifs et les milieux de cultures habituellement trouvés dans un laboratoire d'analyses physico-chimiques et microbiologiques (**Annexe n°4**).

### III. Méthodes :

#### III.1.Méthode d'échantillonnage :

Nous avons effectué au total dix prélèvements pour les analyses physico-chimique et bactériologique des eaux répartis comme suit : deux prélèvements donc seize échantillons pour les analyses physico-chimiques et huit prélèvements donc soixante-quatre échantillons pour les analyses bactériologiques.

Le mode de prélèvement varie selon l'origine de l'eau ainsi que la nature de l'analyse effectuée analyses physico-chimiques ou bactériologique (**Rodier et al., 2009; Rejsec et al., 2002**).

##### III.1.1. Méthode de prélèvement de l'eau destinée à l'analyse physico-chimique :

Le prélèvement des échantillons conformément à norme [ISO 5667-1] pour les analyses physicochimiques, est d'une grande importance puisque les résultats reflètent directement les caractéristiques physico-chimiques de l'eau prélevée.

Les échantillons d'eau destinés aux analyses physico-chimiques ont été prélevés dans des flacons en plastique d'une capacité de **1.5 litres**. Au moment du prélèvement, les flacons ont été rincés trois fois avec l'eau à prélever. Les échantillons ont été acheminés au laboratoire, où ils ont fait l'objet de suivi des paramètres physico-chimiques (**Bernard et al., 2009**).

##### III.1.2. Méthode de prélèvements de l'eau destinée à l'analyse bactériologique :

Les échantillons pour analyse bactériologique ont été prélevés, après avoir flambé le point de puisage, dans des flacons en verre de **250 ml** de capacité, pré-stérilisés dans un autoclave à **120°C** pendant **20 minutes**. Ces flacons contiennent du thiosulfate de sodium qui a pour rôle de neutraliser le chlore (**Rodier et al., 2005**).

#### Protocole de prélèvement :

Pour le prélèvement des échantillons d'eau destinés à une analyse bactériologique il faut :

- flamber le point d'échantillonnage et laisser couler l'eau pendant une à deux minutes sous la protection de la flamme avant de prélever ;
- ouvrir et introduire le flacon pour commencer le prélèvement ;
- remplir le flacon presque totalement (laisser un espace d'air) et remettre le bouchon ;
- étiqueter le flacon en mentionnant le nom de la source, la date et l'heure de prélèvement.



**Figure n°11 : Etapes de prélèvement (photo originale).**

### **✚ Transport et stockage des échantillons :**

La norme **NF T 90-420 de février 1987** indique que les échantillons doivent être maintenus à une température comprise entre **1** et **4°C** dès leur prélèvement, L'analyse bactériologique a commencé dès l'arrivée au laboratoire dans un délai ne dépassant pas les **24 heures** suivant le prélèvement des échantillons dans des glacières (isothermes).

## **IV. Analyses bactériologiques :**

### **IV.1. Méthode de dénombrement par filtration sur membranes :**

#### **✚ Principe :**

Cette technique consiste à filtrer l'eau sur des membranes de porosité **0.45µm** qui retiennent les microorganismes recherchés. Ces dernières sont montées dans un appareil à filtration (une rampe de filtration) d'eau brute ou diluée. Les membranes sont ensuite

appliquées sur des milieux de culture coulés en boîtes Pétri. Après incubation, les colonies développées seront dénombrées et éventuellement prélevées pour être confirmées et/ou étudiées.

Cette technique nécessite une préparation au préalable, qui se déroule selon les étapes suivantes :

- Tout d'abord, il faudrait stériliser l'entonnoir en acier inoxydable ainsi que la base poreuse à l'aide du bec bunsen.
- Les refroidir tout de suite après, avec l'eau distillée ou avec l'eau à analyser si on dispose d'une quantité suffisante.
- Mettre en place à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile de façon aseptique une membrane d'une porosité nominale de **0.45µm**.
- Déposer ensuite aseptiquement **100 ml** de l'eau à analyser devant le bec bunsen
- Actionner ensuite la pompe à vide.
- Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement la membrane à l'aide d'une pince stérile, en surface ou en profondeur de la boîte Pétri selon le germe qu'on veut rechercher (Rejski., 2002 ; CFMET., 2012).



Figure n°12 : La rampe de filtration (originale).

### IV.1.1. Recherche et dénombrement des *Pseudomonas* : [ISO 16266:2006]

✚ Principe :

L'identification des souches de *P. aeruginosa* est facilitée par la production très fréquente d'une molécule aromatique (o-aminoacétophénone) ayant une odeur caractéristique d'acacia, et de pigments, la pyocyanine (bleu) spécifique de l'espèce.

### Milieu d'isolement :

- Gélose au cétrimide

### Méthode :

- Filtrer **100 ml** de l'échantillon à analyser sur une membrane filtrante.
- Placer la membrane filtrante sur la gélose au cétrimide en veillant à ce qu'il n'y ait pas d'air en dessous, retourner la boîte de Pétri.
- Incuber à **(36 ± 2) °C** pendant **(21± 3)** heures.

### Lecture :

L'obtention de colonies présentant une pigmentation caractéristique bleue ou bleu-vert et une fluorescence sous ultraviolets à **(360 ± 20)** n'oriente vers *Pseudomonas aeruginosa*.

## IV.1.2. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux :

Reconnus depuis le début du siècle comme ayant une origine fécale, les entérocoques (autrefois confondus avec les streptocoques fécaux) sont couramment recherchés dans les analyses des eaux et de produits alimentaires. Leur détection peut en effet signaler la présence d'organismes entéro-pathogènes. Bien qu'ils soient quasiment omniprésents, leur « niche d'élection » est la sphère intestinale. Rejetés dans l'environnement avec les fèces humaines ou les déjections animales, ils sont alors disséminés dans diverses niches occasionnelles (Flahaut et al., 1997).

### Milieu d'isolement :

Gélose de **Slanetz et Bartley**+ additif **TTC 1%**

### Milieu de confirmation :

Gélose **B.E.A**

### Préparation des milieux de culture :

- Utiliser un bain marie à une température de **100° C**.
- Faire fondre le flacon de **250 ml** contenant la gélose stérile de Slanetz et Bartley.

-Refroidir à une température de **50°C**.

-Rajouter le **T.T.C 1%**.

-Couler la gélose contenant le **T.T.C** dans les boîtes de Pétri et laisser solidifier.

### + Méthode :

- Filtrer **100 ml** de l'échantillon à analyser sur une membrane filtrante.
- Retirer la membrane de son support à l'aide de la pince préalablement passée à la flamme et la placer à l'endroit sur le milieu Slanetz et Bartley(**T.T.C.**), en s'assurant que des bulles d'air ne soient pas emprisonnées sous la membrane.
- Incuber les boîtes Pétri à l'envers, à **36 °C ± 2 °C** pendant **44heures ±4 heures**.

### + Lecture :

Examiner les membranes et considérer comme Entérocoques fécaux présumés toutes les colonies qui, quelle que soit leur taille, présentent une coloration rouge, marron ou rose, soit à leur centre, soit à leur périphérie.

### + Confirmation :

-A l'aide d'une pince stérile, transférer le filtre sur la gélose Bile Esculine.

-Incuber le milieu à **44°C ± 0,5°C** pendant **2 heures**.

### + Calcul du résultat :

Dénombrement des colonies rouges foncées entourées d'un halo noir **figure n°9**. La mesure est à exprimer en **UFC** pour **100 ml** d'eau (**Rodier, 2009**).



**Figure n°13** : Les entérocoques sur milieu BEA pendant 2h.

#### **IV.1.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :**

Les coliformes totaux ont servi d'indicateur de contamination des eaux de boisson depuis le début des années **1900** et sont fréquemment utilisés pour analyser les effluents d'eaux usées. Cependant, de nouvelles études ont montré que les coliformes totaux ne sont pas utiles en tant qu'indicateur de contamination fécale de l'eau de boisson, et qu'ils ne permettent pas de tirer de conclusions en termes sanitaires ou de santé publique (**OMS, 2011**).

##### **IV.1.3.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux sur gélose lactosée au Tergitol et au T.T.C : [ISO/TC147/SC4].**

###### **✚ Milieu d'isolement :**

- **Gélose Tergitol base avec les additifs Tergitol 7 et TTC Tergitol.**

La composition ainsi que le mode de préparation du milieu sont mentionnés dans **l'annexe n°1**

###### **✚ Milieu de confirmation et d'identification :**

- **TSA** (Gélose tryptonée au soja)

- **Bouillon tryptophane exempt d'indole**

###### **Réactif de confirmation**

- Réactif de l'oxydase.

- Réactif Kovacs.

###### **✚ Méthode :**

- Filtrer **100 ml** de l'échantillon à analyser sur une membrane de filtration.

- Déposer la membrane sur le milieu sélectif (gélose lactosée au Tergitol et au T.T.C.) en prêtant attention à ne pas piéger de bulles d'air.

-Incubation à **36 ± 2 °C** pendant **24 h**, le couvercle vers le bas.

###### **✚ Lecture :**

Examiner les membranes et considérer comme positives toutes les colonies petites, lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentés en jaune orangé ou en jaune (lactose positives). (**El Allaoui et al., 2016**).

 **Confirmation :**

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

➤ **Test à l'oxydase :**

-Pour les besoins de ce test, effectuer tout d'abord un repiquage sur gélose **TSA** pour différencier les *E. coli* des coliformes totaux, à incuber à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant  $21 \pm 2$  heures, puis effectuer le test de la façon suivantes :

-Imbiber un disque d'oxydase avec une goutte d'eau distillée stérile puis déposer une colonie caractéristique.

-La réaction positive est immédiate et se traduit par un virage au bleu violet foncé

➤ **Test à l'indole :**

Pour cela, transférer les colonies caractéristiques dans un tube contenant **3 ml** de bouillon tryptophane exempt de indole. Bien triturer la colonie dans le milieu puis incuber 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 (**AHPA, 1995**).

 **Identification :**

Est considérée comme **bactérie coliforme**, toute colonie caractéristique (jaune), **dépourvue de l'enzyme oxydase et non productrice d'indole**.

Est considéré comme bactérie *Escherichia coli*, toute colonie caractéristique (rouge), **dépourvue de l'enzyme oxydase, mais productrice d'indole à  $44^\circ\text{C}$** .

✚ **Calcul du résultat :**

Calculer ensuite le nombre de **bactéries coliformes lactose positives** à part, celle des *Escherichia coli* à part ; le résultat final sera exprimé selon l'équation mathématique suivante :

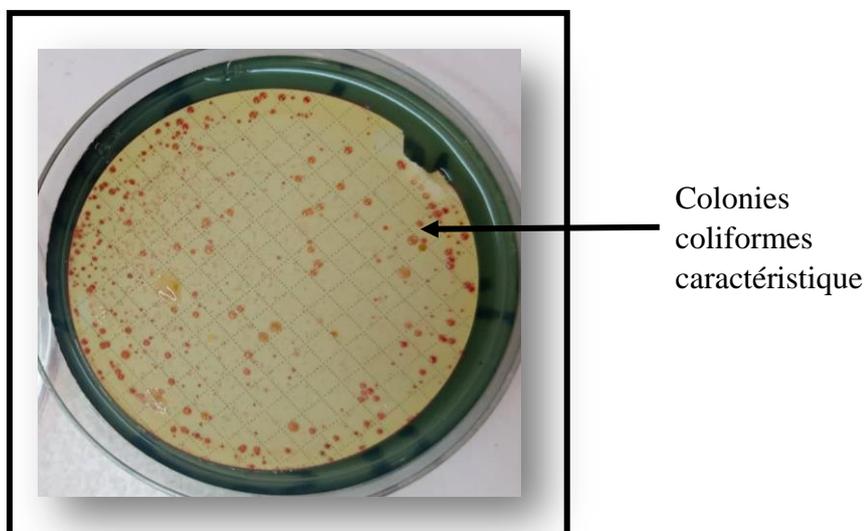
$$a = \frac{b}{A} c$$

Où :

***b*** : Nombre de colonies caractéristiques présumées dans la boîte.

***A*** : Nombre de colonies repiquées.

***C*** : Nombre total de colonies trouvées dans la boîte.



**Figure n°14 :** Aspects des colonies coliformes sur gélose Tergitol (**originale**).

**IV.1.3.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux sur gélose chromogène CCA :**

✚ **Principe :**

La présence simultanée de deux substrats chromogènes permet la détection des deux activités enzymatiques spécifiques : **la  $\beta$ -galactosidase et la  $\beta$ -glucuronidase.**

Les bactéries appartenant au groupe des coliformes se distinguent par la production d'une  $\beta$ -galactosidase ( **$\beta$ -gal**). Cette enzyme réagit avec le mélange chromogène pour former un précipité de couleur **rose à rouge**.

Toutes les souches d'*Escherichia coli* possèdent une  **$\beta$ -galactosidase et 94 à 97% d'entre elles possèdent également une  $\beta$ -glucuronidase (GUD)**. La présence de cette enzyme est révélée par l'apparition d'un **composé bleue**.

L'action simultanée des deux enzymes fait apparaître les colonies d'*Escherichia coli* en **Bleu foncé à violet (Haines et al., 1993)**..

### **Méthode :**

- Filtrer **100 ml** de l'échantillon à analyser sur une membrane de filtration.
- Placer la membrane sur la gélose chromogène pour bactéries coliformes (CCA) en veillant à ce qu'il n'y ait pas d'air en dessous puis retourner la boîte Pétri.
- Incuber à **(36 ± 2) °C** pendant **(21± 3) heures**.

### **Lecture :**

Dénombrer séparément :

- Les *Escherichia coli* = **bleu foncé à violette**.
- Les coliformes non *Escherichia coli* = **rose à rouge(Guarini et Vanhems, 2016)**.

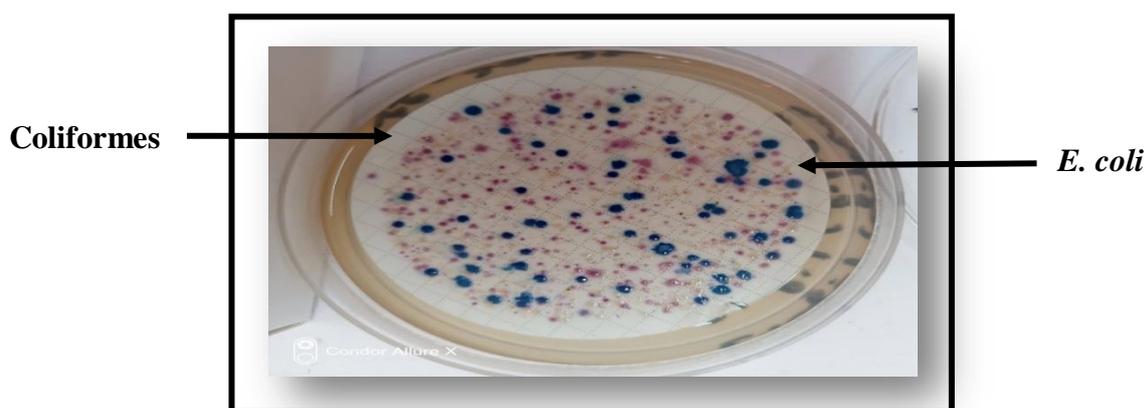
### **Teste de confirmation :**

Selon la norme [ISO 9308-1], les coliformes doivent être confirmés par l'obtention d'un résultat négatif du test oxydase. Réaliser de préférence cet essai sur la totalité ou sur au moins **10 colonies** de couleur rose.

✚ **Expression des résultats :**

A partir du nombre de colonies confirmées dénombrées sur la membrane filtrante, calculer le nombre d'*E.coli* et de bactéries coliformes présentes dans **100 ml** de l'échantillon.

Le dénombrement des bactéries coliformes est la somme de toutes les colonies négatives à l'oxydase de couleur rose à rouge et de toutes les colonies de couleur bleu foncé à violet, les *E.coli*.



**Figure n°15 : Coliformes sur gélose chromogène (originale).**

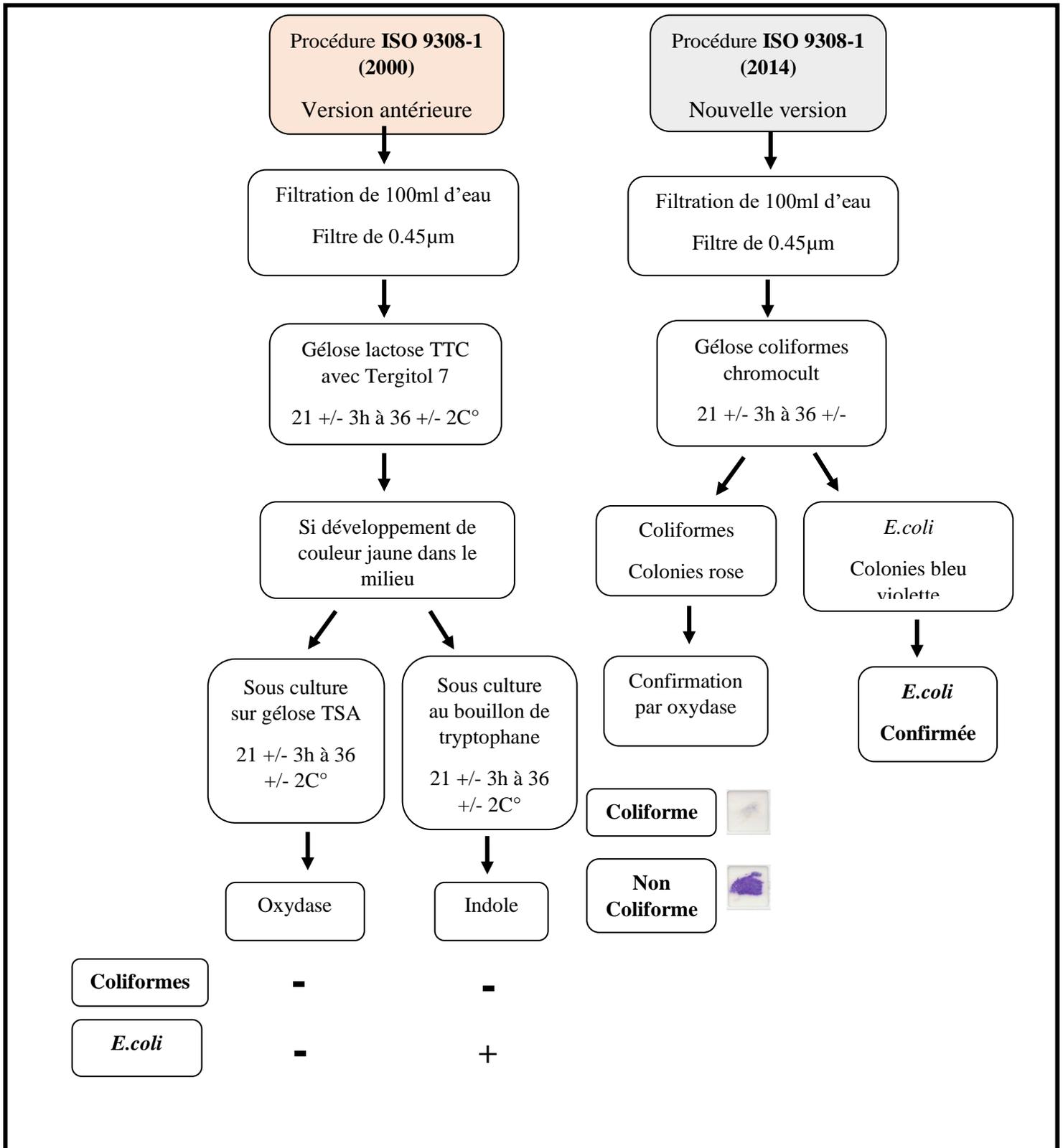


Figure n° 16 : Schéma résume la version antérieure et la nouvelle version de la méthode filtration des eaux sur membrane

## **V. Analyses physicochimiques :**

En plus les paramètres microbiologiques des eaux de sources, la législation algérienne impose des critères applicables aux examens physico-chimiques à l'émergence (**JURA N°27,2006**).

### **V.1. pH : (NF T90-008).**

La détermination électrométrique du pH s'effectue par mesure de la différence de potentiel entre une électrode en verre et une électrode de référent (calomel-KCl saturé) pour mesurer le pH on plongeant l'électrode dans environ **100ml** de l'échantillon puis on laisse le pH-mètres stabilise pendant quelque secondes, et en fin, on détermine la valeur pH.

### **V.2. Température :**

Il est important de connaître la température des eaux. Car elle permet de corriger les autres paramètres d'analyse. La température doit être mesurée *in situ*. Pour avoir une idée globale sur l'environnement. Ceci consiste à plonger la sonde du thermomètre dans l'échantillon, on attend que la valeur se stabilise, et on note la valeur mesurée donnée en °C.

### **V.3. Conductivité électrique : (NF T90-031).**

L'analyse s'effectue sur un prélèvement d'eau dont le volume doit être suffisant pour plonger la sonde de conductivité. La sonde doit être rincée plusieurs fois avec de l'eau distillée. Taper légèrement la sonde sur le fond du bécher et l'agiter afin de vérifier que des bulles d'air ne se sont pas formé à l'intérieur. Il suffit d'environ quelques minutes pour que le capteur atteigne l'équilibre thermique avec la solution au cas où la température de la sonde serait totalement différente de celle de la solution. Les résultats sont exprimés directement en ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) (**Rejsk, 2002**).

### **V.4. Turbidité : (NF T90-033).**

La turbidité est un indice de la présence de particules en suspension dans l'eau. Elle est déterminée à l'aide d'un néphéloémètre. Cet appareil mesure la lumière diffusée et la lumière transmise qui permet de détecter les matières non dissoutes.

Le mode opératoire consiste à remplir une cuvette de mesure propre et bien essuyer avec l'échantillon à analyser bien homogénéiser et effectuer rapidement la mesure ; il est

nécessaire de vérifier l'absence de bulles d'air avant la mesure. La turbidité se mesure en unité néphélométrique de turbidité (NTU) sur une plage de mesure de **0 à 4000 NTU**.

## **V.5. Méthode volumétrique ou titrage :**

### **V.5.1. Dosage de la somme du calcium et magnésium :(ISO 6058 :1984)**

#### **✚ Principe :**

Titration par complexométrie des ions **calcium** et **magnésium** avec une solution aqueuse de sel disodique d'acide éthylène-diamine tétra-acétique (**EDTA**) à un pH de **10**. L'indicateur utilisé est le noir ériochrome T, qui donne une couleur rose en présence des ions calcium et magnésium. Lors du titrage avec l'EDTA la solution vire au bleu.

#### **✚ Mode opératoire :**

On prend **100 ml** d'eau à analyser dans une fiole de **250 ml**. À l'aide d'une pipette on ajoute **8 ml** de la solution tampon et **3 gouttes de l'indicateur NET**, la solution devient **rouge vineuse**, on titre ensuite avec la solution d'**EDTA** goutte à goutte jusqu'à l'apparition de la couleur bleue. La dureté totale de l'eau est exprimée en ° **Français (°F)**. Pour déterminer la concentration en magnésium ( $Mg^{2+}$ ) exprimé en **mg/l** la relation suivante est utilisée :

$$[Mg^{2+}] = TH - TCa^{2+} \times 24,3$$

Où **24,3 g/mol** : la masse molaire atomique de magnésium.

### **V.5.2. Titre calcique ( $TCa^{+2}$ ) :(ISO 6058 : 1984)**

#### **✚ Principe :**

Titration des ions **calcium** avec une solution aqueuse de l'**EDTA** à un pH compris entre 12 et 13 l'indicateur utilisé est le **murexide**, qui forme un **complexe rose avec le calcium**, lors du titrage, l'EDTA réagit avec les ions calcium, l'indicateur vire alors de la couleur rose à la **couleur violette**.

#### **✚ Mode opératoire :**

On prend **100ml** de l'eau à analyser dans un bécher de **250ml** on ajoute **4ml** de solution d'hydroxyde de sodium **NaOH** à (**2N**), puis on ajoute **0.2 g** de poudre de l'indicateur **rouge**

**Muréxide.** On titre avec une solution **EDTA (0.02N)** goutte à goutte jusqu'au virage de l'indicateur du **rose au violet**.

Les résultats sont exprimée en **mg/l**, est donnée par l'expression suivante :

$$[Ca^{2+}] = TCa^{+2} \times 40,08$$

Où:

**40.08 g/mol : la masse molaire atomique de calcium.**

-La concentration totale en ions calcium et magnésium ( $Ca^{++} + Mg^{++}$ ), exprimée en °F, est donnée par la formule :

$$TH = V_2 \times 2 \times F \times F_C$$

Où:

TH : dureté exprimée en °F.

$V_2$  : est le volume, en millilitres, d'échantillon dosé.

$F_C$  : Facteur de correction.

F : facteur de dilution.

#### **Le calcul du facteur de dilution :**

Prendre **50 ml** de la solution de référence calcium à **100 mg/l**. S'en servir pour titrer la solution d'**EDTA** en versant lentement l'**EDTA** jusqu'au virage au **violet**. Lorsque la coloration violette est obtenue, noter le volume d'**EDTA** versé.

Le facteur de correction  $F_C$  est égal à :

$$F_C = \frac{\text{Volume versé}}{\text{Volume théorique (12.5 ml)}}$$

**Si :**  $0,96 \leq F_C \leq 1,04$ , alors la solution d'EDTA est utilisable pour le dosage.

### V.5.3. Dosage du sulfate ( $\text{SO}_4^{-2}$ ) : (NF T90-011).

#### Principe :

Les sulfates sont précipités en milieu chlorhydrique à l'état de sulfate de baryum, les ions sulfates sont précipités et dosés à l'état de sulfate en milieu chlorhydrique de baryum suivant

 la réaction :



Le précipité ainsi obtenu est stabilisé à l'aide d'une solution stabilisante, les suspensions homogènes sont mesurées au spectromètre (**Rodier., 1996**).

#### Réactifs utilisés :

- **Réactif (I) (solution stabilisante) :**

- Acide chlorhydrique.

- Ethanol.

- Chlorure de sodium.

- Glycérol.

- Eau distillée.

- **Réactif (II) (Solution de chlorure de baryum) :**

- Chlorure de baryum ;

- Acide chlorhydrique ;

- Eau distillée.

#### Mode opératoire :

Pour le témoin on introduit **100 ml** d'E.D plus **5ml** de la solution stabilisante et **2ml** de chlorure de baryum. Pour l'échantillon, on prend **20ml** d'eau à analyser puis compléter à **100ml** E.D, on ajoute **5ml** de la solution stabilisante et **2ml** de chlorure de baryum. On Agite énergiquement pendant 1minute.

**✚ Calcul du résultat :**

La longueur d'onde utilisée lors de l'analyse au spectromètre est de **420 nm**, les résultats sont affichés en **mg/litre** de sulfate.

**NB :** mg/l SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>=la valeur lue sur le spectrophotomètre x la dilution.

**V.5.4. Dosage d'Ortho-phosphore :( ISO N° 6878).**

**✚ Principe :**

En présence de milieu acide et de molybdate et orthophosphate d'ammonium Obtient des complexes de phosphomolybdène qui, lorsqu'ils sont réduits par des acides externes, donnent une couleur bleue, sont sensibles à la détermination spectrophotométrique et certaines formes organiques sont capables de s'hydrolyser lors de la formation de la couleur accélérée par l'utilisation de catalyseurs, tartrate double d'antimoine et de potassium.

**✚ Réactifs utilisés**

• **Réactif (I) :**

- Acide Ascorbique **100g/l**.

• **Réactif (II) :**

- Acide sulfurique **9mol/l**.

- Molybdate d'ammonium **13g + 100 ml d'E.D.**

- Tartrate de potassium hémihydraté **0.35g + 100 d'E.D.**

**✚ Mode opératoire :**

- On introduit **40 ml** d'E.D dans une fiole de **100 ml**. On ajoute **1ml** du **Réactif I** et **2 ml** du **Réactif II**. On complète le volume jusqu'à **100ml** pour le témoin.
- Pour l'échantillon on ajoute à **40 ml** d'eau à analyser **1ml** de **Réactif I** et **2 ml** du **Réactif II**. On complète le volume jusqu'à **100ml**.
- La lecture est effectuée après **20 min** à l'aide d'un spectrophotomètre et à une longueur d'onde de **880nm**.

 **Expression des résultats :**

Les résultats de l'orthophosphore sont affichés directement dans le spectrophotomètre en **mg /litre**.

**V.5.5. Dosage d'aluminium par kit LCK 301 :**

 **Principe :**

Le **Chromazurol S** forme avec l'aluminium en milieu **tampon acétate légèrement acide** une laque colorée verte.

 **Mode opératoire :**

- Pipeter soigneusement **2.0 mL** de la solution **A (aluminium)**.
- Pipeter soigneusement **3.0 mL** d'échantillon.
- Doser **1 cuillère rase** du réactif B.
- Retourner la cuve plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat ne soit complètement dissous.
- Attendez **25 minutes**.
- Nettoyez soigneusement l'extérieur de la cuve zéro et de la cuve de l'échantillon.
- Insérer la cuve zéro dans le spectromètre.
- Sélectionner le test, appuyer sur ZERO.
- Retirer la cuve zéro.
- Insérer la cuve de l'échantillon dans le compartiment pour cuves.
- Appuyer sur MESURER.

 **Expression de résultat :**

Les résultats sont affichés directement par le spectromètre en **mg/l d'aluminium**.

**V.5.6. Dosage de Nitrates  $\text{NO}_3^-$  :**

 **Principe :**

En présence de **salicylate de sodium**, les nitrates donnent du **paranitra-salicylate de sodium**, coloré en jaune et susceptibles d'un dosage colorimétrique.

**✚ Réactifs :**

- a) Solution de Salicylate de Sodium à **0.5%**.
- b) Solution d'hydroxyde de Sodium à **30%**.
- c) Solution de tartrate double de sodium et de potassium.
- d) Acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) concentré.
- e) Solution mère de nitrate à **1000 mg/l**.
- f) Solution fille étalon de nitrate **10 mg/l**.

**✚ Mode opératoire :**

- Introduire **10ml** d'eau à analyser ;
- Ajouter **3 gouttes** de la solution d'hydroxyde de Sodium à **30% (b)**.
- Ajouter **1 ml** de solution de Salicylate de sodium à **0.5 % (a)**.
- Evaporer à sec au bain marie ou à l'étuve **75 - 88°C**.
- Prendre le résidu avec **2 ml** d'acide sulfurique concentré (d).
- Laisser reposer **10 minutes**.
- Ajouter **15 ml** d'eau distillée.
- Ajouter **15 ml** de tartrate double de sodium et de potassium (c).
- Faire la lecture au spectromètre UV-Visible à la longueur d'onde **415 nm**.
- 

**✚ Mesures et calcul du résultat :**

Les résultats sont affichés directement par le spectromètre UV-Visible en **mg/l denitrates**.

**V.5.7. Dosage de Nitrites  $NO_2^-$  : (ISO 6777).**

**✚ Principe :**

Réaction des ions nitrites présents dans une prise d'essai, à **pH 1.9**, avec le réactif amino-benzène sulfonamide en présence d'acide orthophosphorique pour former un sel diazoïque qui forme un complexe de coloration **rose** avec le dichlorhydrate de Wnaphtyl-1 Idiamino-1,2 éthane (ajouté avec le réactif amino- benzènesulfonamide). Mesure de l'absorbance à **540 nm**.

 **Réactifs :**

• **Réactif coloré :**

- a) L'acide orthophosphorique à **15 mol/l**.
- b) amino-4benzène sulfonamide.
- c) L'eau distillée.
- d) Dichlorhydrate de N-naphyl-1) diamino1.2 éthane.

• **Solution étalon :**

- a) Nitrite de sodium séché à **105°C**.
- b) Eau distillée.

 **Mode opératoire :**

- Prélever, à l'aide d'une pipette, le volume choisi de prise d'essai, l'introduire dans une fiole jaugée de **50 ml** et, si nécessaire, amener le volume à **2 ml** avec de l'eau.
- Ajouter, à l'aide d'une pipette, **1ml** du réactif coloré. Homogénéiser immédiatement en faisant tourbillonner et compléter au volume avec de l'eau. Homogénéiser et laisser reposer. Le pH, à ce stade, doit être de **1,9 +/- 0,1**.
- Au moins **20 min** après ajout du réactif, mesurer l'absorbance de la solution à la longueur d'onde correspondant à l'absorbance maximale (environ **540 nm**) dans une cuve d'épaisseur appropriée, en utilisant l'eau comme liquide de référence.

**NB 1 :** Il est essentiel de toujours ajuster le volume à **2 ml** pour assurer que le pH adéquat est atteint (après ajout du réactif) pour la réaction.

**NB 2 :** La longueur d'onde correspondant à l'absorbance maximale doit être vérifiée chaque fois que cette méthode est utilisée pour la première fois et doit être adoptée pour les dosages.

 **Expression des résultats :**

Le résultat peut être exprimé en tant que concentration en masse d'azote, ou de nitrite,  $\text{NO}_2^-$  en **milligrammes par litre** ; ou en tant que concentration en quantité de matière d'ion nitrite,  $\text{NO}_2^-$  en **micromoles par litre**.



**III. *Résultats Et  
Discussion***

## **I. Paramètres Microbiologiques :**

### **I.1. Résultats de la recherche des *Pseudomonas aeruginosa*:**

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie répandue dans l'environnement (Bernet et al., 2009). La présence de cet organisme dans l'eau potable indique aussi une grave détérioration de la qualité bactériologique.

Les résultats de la recherche des *Pseudomonas* montrent son absence dans tous les échantillons d'eaux de sources prélevées. De ce fait nous pouvons conclure que les sources étudiées respectent les limites fixées par la réglementation algérienne (JORADP n°39, 2017), et à ceux de l'OMS (OMS, 2006) qui exigent son absence dans l'eau de consommation humaine.

### **I.2. Résultats de la recherche des Entérocoques :**

Les résultats de la recherche des Entérocoques montrent une coloration brun foncé diffuse dans le milieu confirme la présence d'entérocoques (Figure n°17).



**Figure n°17 : Entérocoques après confirmation sur gélose de BEA (originale).**

Les données collectées sur le nombre des entérocoques isolés, ont été soumises à l'analyse de variance à un seul facteur (ANOVA) par un logiciel Excel 2016. Pour déterminer si la fréquence des entérobactéries diffère selon les sources, le test a été utilisé au seuil de  $\alpha = 0,05$ .

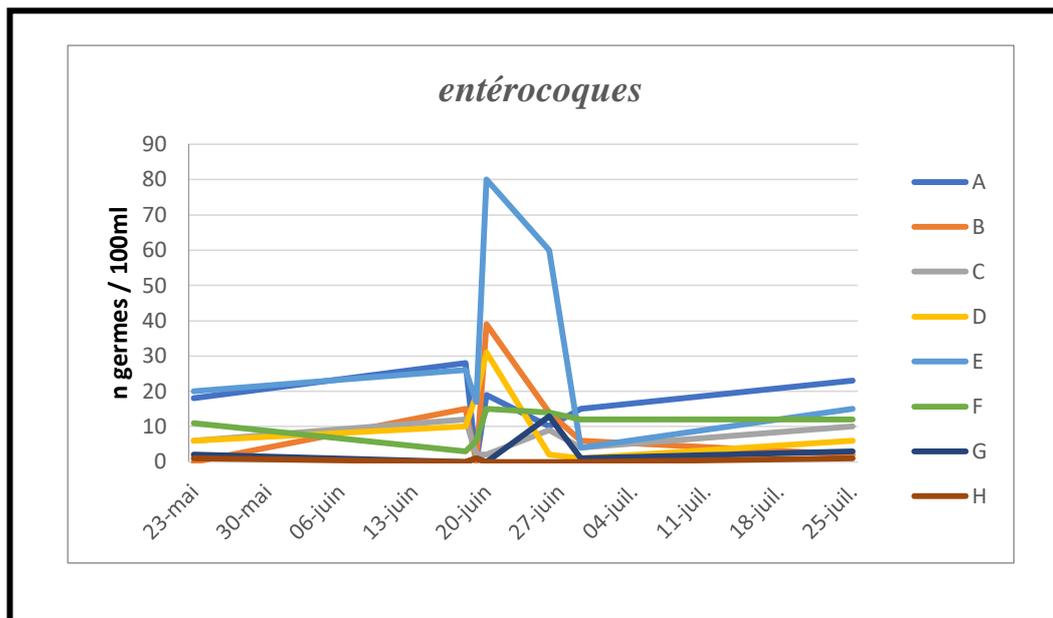


Figure n°18 : Résultats des entérocoques des sources analysées

En n germs/100ml.

Selon le **Tableau XI** présente dans l'**annexe 7**. L'analyse de variance a montré qu'il y a une différence significative entre les sources étudiées avec (**F=5,22**) et (**P=0.001**), donc **P<α** et **F>1**.

Nous remarquons que la source E possède un nombre des entérocoques très élevées avec une charge moyenne de **30.6 germs/ml**, avec une contamination ponctuelle entre le 20 et 27 juin (présence d'animaux sauvages). Cependant que la source H est la moins chargée **4 germs/ml**. Et donc selon la norme de l'**OMS (2006)** et la norme (**JORAD 2017**), concernant l'eau potable ces eaux ne sont pas potables sur le plan microbiologique des eaux destinées à la consommation humaine. Cependant sont acceptable selon les valeurs guides fixées des eaux brutes (**OPECST, 2003**).

Ce indique que ces eaux sont témoin d'une contamination fécale récente, qui serait probablement dû aux rejets des différentes secteurs de la région (fréquentation touristique des sources ...).

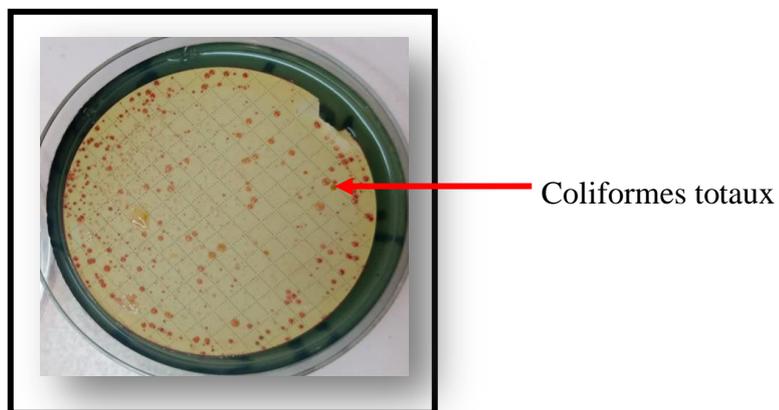
Les entérocoques sont responsables d'infection urinaires hautes ou basses et même des endocardites touchant préférentiellement les personnes âgées avec une porte d'entrées urinaire ou digestive (Reissier, 2016).

### I.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux :

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, (Chevalier, 2003).

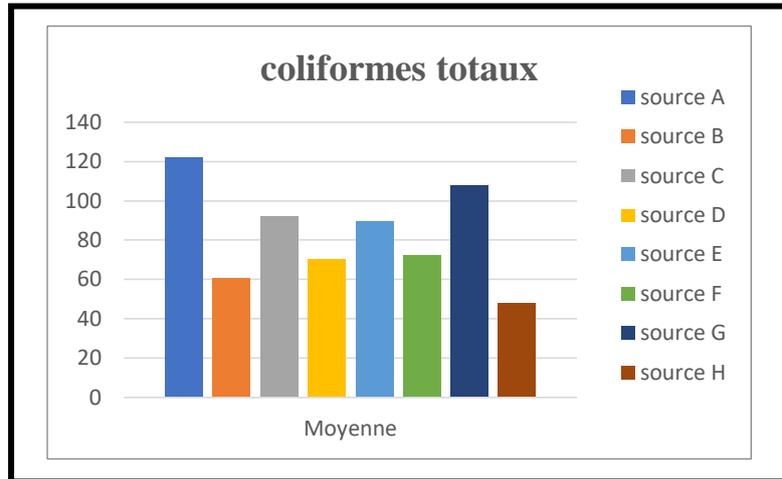
#### ❖ Recherche et dénombrement des coliformes totaux sur milieu lactosé au TTC et au Tergitol 7 :

Après 24h des colonies caractéristiques sont été obtenues de coloration jaune ou orangée, à l'intérieur d'un halo jaune visible, représentés dans la **figure n°19**.



**Figure n°19 : Aspect Des Colonies Sur Milieu Tergitol (originale).**

Les résultats de la recherche des coliformes totaux sur gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7 dans les échantillons d'eau de sources étudiées sont représentés dans la **figure n°20**.

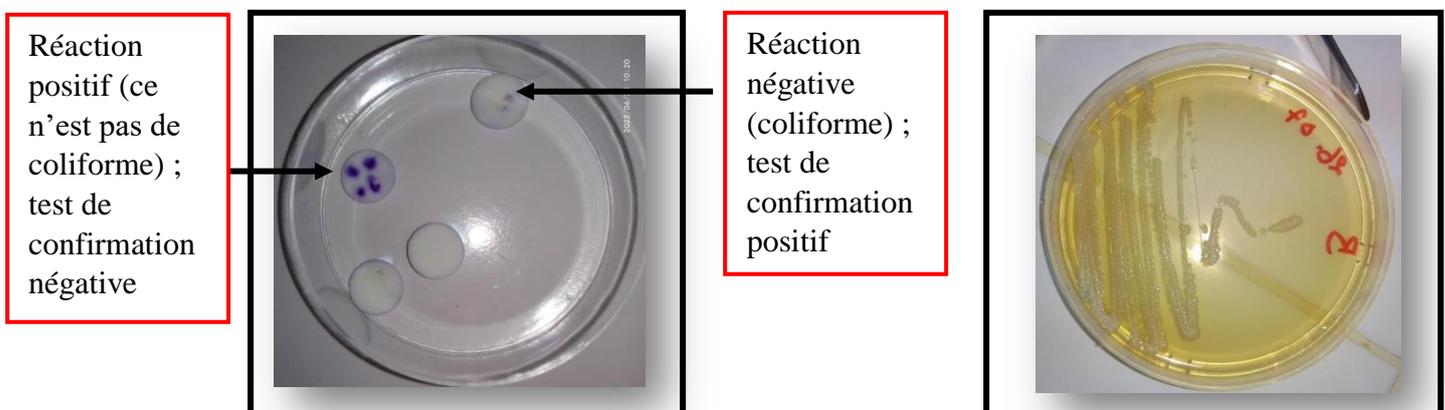


**Figure n°20 :** Résultats des coliformes totaux sur gélose lactosée.

Selon la norme ISO 9308, les colonies caractéristiques obtenus ont été réensemencé à l'aide d'une pipette pasteurs sur gélose TSA à  $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$  pendant  $(21 \pm 3) \text{ h}$ . **Figure n°22**

À partir de la croissance présente sur la gélose TSA, on effectue la détection de l'activité de la cytochrome-oxydase en faisant un frottis sur un disque d'oxydase imbibé par l'eau distillé pour la détection de l'activité cytochrome-oxydase .les coliformes ne possède pas l'enzyme cytochrome-oxydase et produit une réaction négative (absence de couleur bleu violacé).

**Figure n°21.**



**Figure n°21 :** Test de confirmation

**Figure n°22:** Ensemencement  
Sur gélose TSA

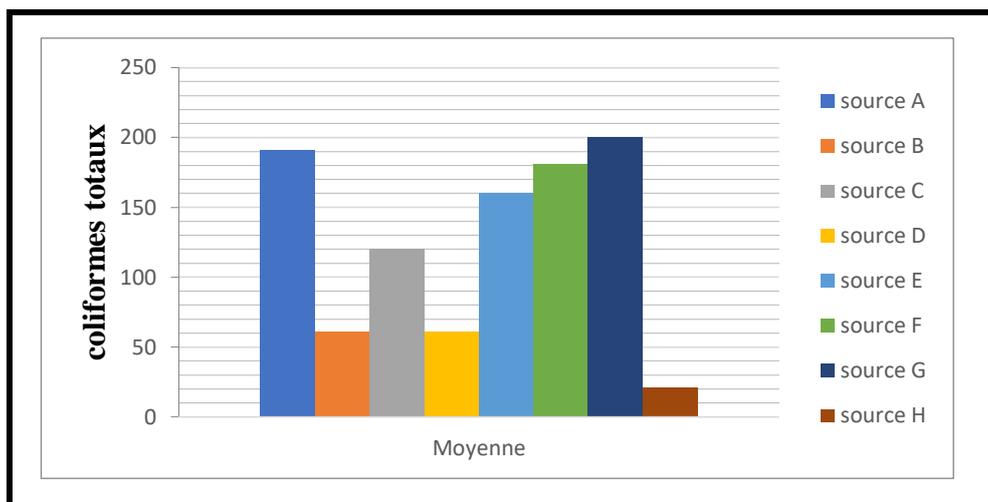
Les résultats révèlent la présence d'une charge important des CT dans les 8 sources. Cette charge diffère d'une source à une autre. La source A est la plus contaminée suivit par la

source G, puis la source C, E, F, D, B, et enfin la source H, avec des moyennes de **122,25 UFC/ml, 107,87UFC/ml, 92,125 UFC/ml, 89,375 UFC/ml, 72,75 UFC/ml, 70,5 UFC/ml, 60,625 UFC/ml, 48,25 UFC/ml**, respectivement.

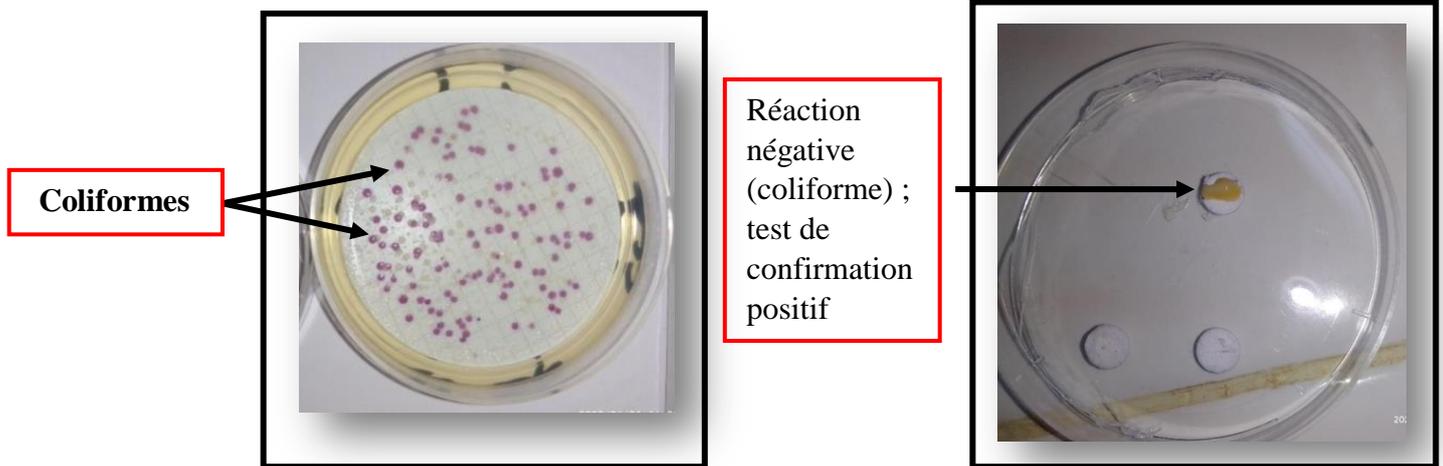
Et donc selon les résultats obtenus et d'après les **figures n°21 ; n°22** au dessus, ces eaux ne sont pas potables sur le plan microbiologique. Et ne conformes pas à la norme de l'OMS (2006) et la norme (JORAD 2017).

❖ **Recherche et dénombrement des coliformes totaux sur milieu CCA :**

Les résultats de la recherche des coliformes totaux sur gélose CCA dans les échantillons d'eau de sources étudiées sont représentés dans la **figure n°23**.



**Figure n°23 :** Résultats des coliformes totaux sur milieu CCA.



**Figure n°24 : Coliformes Sur Milieu CCA (originale).**

**Figure n°25 : Confirmation par test oxydase**

Les résultats de la recherche et dénombrement des coliformes totaux sur milieu CCA révèlent la présence d'une charge important des CT dans les 8 sources. Cette charge diffère d'une source à une autre. La source G est la plus contaminée suivit par la source A, puis la source F, E, C, D, B, et enfin la source H, avec des moyennes de **200,25 UFC/ml, 190,875 UFC/ml, 180,625 UFC/ml, 160,25 UFC/ml, 120,625 UFC/ml, 60,755UFC/ml, 60,75 UFC/ml, 20,5 UFC/ml**, respectivement.

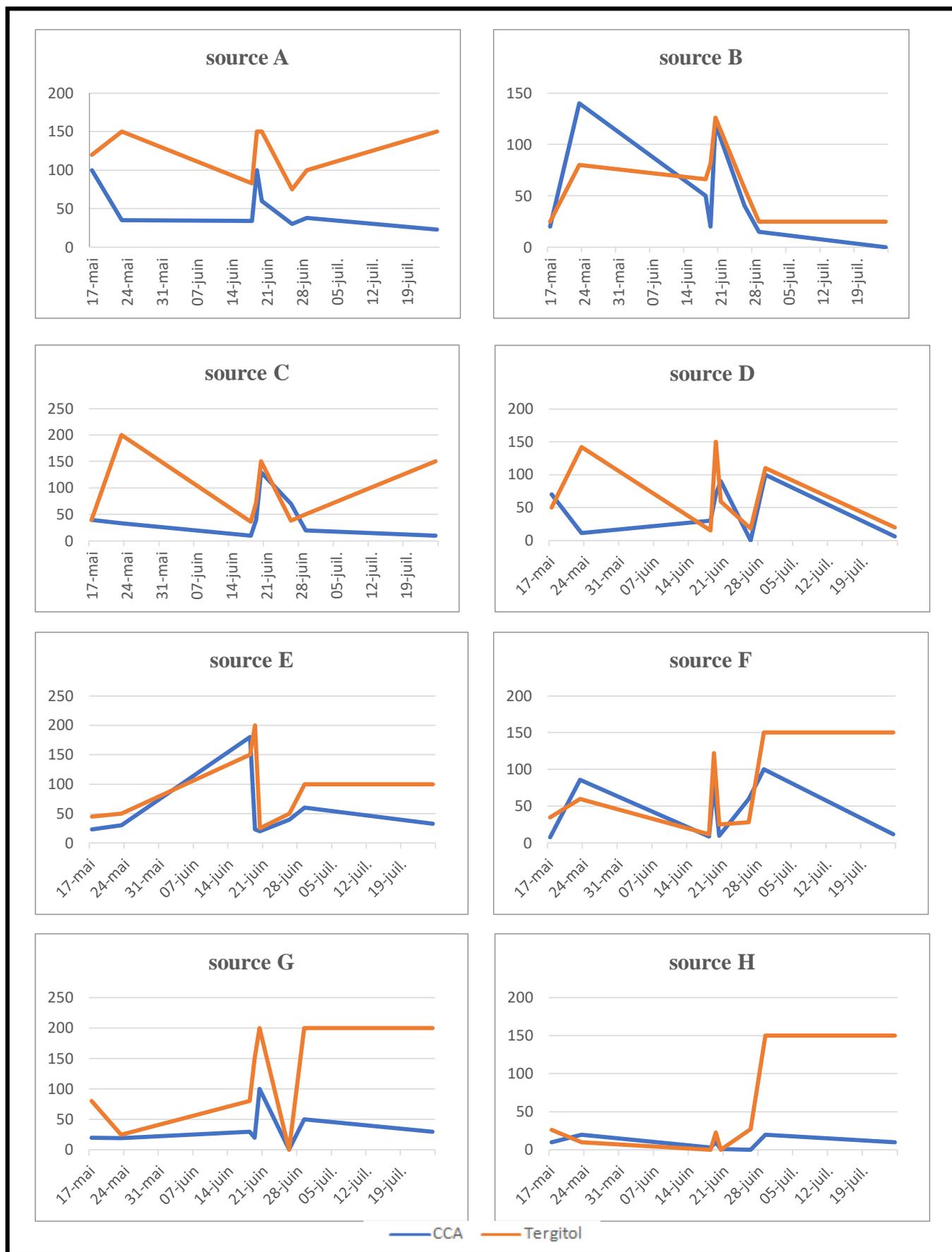


Figure n°26 : Résultats des coliformes totaux durant l'étude.

Une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs a été effectuée pour déterminer si les comptages de coliformes totaux de ces milieux différaient significativement.

Selon les résultats obtenus du **Tableau XII** présente dans **l'annexe 7**, et d'après la **figure n°26**, L'analyse de la variance indique une différence très significative à (5%) ( $p \leq 0,05$ )

Et donc ces eaux ne sont pas potables sur le plan microbiologique. Et ne conformes pas à la norme de **l'OMS (2006)** et la norme (**JORAD 2017**).

Les résultats obtenus peuvent être expliqués par les rejets issus des travaux toujours en cours et la fréquentation régulière des touristes. D'après **Odell, (2011)** et **Legube, (2015)**, ces micro-organismes indiquent des problèmes de la qualité bactérienne et peuvent induire des problèmes de la qualité organoleptique ainsi que des problèmes de santé.

### **I.3.2. Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* :**

Les coliformes fécaux, sont des bactéries indicatrices d'une contamination fécale sont également présents dans tous les sites (**Lanjri et al., 2014**). Les Coliformes fécaux sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance (**René, 2010**). Sont un sous-groupe des coliformes totaux et comptent parmi leurs membres des espèces de bactéries comme *Escherichia coli* (**Verhille, 2013**).

#### **❖ Recherche et dénombrement des *E. Coli* sur milieu lactosé au TTC et au Tergitol 7 :**

Les *Escherichia coli* sont des coliformes thermotolérants ayant la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à **44°C**.

Les colonies suspectées sont confirmés par un test de confirmation basé sur la recherche de la production d'indole après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kowacs. **Figure n°27**

Les tubes EC ont été incubés à **44,5°C** pendant **24h**. Les tubes EC positifs ont été confirmés pour la présence d'*E.coli* par production d'indole.

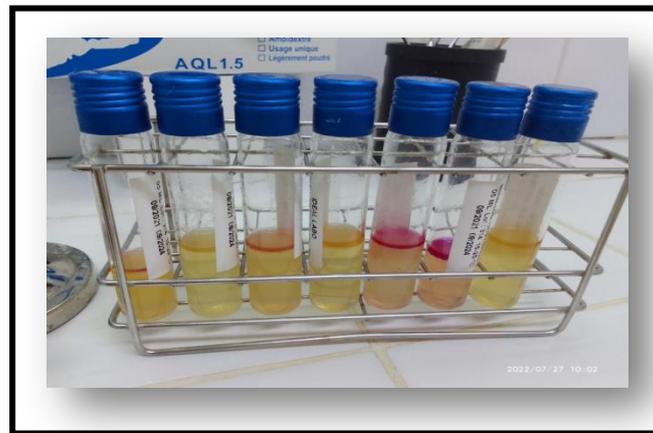


Figure n°27 : production d'indole positif ; apparition d'anneau rouge.

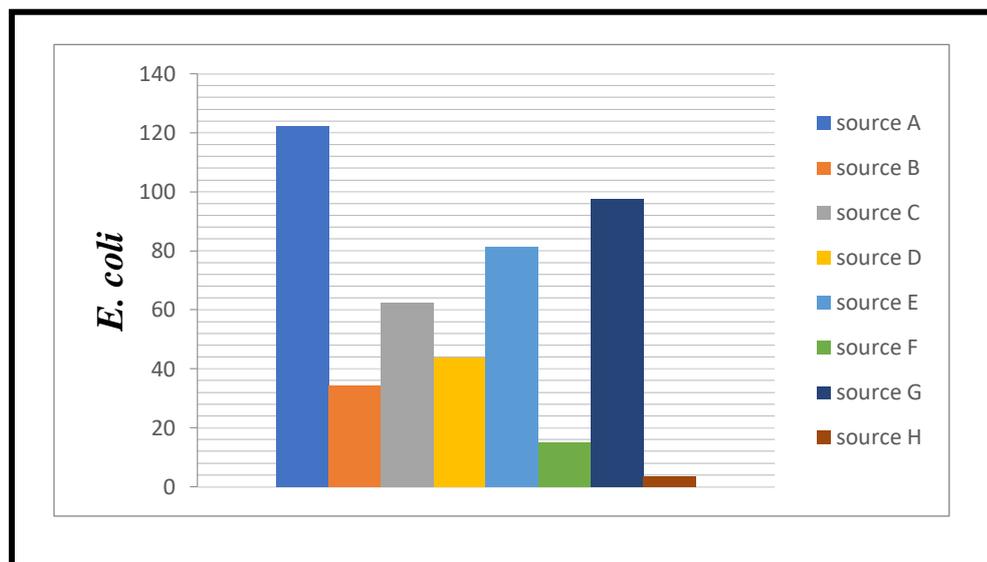


Figure n°28 : Résultats des *Escherichia coli* sur milieu gélose lactosée.

Les résultats de la recherche et dénombrement des coliformes totaux sur milieu lactosée révèlent la présence d'une charge important des *Escherichia coli* dans les 8 sources. Cette charge diffère d'une source à une autre. La source A est la plus contaminée suivit par la source G, puis la source E, C, D, B, F, et enfin la source H, avec des moyennes de **122,25 UFC/ml, 97,5 UFC/ml, 81,25 UFC/ml, 62,25 UFC/ml, 43,875 UFC/ml, 34,25 UFC/ml, 15 UFC/ml, 3,375 UFC/ml**, respectivement.

Et donc selon les résultats obtenus et d'après les **figures n°27 ; n°28**, ces eaux ne sont pas potables sur le plan microbiologique. Et ne conformes pas à la norme de l'OMS (2006) et la norme (JORAD 2017).

❖ Recherche et dénombrement des *E. coli* sur milieu CCA :

Dans un milieu CCA *E. coli* métabolise à la fois le méthylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (MUG) et l'indoxyl- $\beta$ -D-glucuronide (IBG) (Haines et al., 1993).

Les résultats de la recherche des *E. coli* sur milieu CCA dans les échantillons d'eau de sources étudiées sont représentés dans la figure n°27.

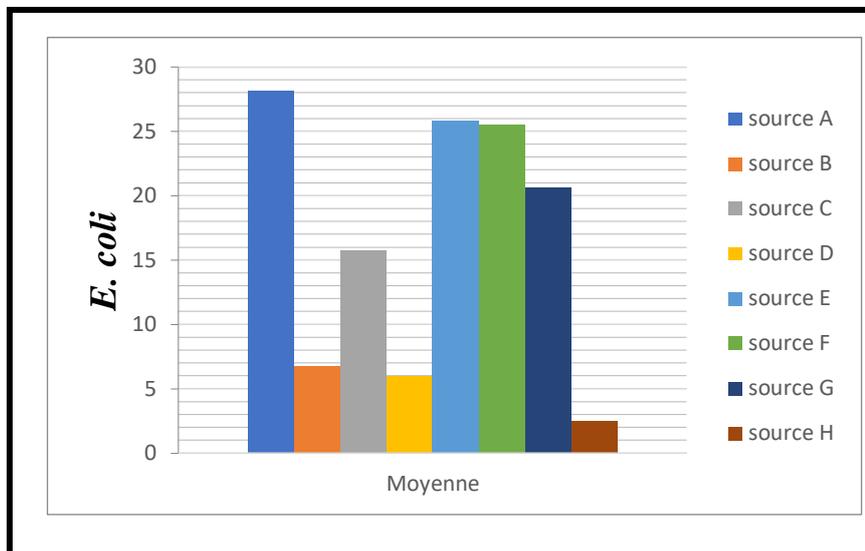


Figure n°29 : Résultats des *Escherichia coli* sur milieu CCA.

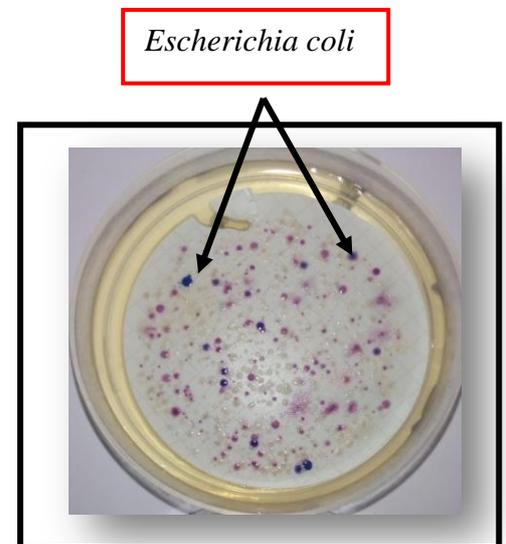


Figure n°30 : *Escherichia coli* sur milieu CCA

Les résultats de la recherche et dénombrement des coliformes totaux sur milieu CCA révèlent la présence d'une charge important des *Escherichia coli* dans les 8 sources. Cette charge diffère d'une source à une autre. La source A est la plus contaminée suivit par la source E, puis la source F, G, C, B, D, et enfin la source H, avec des moyennes de **28,125 UFC/ml, 25,875 UFC/ml, 25,5 UFC/ml, 20,625 UFC/ml, 15,75 UFC/ml, 6,75 UFC/ml, 6 UFC/ml, 2,5 UFC/ml**, respectivement.

Et donc selon les résultats obtenus et la figure n°26 au dessus, ces eaux ne sont pas potables sur le plan microbiologique. Et ne conformes pas à la norme de l'OMS (2006) et la norme (JORAD 2017).



Figure n°31 : Résultats des *Escherichia coli* durant l'étude.

Selon les résultats obtenus du **Tableau XIII** présente dans **l'annexe 7**, L'analyse de la variance indique une différence très significative à **(5%)** ( $p \leq 0,05$ ).

D'après la **figure n°31**, les résultats obtenues montrent que le nombre de colonies isolées sur la gélose lactosée est toujours supérieure que celui isolées sur gélose CCA.

Ces eaux ne sont pas potables et donc ces eaux ne sont pas de bonne qualité microbiologique. Et ne conformes pas à la norme de **l'OMS (2006)** et la norme (**JORAD 2017**). Et qu'une contamination fécale non lointaine est soupçonnée.

Certains souches sont pathogènes, notamment *Escherichia coli* (exclusivement d'origine fécale), dont certains souches peuvent provoquer des troubles intestinaux (gastroentérites), des épidémies graves (dysenteries) (**Legube, 2015**).

Donc la comparaison de la nouvelle méthode par rapport à l'ancienne nous permet de dire qu'il y a un gain de temps (la nouvelle méthode est plus rapide) ; comptage aisé de *E. coli* et des bactéries coliformes grâce aux différences de couleurs en utilisant la gélose CCA et aussi elle est plus facile à réaliser que la méthode utilisant la gélose au Lactose TTC.

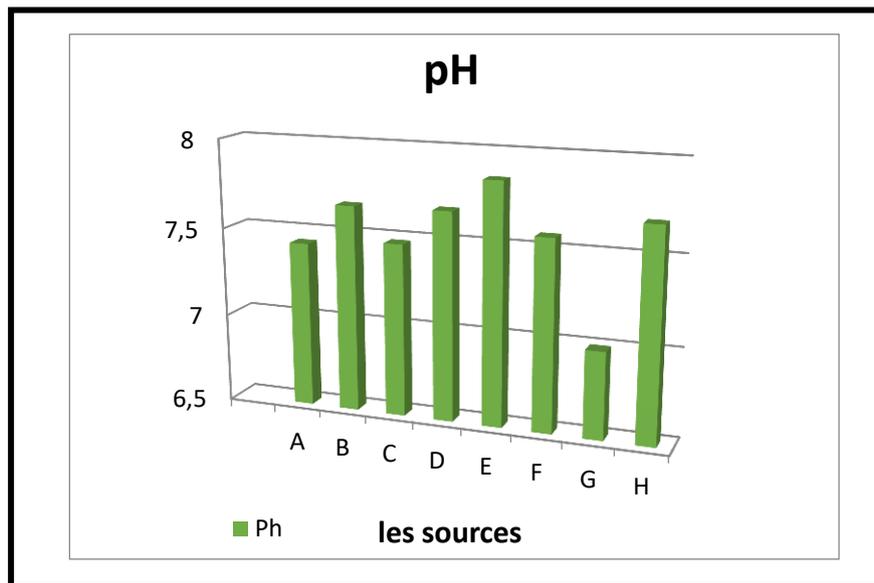
## **II. Les Paramètres physicochimiques :**

L'étude expérimentale réalisée sur les différents échantillons prélevés, nous a permis de déterminer les paramètres physico-chimique de l'eau de différentes sources de la commune de Chiffa. Les prélèvements ont été effectués au cours du mois de mai et juillet.

Les résultats des analyses des paramètres physico-chimiques des sites d'eau échantillonnés sont présentés dans le **tableau IX, annexe n°5**

### **II.1. Le Potentiel d'hydrogène :**

Les valeurs de pH des eaux échantillonnées à partir de huit sources sont représentées dans la Figure n°32.



**Figure n°32** : les valeurs du pH des sources échantillonnées.

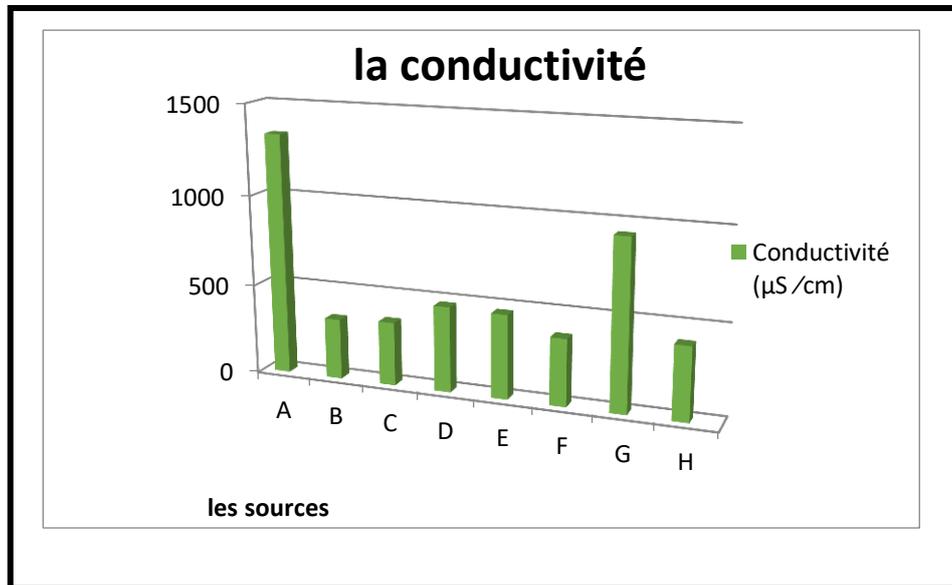
Les valeurs des sources étudiées varient entre des valeurs neutres et des valeurs basiques. La valeur maximale de pH est enregistrée pour la source (E) de **7.85** et la plus basse valeur est enregistrée pour la source (G) avec un pH neutre **6.99**.

Les sources étudiées sont toutes conformes à valeurs fixées par la réglementation Algériennes de pH entre 6,5 et 8,5 (**JORADP, 2011**), ainsi que celle de l’OMS qui fixe les valeurs de pH entre 6,5 et 9,5 (**OMS, 2009**).

D’après **Boyd, (2015)**, le pH d’une eau est un facteur déterminant de la qualité de l’eau et plusieurs interactions biochimiques sont liées à ce dernier. Une eau basique est riche en carbone inorganique et donc le milieu est favorable pour les organismes aquatiques.

## II.2. La conductivité :

Les valeurs de conductivité des 8 sources sont représentées dans la Figure n°33



**Figure n°33** : Les valeurs de la conductivité des échantillons.

Les résultats oscillent entre **335 µs/cm et 1449µs/cm** dont le maximum est enregistré au site (A) et le minimum au site (B).Les valeurs sont différentes d'un site à un autre.

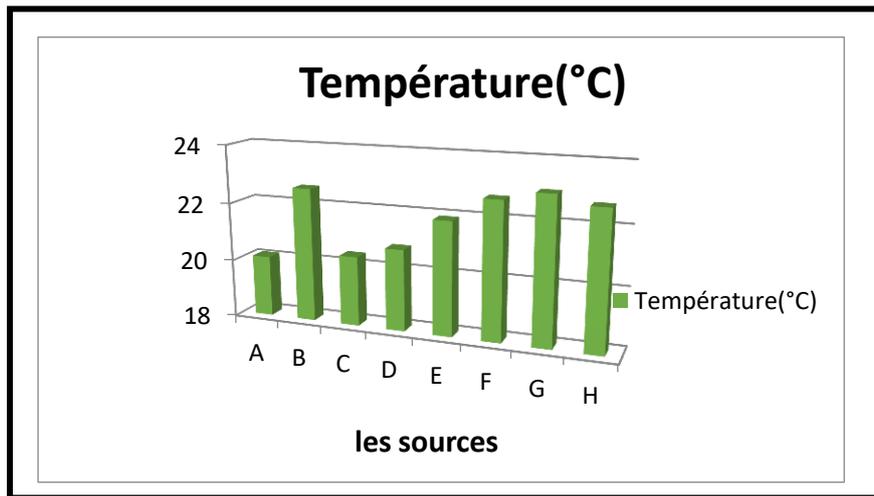
Selon **Luger, (2015)**, les valeurs de la conductivité des huit sources sont de moyenne accentuée (**336 à 666**), à très important (**>1000**).

Les valeurs sont tous au-dessous de la valeur recommandée (**2800 µs/cm**) par la réglementation algériennes (**JORADP, 2011**) ; donc ces eaux sont de bonne qualité de point de vue conductivité.

Nos résultats sont semblent à ceux de **Ammali et kheurief, (2020)**, de la région de chiffa.

## II.3. La température :

Les résultats de la température des 8 sources sont représentés dans la Figure n°34



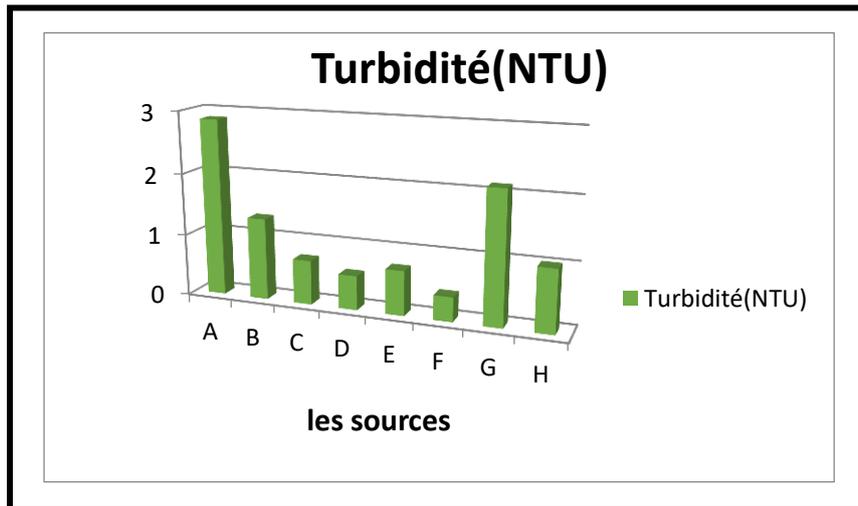
**Figure n°34** : les valeurs de température des sources échantillonnées.

Il est reconnu que les variations de la température s'estompent au-delà de 3 mètre de profondeur et que la température des eaux souterraines est invariable au cours de l'année (**Petit et Erpicum, 1987**). L'étude de la température a montré que les valeurs obtenues dans les différents sites sont comprises entre **20,1°C et 23°C**. La plus haute valeur est enregistrée au site (A) alors que la valeur la plus basse est enregistrée au site (E).

Toutes les valeurs de ce paramètre ne dépassent pas la valeur recommandée par la réglementation algériennes **25 °C (JORADP, 2011)**, et la norme (**OMS, 2006**) **25 °C**. donc ces eaux sont de bonne qualité de point de vu température.

#### II.4. La turbidité :

Les résultats de La turbidité des 8 sources sont représentés dans la Figure n°35



**Figure n°35 :** les valeurs de la turbidité des sources échantillonnées.

La mesure de la turbidité permet de donner les informations visuelles sur l'eau. Les résultats des analyses obtenus à l'aide d'un turbidimètre montrent une variation entre **0,395NTU** et **2,86 NTU**. La valeur maximale est enregistrée dans les échantillons d'eau de la source (A) tandis que la valeur minimale est enregistrée dans les échantillons d'eau de la source (F).

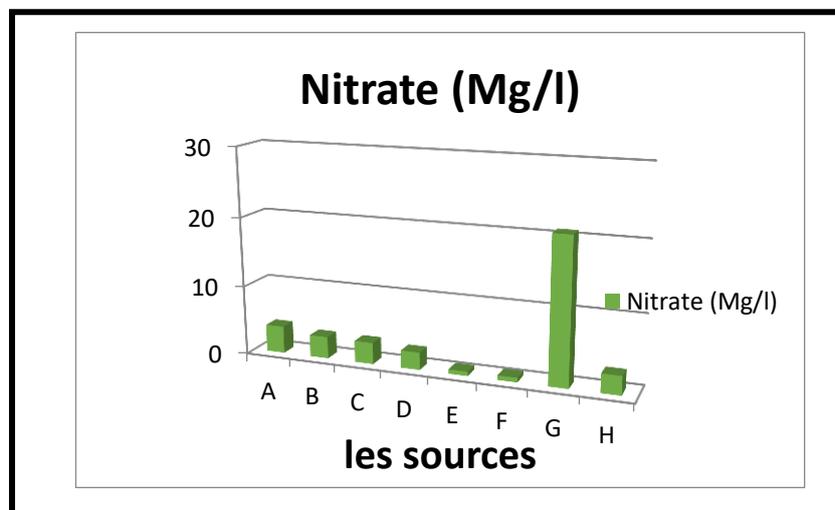
Les valeurs de la turbidité notées pour les échantillons d'eau des huit sources sont toutes conformes avec la norme exigée par la réglementation Algérienne (**JORADP, 2011**) à savoir ; **5 NTU**. Nous pouvons donc classer les eaux des huit sources analysées comme étant des eaux claires.

Selon **Roberts alley et al., (2007)**, la turbidité dans l'eau peut être causée par des matières en suspensions comme l'argile ou des matières organiques ou inorganiques

Nos résultats sont semblent à ceux de **Ammali et kheurief, (2020)**, de la région de chiffa.

## II.5. Le nitrate :

Les résultats de nitrate des 8 sources sont représentés dans la Figure n°36



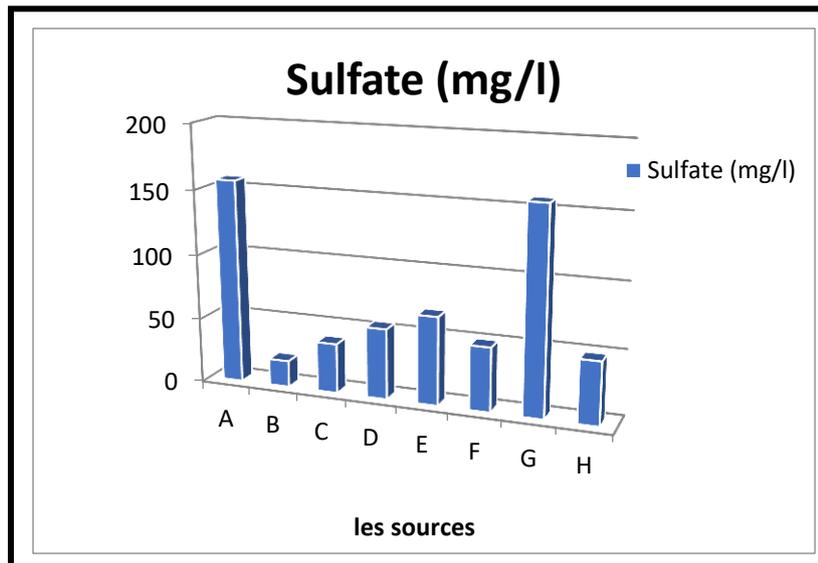
**Figure n°36** : Variation de la teneur en nitrates dans les échantillons d'eau.

Les nitrates sont présents dans l'eau par lessivage des produits azotés dans le sol, par décomposition des matières organiques ou des engrais naturels ou de synthèse (**Samak, 2002**). Les résultats obtenus **figure n°36** montrent que les teneurs en nitrates des échantillons d'eaux des huit sources oscillent entre **0,63mg/l**, valeur enregistrée pour les eaux de la source (E) et **20,81 mg /l**, valeur enregistrée pour les eaux de la source (G). Cependant toutes les valeurs des nitrates notées restent inférieures à la valeur admissible par la réglementation Algérienne à savoir **50mg/l** (**JORADP, 2011**). De ce fait, les eaux analysées ne sont pas sujette à une pollution par les nitrates.

Selon **Edzwald, (2006)**, le nitrate est l'un des principaux anions dans les eaux naturelles, et les concentrations peuvent être considérablement élevées.

## II.6. Le sulfate :

Les résultats de sulfate des 8 sources sont représentés dans la **Figure n°37**.



**Figure n°37** : les valeurs de sulfates des sources échantillonnées.

Certains sols et certaines pierres contiennent des minéraux de sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), Comme l'eau souterraine se déplace à travers ceux-ci, certains sulfates sont dissous dans l'eau. Parmi les minéraux qui contiennent du sulfate on peut citer le sulfate de sodium, le sulfate de magnésium et le sulfate de calcium (gypse) (HCEFLCD, 2006).

D'après les résultats des échantillons analysés (figure n°37), les valeurs enregistrées oscillent entre **20,33 mg/l** dans les échantillons d'eaux de la source (B) et **156,94 mg/l** dans les échantillons d'eaux de la source (G). Néanmoins, ces valeurs restent inférieures à **400 mg/l**, norme exigée par la réglementation Algérienne relative à la qualité des eaux destinées à la production d'eau potable (JORADP, 2011).

## II.7. L'orthophosphate :

L'origine des phosphates dans les eaux est le plus souvent liée aux rejets urbains et à la dissolution des engrais chimiques (OMS, 2000).

Les résultats de l'orthophosphate des 8 sources sont représentés dans la **Figure n°38**

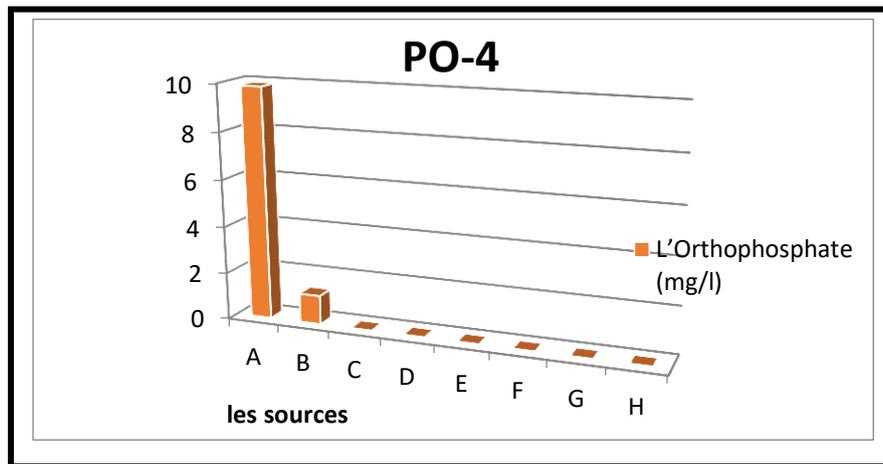


Figure n°38 : les valeurs de l'orthophosphate des sources échantillonnées.

Les résultats du dosage des phosphates dans les échantillons d'eau des sources C, D, E, F, G et H sont conformes avec la norme. Cependant, les échantillons d'eaux des sources A et B présentent des teneurs en phosphate qui dépassent largement la valeur maximale admissible à savoir  $< 0.5 \text{ mg/l}$  (JORADP, 2011). Une eau contaminée par le phosphate peut provoquer, selon les cas, de gastro-entérites, hépatites ou syndromes neuro-méningés. Les virus sont en général plus persistants dans le milieu et plus résistants aux traitements de désinfection que les bactéries.

Nos résultats semblent à ceux Sari, (2015), et à ceux de Ammali et kheurief, (2020), de la région de chiffa.

## II.8. L'aluminium :

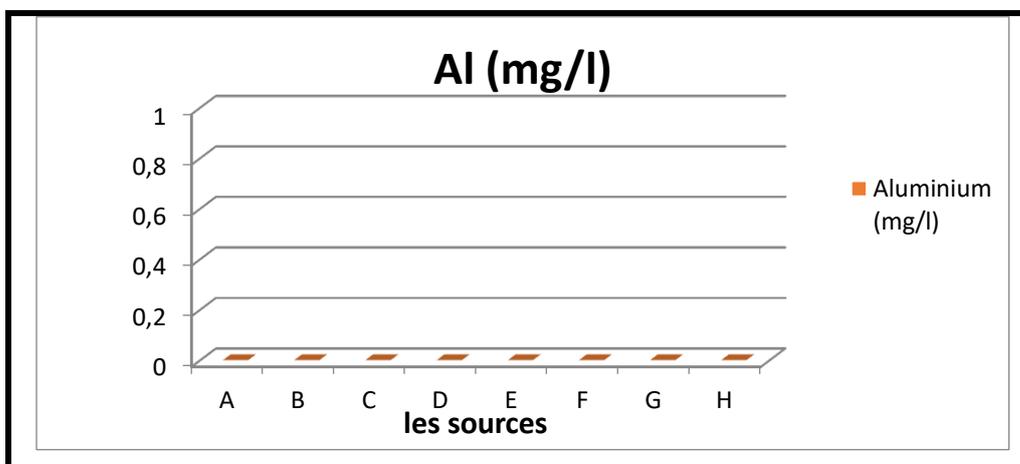


Figure n°39 : les valeurs d'aluminium dans les sources échantillonnées.

Nos résultats montrent que la concentration d'aluminium est nulle ( $< 0,05 \text{ mg/l}$ ) dans tous les échantillons d'eaux de sources analysées. Néanmoins, ces valeurs restent inférieures à norme

exigée par la réglementation Algérienne relative à la qualité des eaux destinées à la production d'eau potable (JORADP, 2011). dont la concentration maximale admissible est de **0,2 mg/l**.

### II.9. Calcium et Magnésium :

Le calcium est un métal alcalino-terreux extrêmement répandu dans la nature et en particulier dans les roches sous forme des carbonates, composant majeurs de la dureté de l'eau et qui est généralement l'élément dominant des eaux potables. Il existe surtout à l'état d'hydrogénocarbonates et en quantité moindre, sous forme de sulfates, de chlorures (Rodier, 1996). Le magnésium est l'un des éléments le plus répandu dans la nature, il constitue environ 2,1% de l'écorce terrestre. La plupart de ses sels sont très solubles dans l'eau (Rodier., 1996).

Les résultats de dosage du  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  dans les échantillons d'eau analysés des huit sources sont présentés dans la **figure n° 40**.

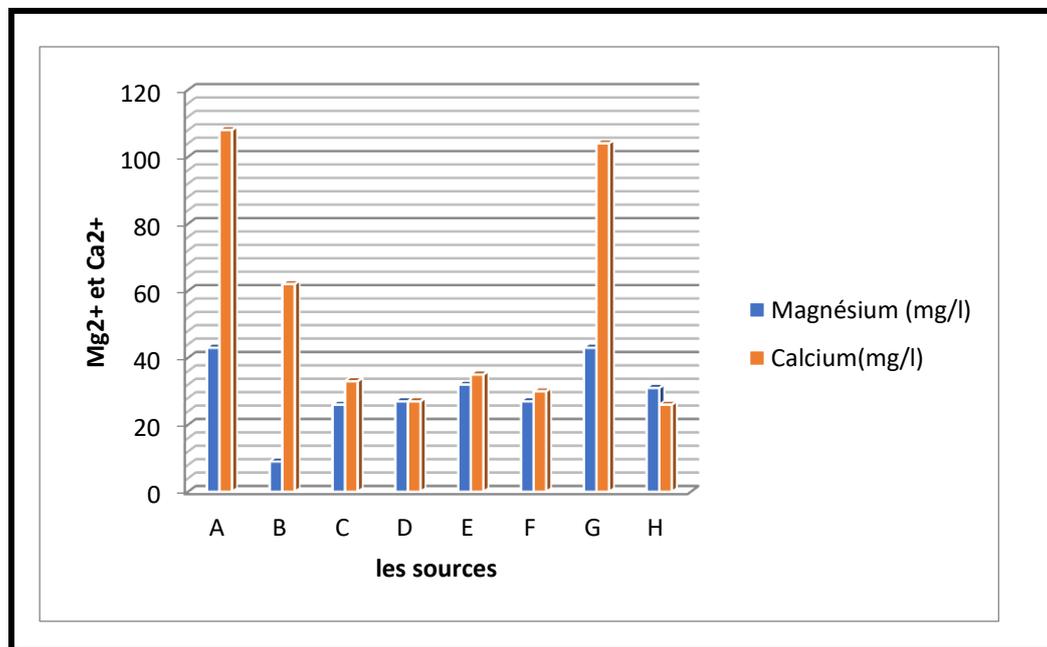
Les eaux des sources (A) et (G) sont les plus riches en Magnésium. En effet, nous avons enregistré dans les eaux de ces deux sources des concentrations arrivant à **43 mg/l**. Les eaux les plus pauvres en Magnésium sont ceux de la source B, C, D, E, F, H.

Si on veut comparer ces eaux avec les eaux de quelques marques algériennes, nous pouvons dire que l'eau des sources (A) et (G) sont plus riches en Magnésium que les eaux de (Ovitale 14mg/ml). Nous pouvons conseiller les eaux des sources (A) et (G) aux femmes enceintes vu leur richesse en magnésium, En revanche, les eaux riches en magnésium sont déconseillées car elles risquent d'accélérer le transit intestinal et peuvent engendrer des diarrhées chez bébé.

La concentration la plus élevée en calcium a été enregistrée pour les échantillons d'eau de la source (A) avec **108 mg/l**. nous pouvons dire que l'eau de la source (A) est plus riche en calcium que les eaux de (Mont Djurdjura 101 mg/l) par contre elles sont moins chargées en calcium que les eaux de (Arwa 120 mg/ml).

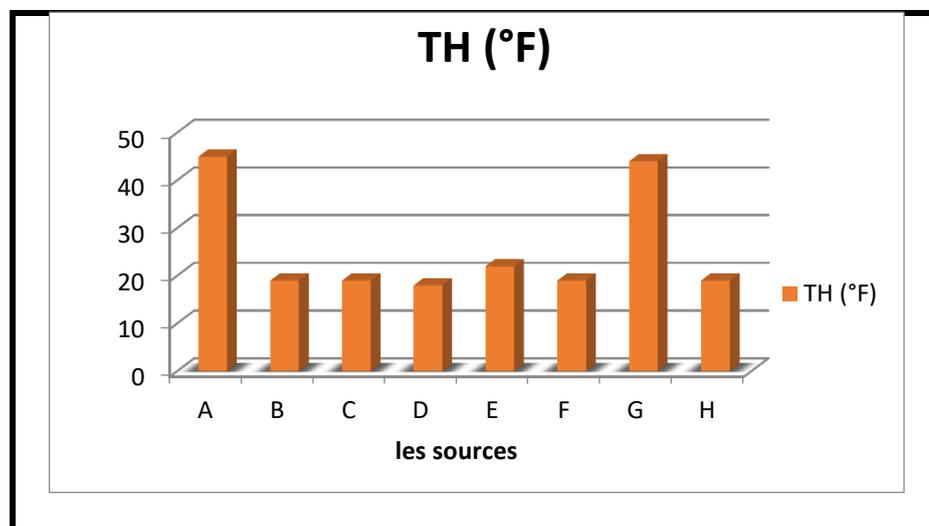
Selon la réglementation Algérienne (JORADP, 2011) les valeurs enregistrées des deux paramètres sont conformes et ce pour les eaux des huit sources ( $[\text{Mg}^{2+}] = 150 \text{ mg/l}$  et  $[\text{Ca}^{2+}] = 200 \text{ mg/l}$ ). Une eau est dite « riche en calcium » si elle contient plus de 120 mg de calcium par litre.

Nous pouvons conseiller les eaux de la source (A) pour les personnes qui ne consomment pas, ou peu, de produits laitiers peuvent se tourner vers des eaux riches en calcium pour compléter leurs apports journaliers. Cependant, chez les personnes âgées ou souffrantes d'ostéoporose, cependant la source (D) qui contient la plus faible teneur en calcium elle est conseillée pour les sujet avec des problèmes d'athérosclérose.



**Figure n°40** : les valeurs du Calcium et Magnésium.

**II.10. Titre Hydrométrique (Dureté totale) :**



**Figure n°41** : les valeurs de la dureté totale des sources échantillonnées.

La dureté est un caractère naturel lié au lessivage des terrains traversés et correspond à la teneur en calcium et en magnésium (Rodier, 2009). Les valeurs du TH des échantillons d'eau analysés oscillent entre 18 °F pour les échantillons d'eau de la source (D) et 45 °F pour les échantillons d'eau de la source (A).

Une eau est dite douce si la valeur du TH se situe entre 10-19°F (Merabet, 2010). Selon les résultats obtenus, présentés dans la figure n°42 ci-dessous, nous pouvons dire que les eaux des sources : B, C, D, E, F et H sont des eaux douces. Pour les eaux des sources (A) et (G) elles sont très calcaires.

Une eau calcaire apporte une quantité de calcium et de magnésium qui permet de prévenir les risques de maladies cardiovasculaires. Ils favorisent la consolidation des os et participent au bon fonctionnement des muscles et du système nerveux. Autant de bienfaits indispensables à notre santé et que notre consommation d'eau nous apporte au quotidien.

### II.11. Nitrites :

Les résultats de nitrite des 8 sources sont représentés dans la Figure n°42

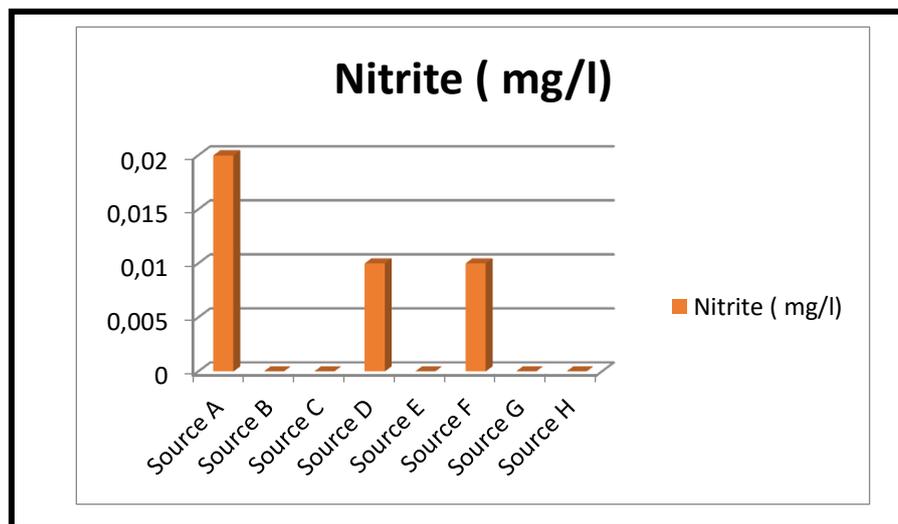
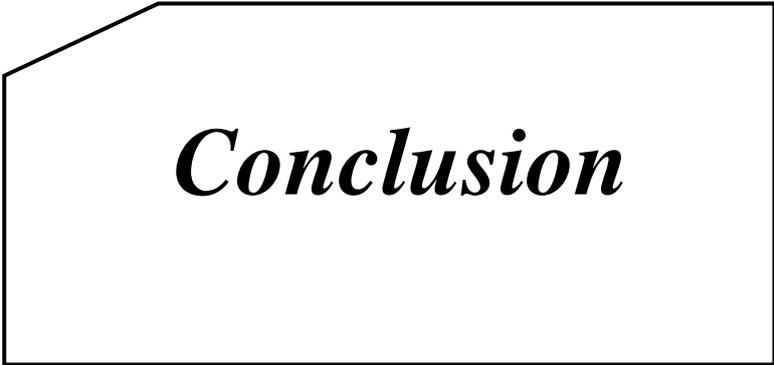


Figure n°42 : valeurs de nitrites dans les sources étudiées.

Le résultat d'analyse des sources montrent que les valeurs de nitrites dans les deux mois sont tous en dessous de la valeur admissible par la réglementation algérienne 0.2mg/l (JORADP, 2011) ; dont la valeur maximale est de 0.02mg/l source (A).

D'après Legube, (2015), la présence des concentrations élevées en nitrites dans les eaux en milieu acide aide à former les nitrosamines connus pour leur pouvoir cancérigène.



***Conclusion***

L'objectif de notre travail est la Mise en évidence et dénombrement de bactéries au moyen de géloses chromogènes et la comparé avec la méthode de référence. En plus l'analyse de quelques paramètres physico-chimiques des différentes sources d'eau naturelle, située dans la commune de Chiffa dans la wilaya de Blida de mois de mai jusqu'au juillet, en vue de sa potabilité suivant les normes algérienne, les normes européenne, et les normes OMS.

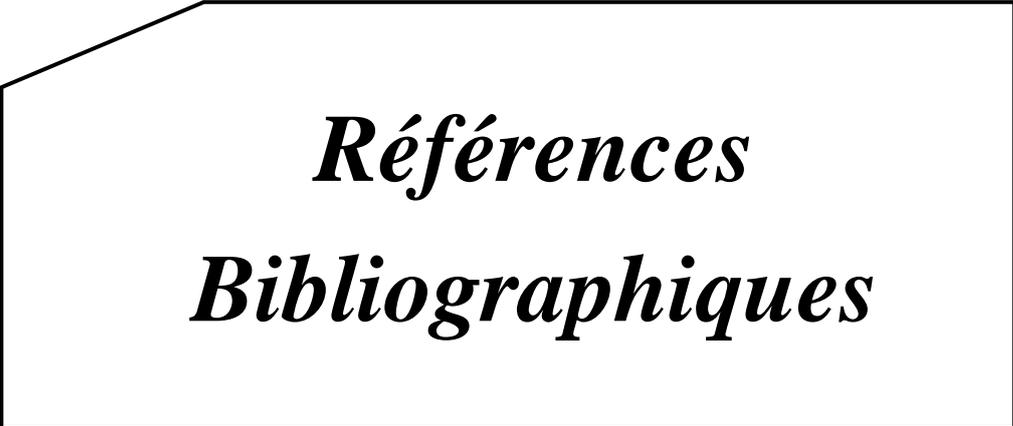
Les résultats de la comparaison de la nouvelle méthode ISO 9308-1 (2014) par rapport à l'ancienne [ISO 9308-1 (2000)], Nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- Un gain de temps : jusqu'à 24 h de moins que l'ancienne méthode avec la gélose au Lactose TTC.
- Des résultats clairs : comptage aisé de E. coli et des bactéries coliformes grâce aux différences de couleurs en utilisant la gélose CCA.
- Une réduction des coûts : aucun milieu de culture supplémentaire requis pour la confirmation. Au lieu de cela, confirmation des bactéries coliformes en une minute à l'aide de disques de test peu coûteuses à base d'oxydase.
- Une mise en œuvre plus facile : la méthode CCA est plus facile à réaliser que la méthode utilisant la gélose lactosée au TERGITOL et au TTC.

Au terme de cette analyse, les sources d'eaux étudiées sont de qualité microbiologique mauvaise (présence des entérobactéries et des coliformes totaux et fécaux), et donc ne sont pas conformes aux normes algériennes et aux normes OMS. Cependant la qualité physico-chimique de ces eaux de sources sont de qualité physico-chimique acceptable.

Enfin, nous pouvons faire quelques perspectives jugées être utiles pour la préservation de l'eau de source :

- ✓ L'actualisation les méthodes de recherche et l'utilisation la nouvelle version.
- ✓ Commencer d'utiliser les milieux chromogènes en raison de leurs avantages.
- ✓ La suggestion au pouvoir public de veiller à la préservation de ces sources contres toutes formes de contamination.
- ✓ La conception et la mise en œuvre d'un programme de surveillance de la qualité et de l'assurance de la conformité.
- ✓ Le droit des consommateurs à disposer d'informations relatives à la salubrité de l'eau qu'ils consomme.



*Références*  
*Bibliographiques*

### A

- 1) A. Ouanes \*, a. Kouais, s. Marouen, m. Sahnoun, b. Jemli, s. Gargouri , apport du milieu chromogène chromagarw candida dans le diagnostic mycologique des levures contribution of the chromogenic medium chromagarw candida in mycological diagnosis of yeasts : journal de mycologie médicale (2013) 23 , 237-241 .
- 2) Amacher, m.c., brown, r.w., sidle, r.c. et kotuby-amacher, j., 1995. Effect of mine waste on elementspeciation in headwaterstreams. In: a. Huang et b. Bowers (eds.), metalspeciation and contamination of soils. Lewis publishers, pp. 275-309
- 3) Aouissi a. Et houhamdi m., 2014 : contribution à l'étude de la qualité de l'eau de quelques sources et puits dans les communes de belkheir et boumahra ahmed (wilaya de guelma, nord-est algérien).1er séminaire national sur la santé et bio-surveillance des écosystèmes aquatiques, 12 p.
- 4) Awwa (2017). Water quality in distribution systems. Awwa manual of water supply practices m68. American water works association, denver, co.

### B

- 5) Batool a ., samad n., sabahat kasmi s., ghufraan ma., imad s., shafqat m., mahmood m (2018) . Spring water quality and human health : an assesment of nature springs of margalla hills islamabad zone . International journal of hydrology , vol 2 . 2 n°1 , n°512, p13-15.
- 6) Bourgane l ., ben abdou m., el hadji m., et bouka h.,(2019).consequences of surface water eutrophication ; remedy and environmental interest . Materials today ; proceedings . Vol 13 . P654-662, p654.
- 7) Bberger r., 2004 : fosses d'infiltration pour la récupération de l'eau de pluie.
- 8) Ben salah, f. Makni, f. Cheikhrouhou, s. Neji, h. Sellami, a. Ayadi : les levures du genre malassezia : pathologie, milieux d'isolement et d'identification malasseziaspecies: pathology, isolation and identification media . Journal de mycologie médicale (2010) 20, 53—60.
- 9) Byappanahalli, m.n., nevers, m.b., korajkic, a., staley, z.r. et harwood, v.j. (2012a). Enterococci in the environment. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 76: 685–706.

### C

- 10) C baumgartner, a m freydiere, y gille., 1996,-direct identification and recognition of yeast species from clinical material by using albicans id and chromagar candida plates, volume34, numéro 2.
- 11) C. Coignard-chatain, f. Ajana, m. Caillaux., 1998,-identification des principales levures d'intérêt médical : apport de la gélose chromagar tm candida.annales de biologie clinique, volume 56, numéro 3,p : 348-50.
- 12) c. Coignard-chatain, f. Ajana, m. Caillaux ,identification des principales levures d'intérêt médical : apport de la gélose chromagar tm candida ,volume 56, numéro 3, mai-juin 1998
- 13) Chevalier p. (2003). Coliformes fécaux. Fiche synthèse sur l'eau potable et la santé durant l'évaporation complète du chott merouane dans le sahara septentrional algerie. Article, 10p.

### D

- 14) Degbey c., (2011). Facteurs associés à la problématique de la qualité de l'eau de boisson et l'état de santé des populations dans la commune d'Abomey-calavi au Bénin. Thèse de doctorat en sciences de la santé publique. Ecole de santé publique. Université libre de Bruxelles (ulb)
- 15) Degremont g., 1989 : memento technique de l'eau. Tome 1. 9<sup>ème</sup> édition, cinquantième, Paris, 592 p.
- 16) Degremont g., 2005 : memento technique de l'eau. Tome 1 et 2. 10<sup>ème</sup> édition, tec&doc, Lavoisier, Paris, France, 1718 p.

### E

- 17) Edwards ms, Baker cj. Group B streptococcal infections. In: Remington J.S, Klein J.O., editors. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, United States; 2005, p. 1091–156.

### F

- 18) Fisher, K. and Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of enterococcus. *Microbiology*, 155 (6):1749–1757.

### G

- 19) Guarini Philippe et Vanhems, 2016 . Microbiologie des eaux ; recherche et dénombrement des coliformes et d'*e.coli* ; incertitude associées à la couleur des colonies observées sur milieu CCA .

### H

- 20) H. Leclerc, A. Moreau, Microbiological safety of natural mineral waters, *FEMS Microbiol. Rev.* 26 (2002) 207–222.
- 21) Hamdi W, Youcefi M, Touil Y, Bougrinat R, Ferhi N, Didi Ould El Hadj M ., 2012, - contribution à l'étude de quelques caractéristiques physicochimiques et hygiéniques des eaux usées issues de rejets de certaines localités de la cuvette de Ouargla (Sahara septentrional est algérien). *Revue des sciences de la terre et de la vie*, volume 2 , n°1.
- 22) Hoet, Perrine. Baryum et composés.. In: encyclopédie médico-chirurgicale, Elsevier Masson SAS : Paris 2018, p. volume 13, n°2, p. 1-11
- 23) Haut-commissariat aux eaux et forêt et la lutte contre la désertification (HCEFLD). (2006). Etude sur la pisciculture au barrage Almassira, CR Dar Chafaai, Cercle d'Elbrouge, Province de Settat, p : 201.

### J

- 24) Joadp (2011) décret exécutif n° 11-125 du 23 mars 2011 relatif à la qualité de l'eau destinée à la consommation humaine en Algérie. *Officiel J de la République Algérienne démocratique et populaire*.

### K

- 25) Kammerf . (1984). Manuelle de l'eau .edit .Lavoisier technique et documentation. P : 95-96 -112.
- 26) Kettab A., (2020) Les ressources en Algérie : réalité, enjeux, stratégies , et perspectives séminaires international ( Eaux et changement climatique au Maghreb) p1.
- 27) Kherifi W ,2016. Pollution et protection des eaux de lac Mellah (n-e algérien) au droit des rejets urbains : proposition d'un collecteur principal .thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba p :284 .

### L

- 28) Lanjri a. F, brigui j, el cadi a, khaddor m, salmoune f. (2014). Caractérisation physicochimique et bactériologique des eaux souterraines de tanger (physico-chemical and bacteriological characterization groundwater of tangier). Master : environ. Sci., 2230- 2235 pp.
- 29) Lapeguepet ribsteinp . La qualité et les analyses d'eaux : action contre la faime espagne en mali , 2006 . P 22-23.
- 30) Lepeltier s., 2005 : un bon état écologique des eaux. Ministre de l'écologie et du développement durable
- 31) Lounnasa, 2009 . Amélioration des procédés de clarification des eaux de la station hamadi-kroma de skikda . Mémoire de magister en chimie , option ; pollution chimique et environnement , univertsité de 20 aout 1955 , skikda algérie . P : 120.

### M

- 32) Merabet s. 2010. Evaluation de la qualité physico-chimique dese au brut et distribuées de barrage réservoir de béni haroune.mémoir du magister, université mentouri de constantine, p ; 4-5-7-10
- 33) Mizi , 2006 .traitement des eaux de rejet d'une raffinerie – région de béjaia et valorisation des déchets oléicoles. Thèse pour l'obtention du doctorat d'état , université badji mokhtar annaba p :189 .

### O

- 34) Odds, f.c., and r. Bernaerts. 1994. Chromagar candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important candida species. J. Clin. Microbiol. 32: 1923-1929.
- 35) olivier gaillot , muriel wetsch , nicolas fortuneau , patrick berche , évaluation de chromagarstaph. Aureus, un nouveau milieu chromogénique, pour l'isolement et l'identification présomptive de *staphylococcus aureus* à partir d'échantillons cliniques humains 2000.
- 36) olivier gaillot , patrick di camillo , patrick berche , rené courcol , colette savage : comparaison du chromagar salmonella medium et de la hektoenteric agar pour l'isolement des salmonelles à partir d'échantillons de selles ,revues asmjournal de microbiologie clinique vol. 37, n° 3 ,1999
- 37) Oms (organisation mondiale de la santé) (2011). Directives pour la qualité de l'eau de boisson, quatrième édition. Oms, genève, suisse.
- 38) Oms et ocde (2003). Assessingmicrobialsafety of drinking water – improvingapproaches and methods. Organisation mondiale de la santé et l'organisation de coopération et de développement économiques (ocde).
- 39) Opeoct , 2003 ; la qualité de l'eau et assinsissement en france .

### P

- 40) Perry d. J. Et al. – evaluation of a chromogenic culture medium for isolation of clostridium difficile within 24 hours. – journal of clinical microbiology - 2010, p. 3852-3858.
- 41) Petit f & erpicum m., (1987),-variations des températures des eaux de sources et de leur débit en fonction de leur mode d'alimentation, bull. Socio. Géo de liége, n°22, 23ème année, p :161-172

- 42) Potelon j, 1998 : le guide des analyses de l'eau potable. Edition lettre du cadre territorial, france, 120 p.
- 43) Pourriot r. Et meybek m., 1995 : limnologie générale. Collection d'écologie générale. Edition masson, paris, 931 p.

### R

- 44) Rejsek f., 2002 : analyse des eaux. Aspects réglementaire et techniques. Série science et techniques de l'environnement. Edition scérén, paris, 358 p.
- 45) Rejsek, f., (2002) .analyse des eaux. Aspects réglementaires et technique. Édition. Scérén,pp (45-54),france
- 46) Rejski
- 47) René m. (2010). L'eau, sa pollution, et son traitement. Note bene : tout mise en œuvre de ce qui est décrit dans les chapitres doivent être faite avec une personne compétant, 13p.
- 48) Revue enterocoque : flahaut s, auffray y, boutibonnes p.,1997, -canadian journal of microbiology. Les entérocoques dans l'environnement proche de l'homme, volume 43, numéro 8, p : 699–708
- 49) Rodier j ;bernard l ;nicole m, (1996). « l'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer ». 8ème édition. Dunod. Paris
- 50) Rodier j., 1984 l'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer. 5ème edition, dunod, paris, 1500 p.
- 51) Rodier j., 2005 : l'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 8ème edition, dunod, paris. 1381 p.
- 52) Rodier j., legube b., merlet n., brunet r., 2009 : l'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 9ème edition, dunod, paris, 1511 p.
- 53) Rodier, j., (1996) - l'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer,8ème, édition, paris, pp. 799-780.
- 54) Rodier, j., legube, b, merlet, n., et coll. (2009) - analyse de l'eau, série l'environnement et sécurité. Paris, france, dunod <sup>8ème</sup>, pp.127, 754, 755, 759,
- 55) Rousseau c. Et al. - comparaison de trois milieux pour la culture de clostridium difficile : intérêt des milieux favorisant la germination des spores ? – patholbiol (paris), 2009, doi:10.1016/j.patbio.2009.07.001.

### S

- 56) Saidi s., 2014 : la qualité des eaux du sous bassin versant de l'oued aissi. Mémoire ingénieure. Université mouloud mammeri, tizi-ouzou, 169 p.
- 57) Samake h. (2002). Analyse physico-chimique et bactériologique au l.n.s des eaux de consommation de la ville de bamako durant la période 2000 et 2001, p : 77
- 58) Si abderahmane o., 2016 : contribution à l'évaluation du système management et qualité des paramètres physico-chimiques, bactériologiques et organoleptiques des eaux des stations de traitement taksebt et boudouaou. Mémoire de master : université mouloud mammeri de tizi-ouzou, algérie.
- 59) Staley, c., dunny, g.m. et sadowsky, m.j. (2014). Environmental and animal-associated enterococci. Adv. Appl. Microbiol., 87: 147–186.

### T

- 60) Takamasa kaneko, koichi makimura, michiko abe, ryoko shiot, yuka nakamura, rui ka no, atsuhiro hasegawa, takashi sugita, shuichi shibuya, shinichi watanabe, hideyo yamaguchi, shigeru abe, and noboru okamura( 2007 ), revised culture-based system for

identification of *malassezia* species : volume 45, issue 11, november 2007, pages 3737-3742.

### V

- 61) Vilagines r., 2003 : eau, environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie. 2ème édition, tec & doc, paris, p : 198 .

### Z

- 62) Z bouslah ,mahjoub, z allagui, m dabboussi, m zouaoui, a bibi., 2020,-apport des milieux chromogènes uriselect4® et cps id3® dans l'isolement et l'identification des germes responsables d'infections urinaires,volume 78, numéro 1,p :47-53
- 63) Zeghoud, (2014). L'étude de système d'épuration des eaux usées urbaines par lagunage naturel de village de méghibra. Mémoire master. Université d'el oued.



***Annexes***

## Annexe 1 : compositions des milieux de cultures

<b>Milieu chromogène pour les coliformes CCA</b>						
Composition	(g)	pour	1	litre	de	milieu :
Digestat enzymatique de caséine:	.....					1,0
Extrait autolytique de levure:	.....					2,0
Chlorure de sodium:	.....					5,0
Dihydrogénophosphate de sodium x 2 H <sub>2</sub> O:	.....					2,2
Hydrogénophosphatedisodique:	.....					2,7
Pyruvate de sodium:	.....					1,0
Sorbitol:	.....					1,0
Tryptophane:	.....					1,0
Tensioactif à l'éthoxylate d'alcool secondaire:	.....					0,15
6-Chloro-3-indoxyl-β-D-galactopyranoside:	.....					0,2
Acide 5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl- β-D-glucuronique:	.....					0,1
Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside (IPTG):	.....					0,1
Agar:	.....					16,0
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C :						6,8 ± 0,2.

<b>Milieu lactosée eu tergitol7 et au TTC</b>						
Composition	(g)	pouvant	être	modifiée	pour	1 litre de milieu :
Peptone pancréatique de viande :	.....					10,0.
Extrait de viande :	.....					5,0.
Extrait autolytique de levure :	.....					6,0.
Lactose :	.....					20,0.
Tergitol 7 :	.....					0,1.
Bleu de bromothymol :	.....					0,050.
Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium :	.....					0,025.
Agar:	.....					10,0.
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :						7,2 ± 0,2.

<b>Milieu Slanetz et Bartley</b>						
Composition	(g)	pouvant	être	modifiée	pour	1 litre de milieu :
Tryptose :	.....					20,0.
Extrait autolytique de levure :	.....					5,0.
Glucose :	.....					2,0.
Phosphate dipotassique :	.....					4,0.
Azide de sodium :	.....					0,4.
Chlorure de 2, 3, 5, Triphényltétrazolium :	.....					0,1.
Agar:	.....					10,0.
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :						7,2 ± 0,2.

**Milieu CHROMagar salmonelle**

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :	
Sels : .....	8.5
Mélange chromogène : .....	1.3
Agents inhibiteurs : .....	0.02
Agar : .....	15.0
Peptones et extrait de levure : .....	8.0
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : .....	
	7, ± 0,2.

**Milieu CHROMagarCampylobacter**

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :	
Agar : .....	15.0
Tampon phosphate : .....	10.0
Chlorure de sodium : .....	5.0
Peptones et extrait de levure : .....	25.5
Na CL : .....	9.0
Mix chromogènes et sélectif : .....	2.2
Suppléments de poudre spécifique : .....	0.21 g/l
Amidon : .....	1.0
Mélanges d'antibiotiques (céfopérazone ,vancomycine et Amphotéricine B) .....	80mg
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : .....	
	7,4 ± 0,2.

**Milieu CHROMagar*C. difficile***

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :	
Peptone de viande (porcin) : .....	8,0 g
Taurocholate (bovin) : .....	1g
Extrait de levure : .....	3,5 g
Chlorure de sodium : .....	6,0 g
Mélange sélectif : .....	0,27 g
Mélange chromogène : .....	0,3
g Agar : .....	13,0 g
Eau purifiée : .....	1 l
pH.....	7,3

**Milieu CHROMagar*Staphylococcus aureus***

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :	
Chlorure de sodium : .....	25.0 g
Peptones et extrait de levure : .....	40.0
Chromogènes mix : .....	0.5
Agents inhibiteurs:.....	0,07 g
Agar : .....	14,0 g
pH : .....	6.8 +/- 0.2

<b>Milieu cétrimide</b>	
Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :	
Peptone pancréatique de gélatine:.....	16,0
Hydrolysate acide de caséine: .....	10,0
Glycérol: .....	10 ml
Sulfate de potassium: .....	10,0
Chlorure de magnésium: .....	1,4
Cétrimide: .....	0,2
Acide nalidixique: .....	15 mg
Agar: .....	11,0
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : .....	7,1 ± 0,2

<b>Milieu CHROMagar<i>Malassezia</i></b>	
Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :	
Agar :.....	15.0
Peptones and extracts : .....	38.0
Chloramphenicol : .....	0.5
Chromogènes mix : .....	2.8
Suppléments obligatoires (non fournis par le Chromagar)	
Glycérol : .....	2g
Tween 40 :.....	10g
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :.....	6.3 +/- 0.3

<b>Milieu CHROMagar<i>Candida</i></b>	
Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :	
Agar :.....	15.0
Peptones: .....	10.2
Glucose :.....	20
Chloramphenicol : .....	0.5
Chromogènes mix : .....	22.0
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :.....	6.1 +/- 0.2

<b>Milieu CHROMagar<i>Streptococcusagalactiae</i></b>	
Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de	
Agar :.....	15g
Peptones et facteurs de croissance :.....	33g
Contrastants :.....	3g
Substrats chromogéniques :.....	0.4g
Antibiotiques et antifongiques :.....	0.04g
pH .....	7,3+/- 0.2

**Milieu CHROMagar orientation**

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de

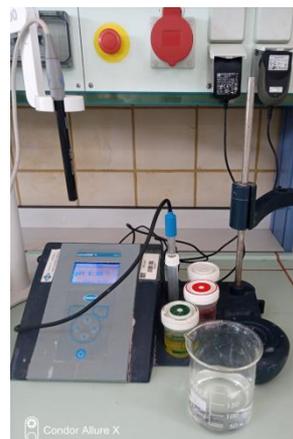
Agar :.....	15g
Peptones :.....	17 g
Substrats chromogéniques :.....	1.3 g
Gélose :.....	15g
pH :.....	6,9 ± 0,2

**Annexe 2: Appareillage utilisé pour les analyses effectuées****Étuve de 36°C****Bain marie**

Étuve de 44°C



Turbidimètre



Spectrophotomètre



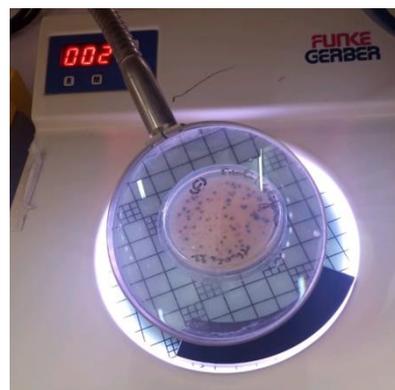
PH mètre



Autoclave



La Rompe De Filtration



**Conductimètre**

**Compteur des colonies**



**Plaque chauffante et  
agitateur**

**Annexe 3: les sources d'eaux analysées.**



**Source A**



**Source B**



Source C



Source D



Source E



Source F



Source G

Source H

Annexe 4: Tableau VI de matériel et réactifs utilisées dans l'analyse bactériologique

Appareillage	Verrerie	Produits chimiques, réactifs et additifs	Les milieux de cultures
<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Rampe de filtration</li> <li>✚ Bec benzène</li> <li>✚ Etuve (37°C-44°C)</li> <li>✚ Autoclave 120°C</li> <li>✚ Turbidimètre</li> <li>✚ pH-mètre</li> <li>✚ Agitateur</li> <li>✚ Plaque chauffante</li> <li>✚ Spectrophotomètre</li> <li>✚ Conductimètre</li> <li>✚ Bain marie 80°C</li> <li>✚ Compteur de colonies</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Flacon stérile de 250ml</li> <li>✚ Fiole jaugé 50ml, 250ml</li> <li>✚ Boîtes de pétri</li> <li>✚ Micropipette</li> <li>✚ Pipette pasteur</li> <li>✚ Portoir à</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Disque d'oxydase</li> <li>✚ Kovacs</li> <li>✚ Eau distillé</li> <li>✚ Eau physiologique</li> <li>✚ Alcool</li> <li>✚ Bouillon tryptophane exempte d'indole</li> <li>✚ Additif TTC1%</li> <li>✚ Additif Tergitol 7</li> <li>✚ Additif TTC tergitol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Milieu Tergitol base TTC</li> <li>✚ Milieu TSA</li> <li>✚ Gélose CCA</li> <li>✚ Milieu BEA</li> <li>✚ Milieu Slanetz et Bartley</li> <li>✚ Milieu cétrimide</li> </ul>

	<p>tube essai</p> <p> Pipette graduée</p> <p> Pince stérile</p>		
--	---	--	--

**Annexe 5:** Tableau VII Dates de prélèvements des échantillons pour les analyses bactériologiques et physico-chimiques.

Dates des prélèvements des échantillons pour l'analyse bactériologique	Dates des prélèvements des échantillons pour l'analyse physico-chimique
18/05/2022	30/05/2022
23/05/2022	26/07/2022
18/06/2022	
19/06/2022	
20/06/2022	
26/06/2022	
27/06/2022	
25/07/2022	

**Annexe 6: résultats des analyses statistiques**

**Tableau VIII:** Analyse de la variance à un seul facteur

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
A	8	123	15,375	75,9821
B	8	78	9,75	175,071
C	8	49	6,125	14,4107
D	8	82	10,25	101,071
E	8	254	30.625	661.696
F	8	81	10,125	16,9821
G	8	22	2,75	18,2143
H	8	4	0.5	0,28571

Source des Variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	4867,75	7	695,39285	5,2299	0,00124	2,1781
A l'intérieur des groupes	7446	56	132,96428			
Total	12313,75	63				

**Tableau IX:** Analyse de la variance à deux facteurs des coliformes totaux.

<i>Total</i>								
Nombre d'échantillons	16	16	16	16	16	16	16	16
Somme	1137	539	838	618	845	731	1025	406
Moyenne	71,0625	33,6875	52,375	38,625	52,8125	45,6875	64,0625	25,375
Variance	3380,996	1384,896	3681,183	2552,65	3215,363	2723,296	6348,596	2456,783

ANALYSE DE VARIANCE							
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F	
Échantillon	156870	1	156870	80,26438	8,29E-15	3,925834	
Colonnes	26274,37	7	3753,481	1,920513	0,072723	2,092381	
Interaction A l'intérieur du groupe	10391,8	7	1484,544	0,759584	0,622252	2,092381	
	218894,6	112	1954,416				
Total	412430,8	127					

**Tableau X :** Analyse de la variance à deux facteurs des *E. coli*.

<i>Total</i>								
Nombre d'échantillons	16	16	16	16	16	16	16	16
Somme	1203	328	624	399	857	324	945	47
Moyenne	75,1875	20,5	39	24,9375	53,5625	20,25	59,0625	2,9375
Variance	3115,896	1199,733	3292,133	2440,863	3527,996	867,8	5794,063	47,39583

ANALYSE DE VARIANCE							
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F	
Échantillon	53997,2	1	53997,2	28,11708	5,8E-07	3,925834	
Colonnes	65310,18	7	9330,026	4,858273	8,22E-05	2,092381	
Interaction A l'intérieur du groupe	35201,62	7	5028,802	2,618567	0,015287	2,092381	
	215089,4	112	1920,441				
Total	369598,4	127					

