REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par : M elle AMIRAT Asma
M elle NECIRI Saliha

Thème

Etude de la qualité bactériologique de l'eau de citerne vendue dans la ville d'Ouargla

Soutenu publiquement

Le : 30 /05/2017

Devant le Jury:

Président : MIMOUNI Yamina	**MCA**	**UKM Ouargla**
Encadreur: BENAISSA Atika	**MCB**	**UKM Ouargla**
Examinateur : BOURICHA Ahmed	**MAA**	**UKM Ouargla**

Année universitaire 2016/2017

Remerciements

L'accomplissement du présent travail n'a été possible qu'avec le soutien d'ALLAH et de certaines personnes.

Nous exprimons nos sincères remerciements ainsi que notre grande reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'étude et leur exprimer notre gratitude pour l'intérêt et le soutien qu'ils nous ont généreusement accordé.

Nos remerciements s'adressent à notre encadrant : Mme BENAISSA Atika pour avoir dirigé notre projet de fin d'étude. La confiance et le soutien, qu'elle nous a accordé, nous ont permis de mener à bien ce travail.

Aux membres du jury Mimouni Yamina et Bouricha A'mhmed qui ont daigné laisser leurs multiples occupations pour se donner la peine d'examiner ce travail, nous leur sommes infiniment reconnaissants. Leurs critiques et suggestions contribuerons certainement à rehausser la valeur scientifique de ce travail.

Enfin nous remercions tous les enseignants du Département de SNV de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, pour leur contribution dans notre formation, et en particulier les enseignants de microbiologie.

Dédicaces

à

Je dédie ce modeste travail, à **mes parents**, pour leurs sacrifices et encouragements à mon égard, que **Dieu** leur accorde une longue vie.

A ma sœur et mes frères

A toutes **ma famille Amirat** de près ou de loin

A tous **mes amis**

Pour m'avoir constamment soutenu moralement et m'encourager à aller de l'avant, face aux difficultés rencontrées.

ASMA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, à mes parents, pour leurs sacrifices et encouragements à mon égard, que Dieu leur accorde une longue vie.

A mes sœurs et frères

A toutes ma famille NECIRI de près ou de loin

A tous mes amis

Pour m'avoir constamment soutenu moralement et m'encourager à aller de l'avant, face aux difficultés rencontrées.

SALIHA

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation**.**

H+ : ion d'hydrogène**.**

NF : Norme Française.

NPP : Nombre le Plus Probable.

OMS : Organisation Mondiale de Santé.

UFC : Unité Formant Colonie.

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	page
Tableau I	Normes et Recommandation Pour La Qualité Bactériologique de L'eau potable (BERNE, 1972).	**5**
Tableau II	Germes recherchés et normes utilisées (SOUNCY et *al*., 2015)	**12**
Tableau III	Résultats des analyses bactériologiques	**25**
Tableau IV	Dénombrement des flores bactériennes par échantillon	**26**

Liste des figures

Figures	Liste des figures	Page
Figures 1	Cycle de l'eau (Sari, 2014)	**3**
Figures2	Préparation des dilutions décimales	**13**
Figures 3	Mode opératoire du dénombrement des micro-organismes aérobie	**14**
Figures 4	Mode opératoire du dénombrement des coliformes totaux	**15**
Figures 5	Identification des Coliformes fécaux (*E. coli)*	**16**
Figures 6	Mode opératoire du dénombrement des *Clostridium sulfito réducteurs*	**18**
Figures 7	Mode opératoire du dénombrement des streptocoques fécaux	**21**
Figures 8	Température prélevées sur les échantillons étudiés en degrés celcius (°C)	**22**
Figures 9	pH des échantillons d'eau de citernes étudiés	**23**
Figures 10	Evaluation de la contamination globale de l'eau étudiée	**27**
Figures 11	Dénombrement des germes totaux des échantillons d'eau de citerne étudiés	**28**
Figures 12	Dénombrement des coliformes totaux des échantillons d'eau de citernes étudiés	**30**
Figures 13	Dénombrement des coliformes fécaux des échantillons d'eau de citernes étudiés	**31**
Figures 14	Dénombrement des Streptocoques fécaux des échantillons d'eau de citernes, étudiés	**32**

Liste des photos

Photos	Titre	Page
Photo N°1	Observation des FAMT à 37°C Sur milieu PCA	**Annexe 4**
Photo N°2	Observation des coliformes totaux sur milieu VRBL a 30°C	**Annexe 4**
Photo N°3	Observation des coliformes Fécaux sur milieu VRBL a 44°C	**Annexe 4**
Photo N°4	Recherche des streptocoques sur milieu ROTHE	**Annexe 4**
Photo N°5	Recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs*	**Annexe 4**

TABLE DES MATIERES

Remrciement

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction.....1

Chapitre I:Généralités sur les eaux

I.1.Propriétés de l'eau 3

I.2. cycle de l'eau.....3

I.3. Les eaux d'approvisionnement.....4

I.3.1.Eaux souterraines.....4

I.3.2. Eaux de surface.....4

I.4. Potabilité de l'eau.....4

I.4.1.Définition.....4

I.4.2.Classification des eaux de consommation 5

I.4.2.1. Eaux du robinet.....5

I.4.2.2. Eaux embouteillées.....5

I.5. Normes de la qualité bactériologique de l'eau potable 5

Chapitre II: Aspect microbiologique des eaux

II.1. Différents types de pollution des eaux 6

II.1.1.Définition 6

II.1.2. Pollution biologique 6

II.1.3. Pollution physique.....6

II.1.4. Pollution chimique 6

II.2. Microorganismes de l'eau 6

II.2.1.Germes totaux 7

II.2.2.Coliformes totaux 7

II.2.3.Coliformes thermotolérants (ou fécaux) 7

II.2.3.1. Escherichia coli 7

II.2.4. Streptocoques fécaux.....8

II.2.5. Clostridium Sulfito-Réducteurs 8

II.3.Facteurs d'environnement affectant la survie des microorganismes dans l'eau 8

II.3.1.Température 8

II.3.2.Potentiel d'hydrogène pH 8

II.3.3.Oxygène dissous.....9

II.4. Maladies à transmission hydrique 9

II.4.1.Le choléra.....9

II.4.2.La fièvre typhoïde et para typhoïde 9

II.4.3.La dysenterie bacillaire 10

Chapitre III: Matériel et méthodes

III.1. Matériel 11

III.2.Echantillonnage 11

III.3.Transport des échantillons 11

III.4.Méthodes d'analyses 11

III.4.1. Analyses physicochimiques 11

III.4.1.1. Mesure de la température.....12

III.4.1.2. Mesure de potentiel d'hydrogène 12

III.4.2.Analyses bactériologiques 12

III.4.2.1 Préparation des dilutions décimales.....13

III.4.2.2. Recherche de la flore aérobie mésophile totalet 14

III.4.2.3 Recherche des coliformes totaux 14

III.4.2.4. Recherche des coliformes fécaux et identification d'*Escherichia coli* 15

III.4.2.5. Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs.....16

III.4.2.6. Lecture et interprétation.....18

III.4.2.7. Recherche des Streptocoques fécaux 19

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Analyses physico-chimiques 22

IV.1.1. Mesures de la température 22

IV.1.2. Mesures de Potentiel d'hydrogène 23

IV.2. Analyses bactériologiques 24

IV.2.1. Germes rencontrés dans les échantillons d'eau 24

IV.2.2. Evaluation de la contamination globale des échantillons de l'eau étudiés par les germes recherchés 25

IV.2.3. Flore aérobie mésophile totale 28

IV.2.4. Coliformes 29

IV.2.4.1. Coliformes totaux 30

IV.2.4.2. Coliformes fécaux 31

IV.2.5. Streptocoques 31

IV.2.6. Clostridium sulfito- réducteurs 32

Conclusion 34

Références bibliographiques 35

Annexe

Introduction

Introduction

L'eau est l'élément essentiel à la vie. Elle représente un pourcentage très important dans la constitution de tous les êtres vivants, Le corps d'un être humain adulte est composé de 60% d'eau et une consommation minimale de 1,5 litre d'eau par jour lui est nécessaire (DIOP, 2006).

La molécule d'eau est l'association d'un atome d'oxygène et de deux atomes d'hydrogène sous le symbole H_2O. En tant que liquide, elle est considérée comme un solvant universel. L'eau se congèle à 0° C et sa température d'ébullition est 100°C, à cette température l'eau s'évapore. L'eau est un liquide sans odeur, sans couleur et sans goût (GERARD, 1999).

L'eau est utilisée pour de nombreux usages essentiels: la boisson, la préparation des repas, l'hygiène, l'entretien de l'habitation, les loisirs, la fabrication dans l'industrie, l'irrigation des cultures et l'abreuvement du bétail (LEEMANS et *al.*, 2008).

L'eau peut être aussi une source de maladie. D'après un rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé cinq millions de nourrissons et d'enfants meurent chaque année de maladies diarrhéiques dues à la contamination des aliments ou de l'eau de boisson contaminés (PULIM, 1991).

La consommation d'une eau potable, est un facteur déterminant dans la prévention des maladies liées à l'eau, elle doit bénéficier d'une attention particulière. En effet, une eau destinée à la consommation humaine est potable lorsqu'elle est exempte d'éléments chimiques et/ou biologiques susceptibles, à plus ou moins long terme nuire à la sante des individus (JOHN et *al.*, 2010).

Parmi les nombreux micro-organismes qui peuplent les eaux de citerne sont les germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, streptocoques fécaux et les Clostridium sulfito-réducteurs se qui sont des indicateurs les plus utiles pour estimer la contamination bactériennes (FEWTRELL et *al.*, 2001).

L'objectif de ce travail consiste à faire des analyses bactériologiques pour évaluer la qualité de l'eau de citerne vendue dans la ville d'Ouargla.

Cette étude est répartie en deux parties, une partie bibliographique dans laquelle un ensemble de données et d'informations concernant notre thème ont été collecté. Cette partie est partagée entre deux chapitres comme suit :

- Le *premier chapitre* est un rappelle sur l'eau d'une façon générale, avec les normes de potabilité des eaux.
- Le *deuxième chapitre* présente les diverses pollutions qui affectent l'eau et les microorganismes de l'eau avec les maladies à transmission hydrique.

La deuxième partie est consacrée à la méthodologie adoptée pour réaliser la partie expérimentale. Les résultats et discussions sont représentés dans la troisième partie. Une conclusion suivie de perspectives viennent achever notre manuscrit.

Partie bibliographiques

Chapitre I

Généralités sur les eaux

I.1.Propriétés de l'eau

L'eau est un liquide incolore, inodore, sans saveur et de pH neutre (PERRY, 1984).

C'est un excellent solvant entrant dans la composition de la majorité des organismes vivants. Près de 70% de la surface de la terre est recouverte d'eau (BERNARD, 2007).

L'eau est un composé chimique simple, sous l'action du soleil, de la pression atmosphérique et de la température, elle change d'état, liquide à température et pression ambiantes, gazeuse au-dessus de 100°C et solide en dessous de 0°C. Sa formule chimique est H2O, c'est-à-dire que chaque molécule d'eau se compose d'un atome d'oxygène et de deux atomes d'hydrogène (ABDESSELEM, 1999).

La circulation de l'eau au sein des différents compartiments terrestres est décrite par son cycle biogéochimique, le cycle de l'eau (BERTRAND, 2008).

I.2. cycle de l'eau

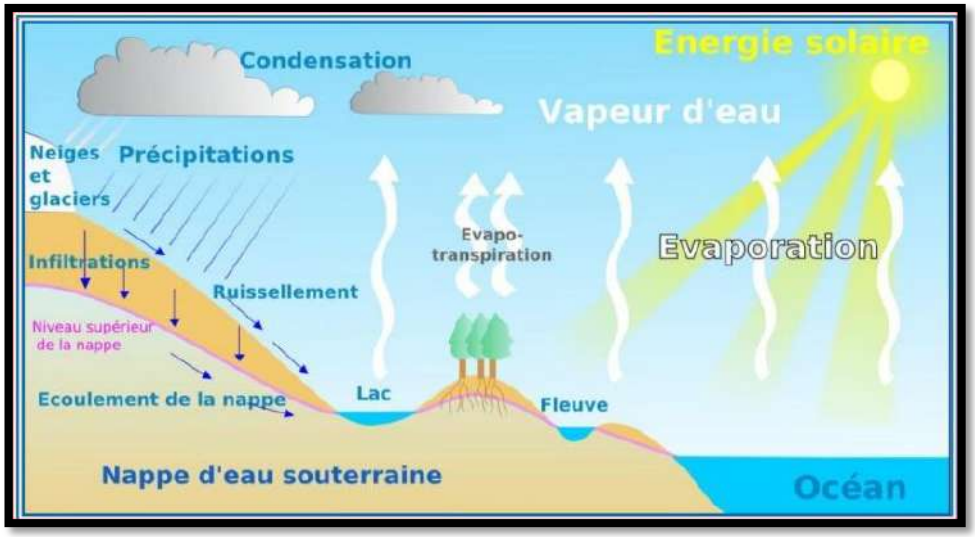


Figure 1 : Cycle de l'eau (Sari, 2014)

L'hydrosphère chauffée par l'énergie solaire, s'évapore et conduit à la présence d'eau dans l'atmosphère. Cette eau, à la suite d'un refroidissement de l'air, se condense en gouttes ou cristaux de glace et se trouve précipitée sous forme de pluie, neige ou grêle sur lithosphère

à la surface de laquelle approximativement ¼ pénètre, ¼ ruisselle, quant au ¼ restants, il s'évapore à son tour (VILAGINES, 2003).

I.3. Les eaux d'approvisionnement

Les réserves disponibles d'eaux naturelles sont constituées des eaux souterraines (infiltration, nappes), des eaux de surface retenues ou en écoulement (barrages, lacs, rivières) et des eaux de mer (DEGREMONT, 2005).

I.3.1.Eaux souterraines

Les eaux souterraines proviennent à l'accumulation des infiltrations des eaux de pluie dans le sol qui varient en fonction de sa porosité et sa structure géologique. Elles sont généralement d'excellente qualité physico-chimique et bactériologique (CARDOT, 1999). Et sont souvent bonnes eaux pour une consommation sans traitement (SDE, 2005).

I.3.2. Eaux de surface

Les eaux de surface sont des eaux qui circulent ou qui sont stockées à la surface des continents. (DEGREMONT, 2005).

Elles ont pour origine, soit des rivières ou des lacs et subissent des traitements de purification par un processus a cinq étapes : un prétraitement, une décantation, une filtration, un affinage puis une désinfection (SDE, 2005).

I.4. Potabilité de l'eau

I.4.1.Définition

Est considérée comme une eau de consommation qui est adaptée et destinée à la consommation humaine soit à la boisson, à la cuisson ou à la préparation d'aliments et à d'autres usages domestiques, quelles que soit leur origine et qu'elles soient fournies par un réseau de distribution, à partir de citernes, en bouteille ou en conteneur (PERRY, 1984), Une eau est dite potable qui n'offre pas d'inconvénients pour la santé du consommateur (FREDDY, 2010).

I.4.2.Classification des eaux de consommation

I.4.2.1. Eaux du robinet

Ces eaux proviennent de captage d'eaux superficielles (cours d'eau, lac… etc.), de nappes ou de sources souterraines. Ces eaux subissent plusieurs traitements avant leur distribution (SOUMARE, 1997).

I.4.2.2. Eaux embouteillées

Elles doivent provenir de nappes souterraines très protégées et mises à l'abri de toute souillure, Elles sont mises dans des bouteilles en plastique ou en verre (TRAORE, 1996).

I.5. Normes de la qualité bactériologique de l'eau potable

Les deux groupes de micro-organismes les plus utilisés comme indicateurs de contamination bactérienne sont les coliformes totaux et les coliformes fécaux, l'objectif

visé et l'absence de coliforme dans 100 ml d'eau, mais si cet objectif n'est pas atteint le règlement sur l'eau potable a proposé les limites maximales suivantes : **Tableau N° I**

Tableau N°I : Normes et Recommandation Pour La Qualité Bactériologique de L'eau potable (BERNE, 1972).

Paramètres bactériologiques	**Unités**	**Recommandation (OMS)**
Germes totaux	Germe/ml	100
Coliformes fécaux	Germe /100ml	0
Streptocoques fécaux	Germe /100ml	0
Clostridium sulfito réducteurs	Germe /20ml	0

Chapitre II

Aspect microbiologique des eaux

II.1. Différents types de pollution des eaux

II.1.1.Définition

La pollution des eaux est une dégradation physique, chimique, biologique ou bactériologique de ses qualités naturelles, généralement provoquée par l'homme, qui la rend impropre ou dangereuse à la consommation humaine (A.I.D.E, 2014).

II.1.2. Pollution biologique

La pollution biologique est souvent provoquée par les rejets d'eaux d'égouts domestiques et la présence de matières fécales dans la nature. De nombreux microorganismes vivants naturellement dans l'intestin de l'homme et des animaux peuvent survivre assez longtemps dans l'eau. Toutefois l'eau peut abriter des bactéries, des mycètes, des protozoaires, des virus ….etc. (DAHEL, 2009).

II.1.3. Pollution physique

La pollution physique est due à la présence de matières en suspension parfois de colloïdes, elle se traduit par un trouble ou une coloration plus ou moins prononcée (LEROY, 1999).

II.1.4. Pollution chimique

La pollution chimique est due à la présence de substances en solution, elle se traduit par un changement de saveur (eau salée ou saumâtre) parfois par l'apparition d'un caractère toxique lorsque le corps dissout est un poison (UPMC, 2011).

II.2. Microorganis de l'eau

L'eau destinée à l'alimentation humaine contient une multitude de microorganismes pathogènes, agents d'infections humaines redoutables. Ce sont des bactéries, des virus, voire des champignons et des algues (HASLAY. et LECELER ., 1993).

II.2.1.Germes totaux

Ce sont des germes qui se développent dans des conditions aérobies et aéro-anaérobie facultatifs, capables de former des colonies de taille et de formes différentes dans un milieu de culture nutritif gélosé après incubation à 30°C pendant 72h (TOURAB, 2013).

II.2.2.Coliformes totaux

Les coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae.* Le terme « coliforme » correspond à des microorganismes en bâtonnets, aéro-anaérobies facultatifs, Gram négatif, non sporulant, oxydase négatif, capables de se multiplier en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface ayants des propriétés inhibitrices et capables de fermenter le lactose avec production de gaz à 35-37°C (RODIER, 2005).

II.2.3.Coliformes thermotolérants (ou fécaux)

Les coliformes thermotolérants forment un sous-groupe de bactéries de coliformes qui fermentent le lactose à une température comprise entre 44 à 45 °C pendant 24 heures. Ce groupe comporte plusieurs souches différentes (*Citrobacter freundii, Entérobacter aerogenes, Klebsiella*...etc.) , la souche type est *Escherichia coli* (RODIER, 1996).

Les coliformes fécaux ne se trouvent que chez les animaux, ce qui fait d'eux un indicateur intéressant. Leur présence dans l'eau traduit donc nécessairement une contamination fécale (DIOP, 2006).

II.2.3.1. Escherichia coli

Les bactéries *E. coli* sont considérées comme le meilleur indicateur de contamination fécale. Leur présence dans l'eau signifie que cette dernière est contaminée par une pollution d'origine fécale et qu'elle peut donc contenir des microorganismes pathogènes. Bien que la plupart de ces bactéries ne soit pas pathogènes, elles peuvent présenter des risques pour la santé, ainsi pour que la qualité de l'eau, provoquant des odeurs et saveurs désagréables (FNS, 2013)

II.2.4. Streptocoques fécaux

Les Streptocoques fécaux appartiennent à la famille de *Streptococcaceae,* au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de Lance Field (DEKHIL et *al.,* 2013).

Ils sont définis comme étant des cocci sphériques légèrement ovales, gram positifs. catalase négatif et anaérobies facultatives. Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes, ils ne forment pas d'endospores et certaines espèces font preuve de mobilité (CEAEQ, 2005).

II.2.5. Clostridium Sulfito-Réducteurs

Les Clostridium Sulfito-Réducteurs sont des bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol, elles sont souvent considérées comme des témoins de contamination fécale ancienne ou intermittente (BORDJAH, 2011).

Ce sont des bacilles Gram positifs, anaérobies stricts, isolées ou en chaînettes, mobiles, catalase positif, réduisent le sulfite de sodium en sulfure. La forme sporulée des Clostridium Sulfito-Réducteurs est beaucoup plus résistante que les formes végétatives (BOURGEOIS, 1996).

II.3.Facteurs d'environnement affectant la survie des microorganismes dans l'eau potable

II.3.1.Température

La survie des bactéries diminue avec la température. En moyenne l'optimum de température de stockage voisine les 15 à 20 °C, il y aussi des microorganismes vivant a une température proche de 37 °C. Dans le cas particulier des bactéries thermophiles, l'optimum de survie est à environ 45°C (MICHEL et al., 2000).

II.3.2.Potentiel d'hydrogène pH

Le pH ou potentiel Hydrogène de l'eau mesure sa concentration en ion H+. Il traduit son caractère acide ou basique, Le pH de l'eau influe sur la vie des bactéries (acidophiles,

neutrophiles et basophiles). L'eau potable doit avoir un pH compris entre 6,5 et 8,5 (normes OMS) (VINASSÉHO, 2007).

II.3.3.Oxygène dissous

La solubilité de l'oxygène dissous est fonction de la température, de la pression de l'atmosphère et de la salinité, L'oxygène dissous est influencé par la présence de végétaux, les matières organiques, des organismes et des germes aérobies…. etc. (VINASSÉHO, 2007).

II.4. Maladies à transmission hydrique

L'eau non traitée ou polluée est responsable de maladies graves chez l'homme.L'eau véhicule des virus, des bactéries, des parasites, qui peuvent provoquer des maladies graves, Ces maladies liées à l'eau non hygiénique, sont appelées maladies hydriques (KUBUYA, 2008).

Les maladies ayant pour origine des bactéries véhiculées par l'eau sont nombreuses, les plus rencontrées sont

II.4.1.Le choléra

Le choléra est une infection bactérienne aiguë du tractus intestinal, pouvant entraîner rapidement Après adhérence de *Vebrion cholerae* à la surface des cellules épithéliales de l'intestin elle se multipliant et produisent une entérotoxine altérant le processus ionique avec pour conséquence des pertes d'eau et d'électrolytes sous forme de diarrhées sévères et de vomissements. Le malade en l'absence de traitement adapté meurt. La transmission de cette maladie est féco-orale (SOUMARE, 1997).

II.4.2.La fièvre typhoïde et para typhoïde

La fièvre typhoïde et para typhoïde est une infection bactérienne causée par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par *Salmonella typhi*, *S. para typhi* A et *S. para typhi* B, qui peuvent à partir de l'intestin envahir les tissus de l'hôte et provoquer une septicémie avec fièvre élevée (BENZAÏD, 2012).

Chez l'homme la plupart des autres sérotypes de *Salmonella* provoquent des gastroentérites aiguës avec diarrhée. Environ 12 millions de personnes sont infectées par la typhoïde chaque année (OMS, 2000).

II.4.3.La dysenterie bacillaire

La dysenterie bacillaire est une maladie intestinale généralement causée par des bactéries *Shigella dysenteriae* et *S. flexneri.* Cette maladie est caractérisée par des diarrhées sanglantes extrêmement abondantes résultant de l'invasion de la muqueuse intestinale (SOUMARE, 1997).

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

III.1. Matériel

Des échantillons d'eau vendue en citernes dans la commune d'Ouargla, sont prélevés à partir de 10 citernes choisies aléatoirement. L'échantillonnage est réalisé durant les mois de Mars et Avril sur une période de 25 jours.

III.2.Echantillonnage

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate, l'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques de l'eau.

Les échantillons d'eau destinés aux analyses microbiologiques ont été prélevés dans des flacons en verre stériles d'une capacité de 0.25 litres. Au moment du prélèvement, qui est réalisé le plus aseptiquement possible, avec ouverture des flacons juste devant le robinet de la citerne ; et juste après le remplissage du flacon, ce dernier sera fermé hermétiquement.

La température de l'eau et le pH, sont relevés sur le site. Les échantillons sont acheminés aux laboratoires pédagogiques de microbiologie, de l'université Kasdi Merbah Ouargla, où ils feront l'objet de suivi des analyses microbiologiques.

III.3.Transport des échantillons

Les paramètres initiaux des eaux peuvent subir des modifications lors du transport, c'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible.

Les échantillons sont transportés sous froid dans une glacière isothermique, dans le but de ne pas influencer la flore bactérienne de cette eau.

III.4.Méthodes d'analyses

III.4.1. Analyses physicochimiques

Nous avons réalisé des analyses pour déterminer la qualité physico-chimique de l'eau et pour comparer nos résultats à ceux des normes et de la littérature.

Les paramètres physicochimiques étudiés sont la température (T) et le Potentiel d'Hydrogène (pH).

III.4.1.1. Mesure de la température

La détermination de la température est faite à l'aide d'un thermomètre de type « HANNA HI 9812 », muni d'une électrode combinée étalonné avant chaque manipulation. On lit directement la température exprimée en degré Celsius (°C) sur le cadran du thermomètre **(**Kassim, 2005)

III.4.1.2. Mesure de potentiel d'hydrogène

La mesure de ce paramètre est réalisée par l'utilisation d'un pH mètre de type « HANNA HI 9812 », muni d'une électrode combinée selon la norme AFNOR. Cette méthode consiste consisté à plonger l'électrode dans l'échantillon contenu dans un bêcher et lire directement la valeur après stabilisation de l'affichage sur le cadran du pH mètre (Kassim, 2005**).**

III.4.2.Analyses bactériologiques

Les germes recherchés et les méthodes normalisées utilisées sont consignés dans le tableau II

Tableau II: Germes recherchés et normes utilisées (Souncy et *al*., 2015**)**

Germes recherchés	Milieux de culture	Normes utilisées	Température/Temps d'incubation
Flore mésophile totaux	PCA	NF V08-051	30°C / 72h
Coliformes totaux	VRBL	NF V08-050	30°C / 24h
Coliformes thermotolérants	VRBL	NF V08-016	44°C / 24h
Streptocoques fécaux	ROTHE	NF T 90-411	37°C / 24h
Clostridium sulfito-réducteurs	VF	NF T 90-415	37°C / 24h a48h

Légende : PCA : Plate Count Agar ; VRBL : Gélose au Cristal Violet au Rouge Neutre à la Bile et au Lactose ; VF : Viande foie, NF : norme française.

III.4.2.1 Préparation des dilutions décimales

Conformément aux normes AFNOR NF VO8-010 et ISO 6887-1, des dilutions décimales successives sont préparées pour chaque échantillon à l'aide d'eau distillée stérile.

Elles sont effectuées dans des conditions aseptiques et minutieuses. Les dilutions suivent des séries logarithmiques dont les termes sont en progression géométriques : 0.1 ; 0.01; 0.001 ; etc. …

Les dilutions :

-Dilution 10° : Consiste à la prise directe de la solution mère.

- Dilution 10^{-1}: Dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1ml d'eau à analyser (10°).

- Dilution $I0^{-2}$: Dans un deuxième tube à essai, on ajoute 1ml de la dilution 10^{-1} à 9ml d'eau distillée stérile.

- Dilution $I0^{-3}$: Dans un troisième tube à essai, on ajoute 1ml de la dilution 10^{-2} à 9ml d'eau distillée stérile.

NB : L'agitation du contenu est nécessaire avant de préparer la dilution suivante

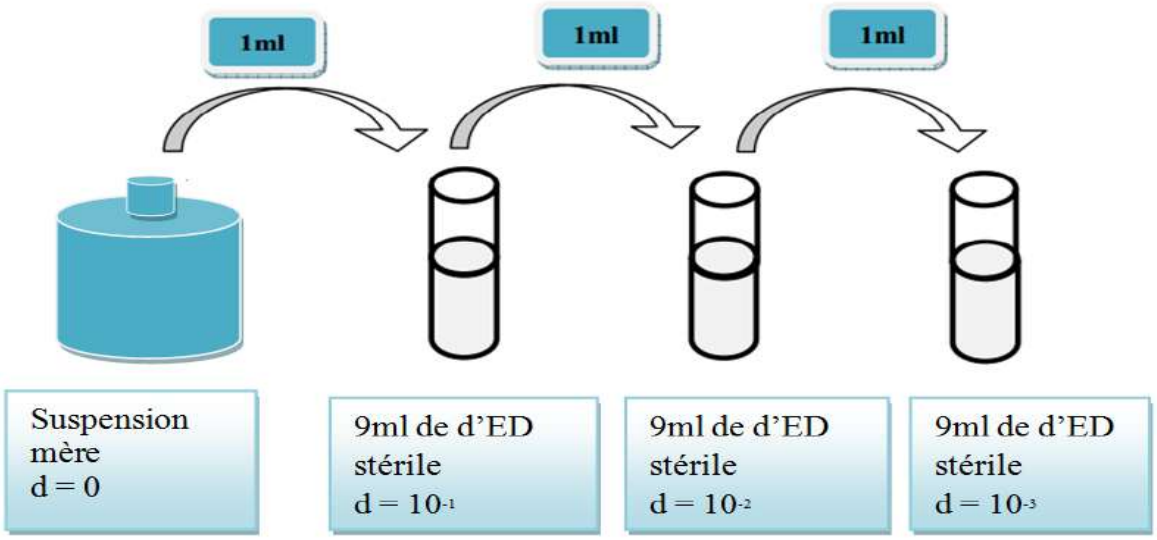


Figure 2: Préparation des dilutions décimales (ED : eau distillée, d : taux de dilution)

III.4.2.2. Recherche de la flore aérobie mésophile totale

L'inoculum (1 ml de la solution mère ou des dilutions décimales) est déposé dans une boite de pétri vide et stérile. Un milieu non sélectif, le milieu de culture la gélose PCA est versé dans ces boites dont le volume est d'environ 18ml. La lecture est faite après 72 heures d'incubation à 30°C. Le mode opératoire est détaillé à **la figure 3**.

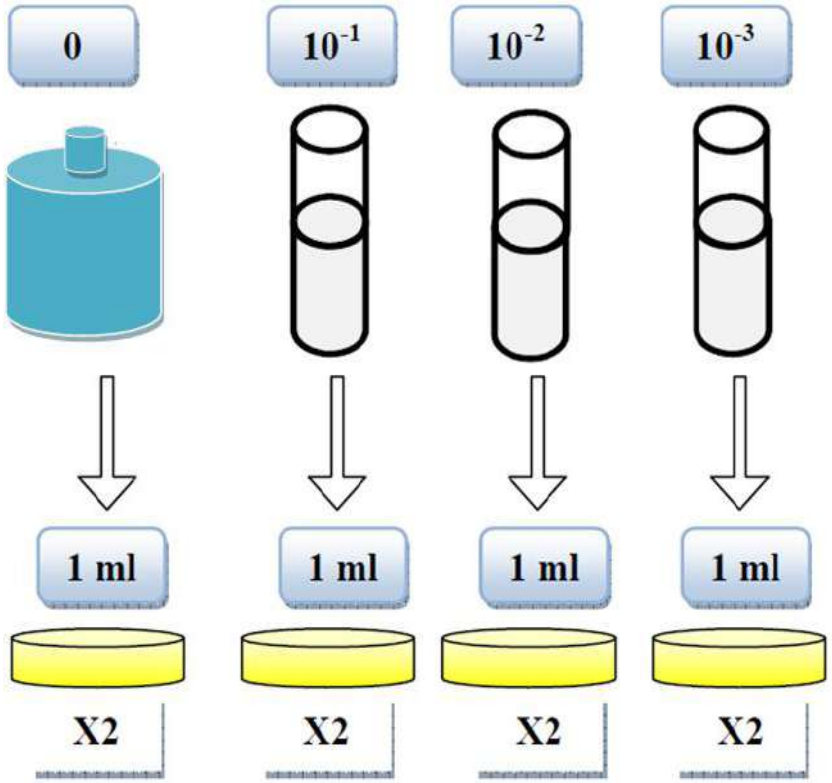
1-Préparation la dilution 2-Ensemencement en masse sur gélose PCA	
3-Incubation	incuber les 8 boites à 30 °C pendant 72 heures
4- Lecture et calcul	Dénombrement des colonies sur les boîtes qui contenant environ de 30 à 300 colonies. Calcul et résultat

Figure 3: Mode opératoire du dénombrement des micro-organismes aérobies

III.4.2.3 Recherche des coliformes totaux

L'inoculum (1 ml de la solution mère ou des dilutions décimales) est déposé dans une boite de pétri vide et stérile par pipette stérile puis versé dans ces boites Un volume environ 15ml de milieu Gélose au Cristal Violet au Rouge Neutre à la Bile et au Lactose (VRBL). La

lecture est faite après 24 a 48 heures d'incubation à 30°C. Le mode opératoire est détaillé à la **figure 4.**

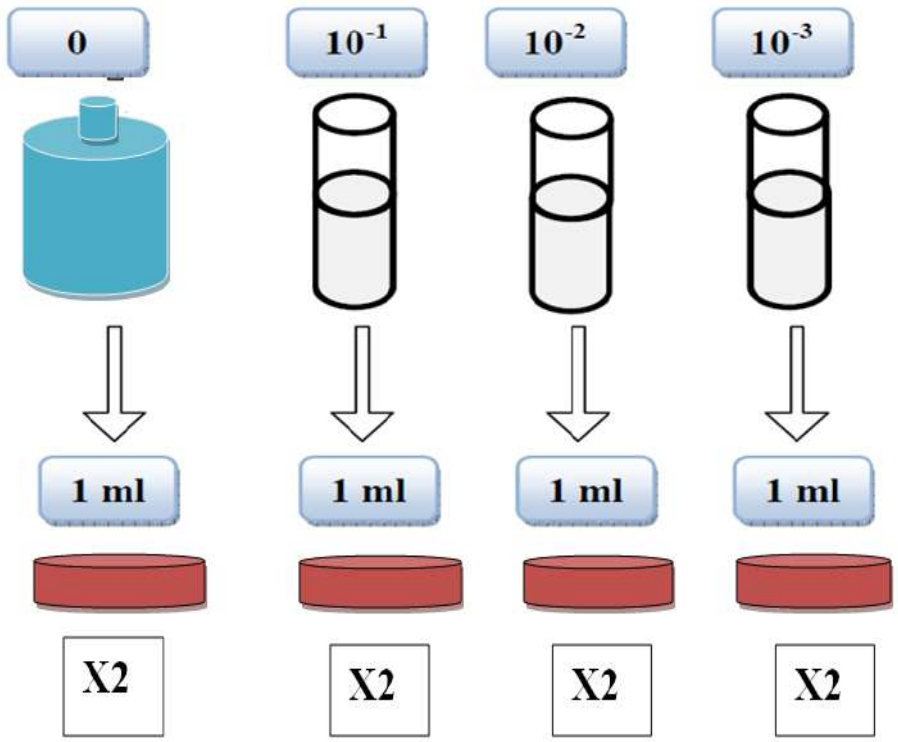
1-Préparation la dilution 2Ensemencement en masse sur gélose VRBL	
3-Incubation	incuber les 8 boites à 30 °C pendant 24a48 heures
4-Lecture et calcule	Dénombrement des colonies sur les boîtes qui contenant environ de 30 à 300 colonies. Calcul et résultat

Figure 4: Mode opératoire du dénombrement des coliformes totaux

III.4.2.4. Recherche des coliformes fécaux et identification d'*Escherichia coli*

***Test présomptif: Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux :**

L'inoculum (1 ml de la solution mère ou des dilutions décimales) est déposé dans une boite de pétri vide et stérile par pipette stérile puis versé dans ces boites Un volume environ

15ml de milieu Gélose au Cristal Violet au Rouge Neutre à la Bile et au Lactose (VRBL). La lecture est faite après 24 a 48 heures d'incubation à 44°C.

Test confirmatif: Identification des Coliformes fécaux (*E. coli)

Nous prélevons des colonies a partir les boîtes incubées et ensemencées sur milieu gélose inclinée qui est TSI (Triple Sugar Iron**),** La lecture est faite après 48 heures d'incubation à 30°C **(figure 5)**

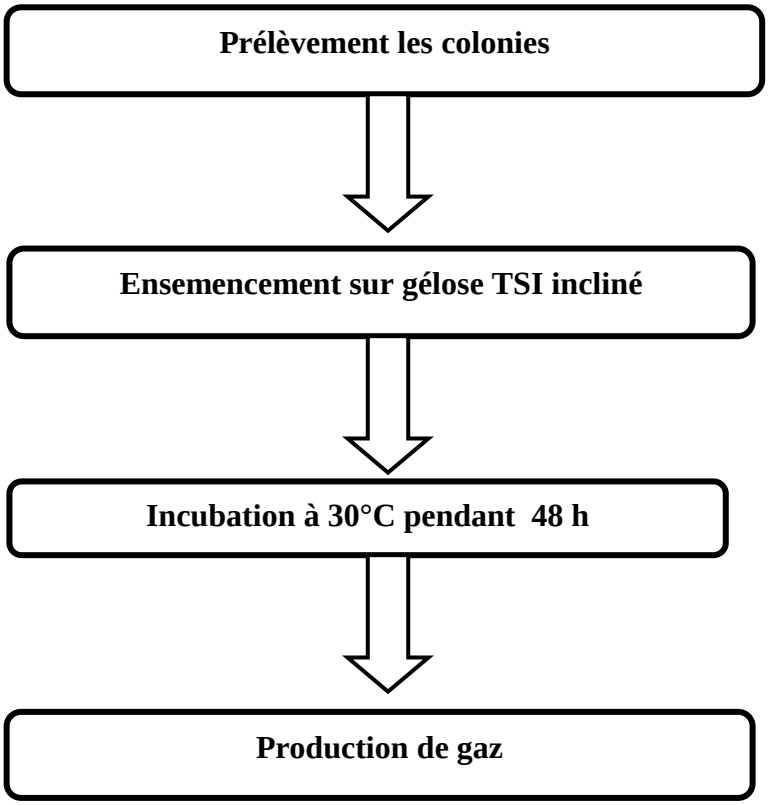


Figure 5 : Identification des Coliformes fécaux (*E. coli)*

III.4.2.5. Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs

- **Milieu de culture**

  - Gélose viande foie (VF).
  - Additifs de sulfite de sodium.
  - Additifs d'alun de fer.

- **Mode opératoire**

- On introduit dans 4 tubes à essai 20 ml d'échantillon d'eau à analyser (5 ml dans chaque tube).

- On place les tubes au bain marie à 80 °C pendant 10 minute dans le but de détruire toutes les formes végétatives.

- On refroidit sous l'eau du robinet ces tubes, puis on ajoute 2 gouttes d'alun de fer et 4 gouttes de sulfites de sodium puis on remplit les 4 tubes par la gélose viande foie en surfusion et refroidie à une température de l'ordre de 45±1°C.
- On mélange doucement, en évitant la formation des bulles d'air.
- On incube à 37 °C et on procède à une première lecture après 16 heures, car très souvent les spores des anaérobies sulfito-réducteurs sont envahissantes ce qui rendra la lecture impossible, si non on ferra une deuxième lecture après 24 et dans le cas échéant après 48 heures.

- Les Clostridium sulfito-réducteurs réduisent le sulfite de sodium, en produisant des colonies entourées d'un halo noir dû à la formation de sulfure de sodium.

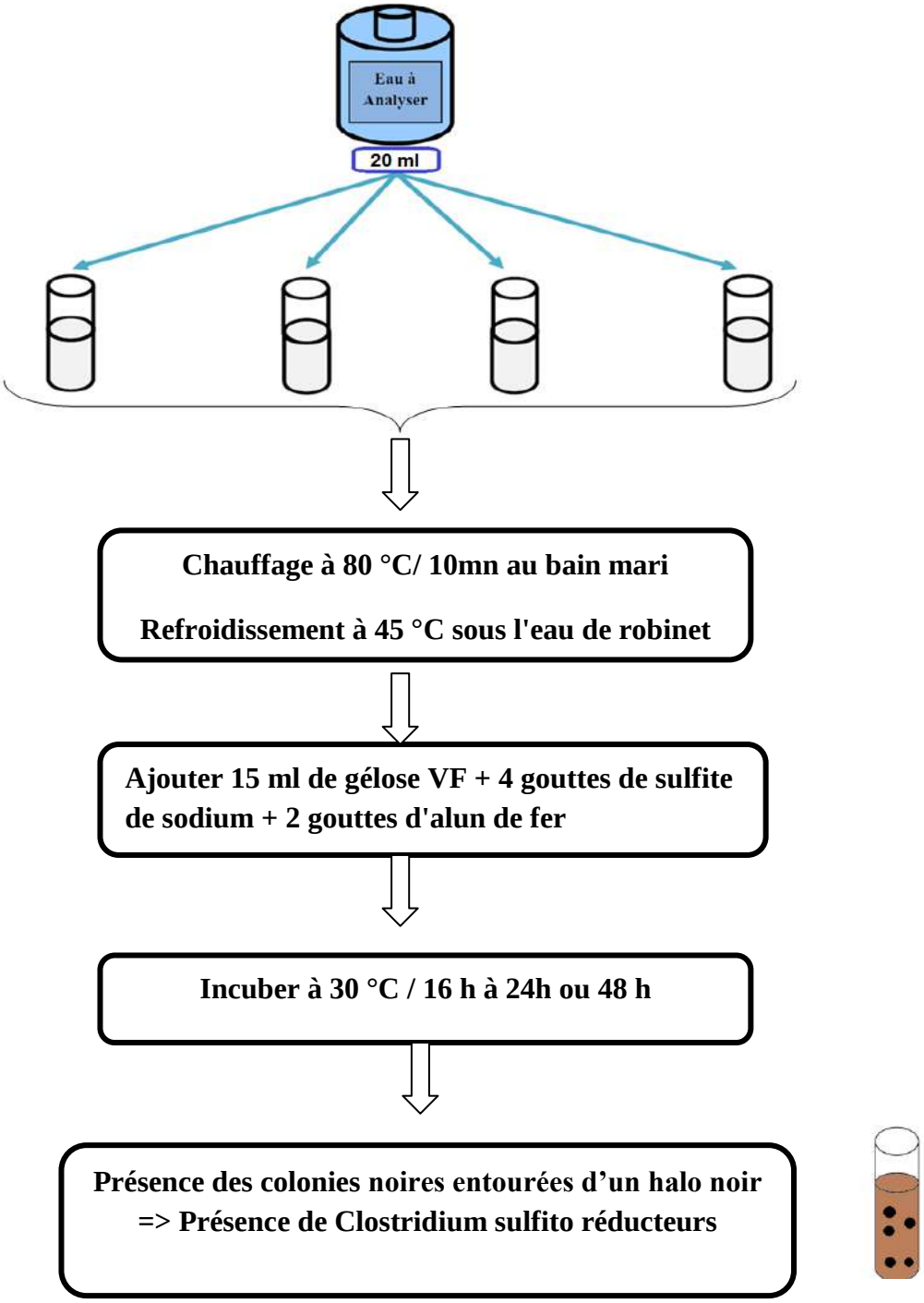


Figure 6: Mode opératoire du dénombrement des *Clostridium sulfito réducteurs*

III.4.2.6. Lecture et interprétation

La lecture et l'interprétation sont faites selon la Norme Française pour ces flores est réalisée selon la **Norme XP V08-102**.

Retenir les boites contenant entre 15 et 300colonies, au niveau de deux dilutions successives. Le nombre **N** de microorganismes dénombrés par ml, est calculé à l'aide de l'équation suivante:

$$N = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1n2)\,d} F$$

Où:

N : nombre d'UFC par ml de produit initial.

Σ C:est la somme des colonies comptées sur les deux boites retenues.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

F : facteur de dilution

Le résultat final de microorganismes dénombrés par ml est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^{n} où n est la puissance appropriée de 10. Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule selon la règle suivante :

- Si le chiffre après la virgule est inférieure à 5. Le chiffre précédent ne change pas.
- Si le chiffre après la virgule est supérieure à 5. Le chiffre précédent est augmenté d'une unité.
- Si le chiffre après la virgule est égale à 5. Arrondir le chiffre précédent au chiffre entier le plus proche.

III.4.2.7. Recherche des Streptocoques fécaux

➢ **Milieu de culture**

- Milieu de Rothe à double concentration **(**D/C).
- Milieu de Rothe à simple concentration (S/C).
- Milieu de confirmation Eva Litsky.

Mode opératoire

1ere étape : Test présomptif

On ensemence

- 3 tubes de 10 ml bouillon de Rothe (D/C) avec 1 ml d'eau à analyser.
- 3 tubes de 10 ml bouillon de Rothe (S/C) avec 1 ml de la dilution 10^{-1}
- 3 tubes de 10 ml de bouillon de Rothe (S/C) avec 1 ml la dilution 10^{-2}
- 3 tubes de 10 ml de bouillon de Rothe (S/C) avec 1 ml la dilution 10^{-3}

- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation est faite à 30 °C pendant 24 à 48 heures.
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP.
- Les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs et sont soumis au test confirmatif.

2ème étape : Test confirmatif

Nous prélevons 2 à 3 gouttes de chaque tube positif présentant un trouble bactérien, que nous repiquons dans des tubes contenant 9 ml de milieu Eva Litsky. Par la suite les tubes sont incubés à 30°C pendant 24 à 48h.

L'apparition d'un trouble microbien confirme la présence de Streptocoques fécaux, parfois la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble bactérien.

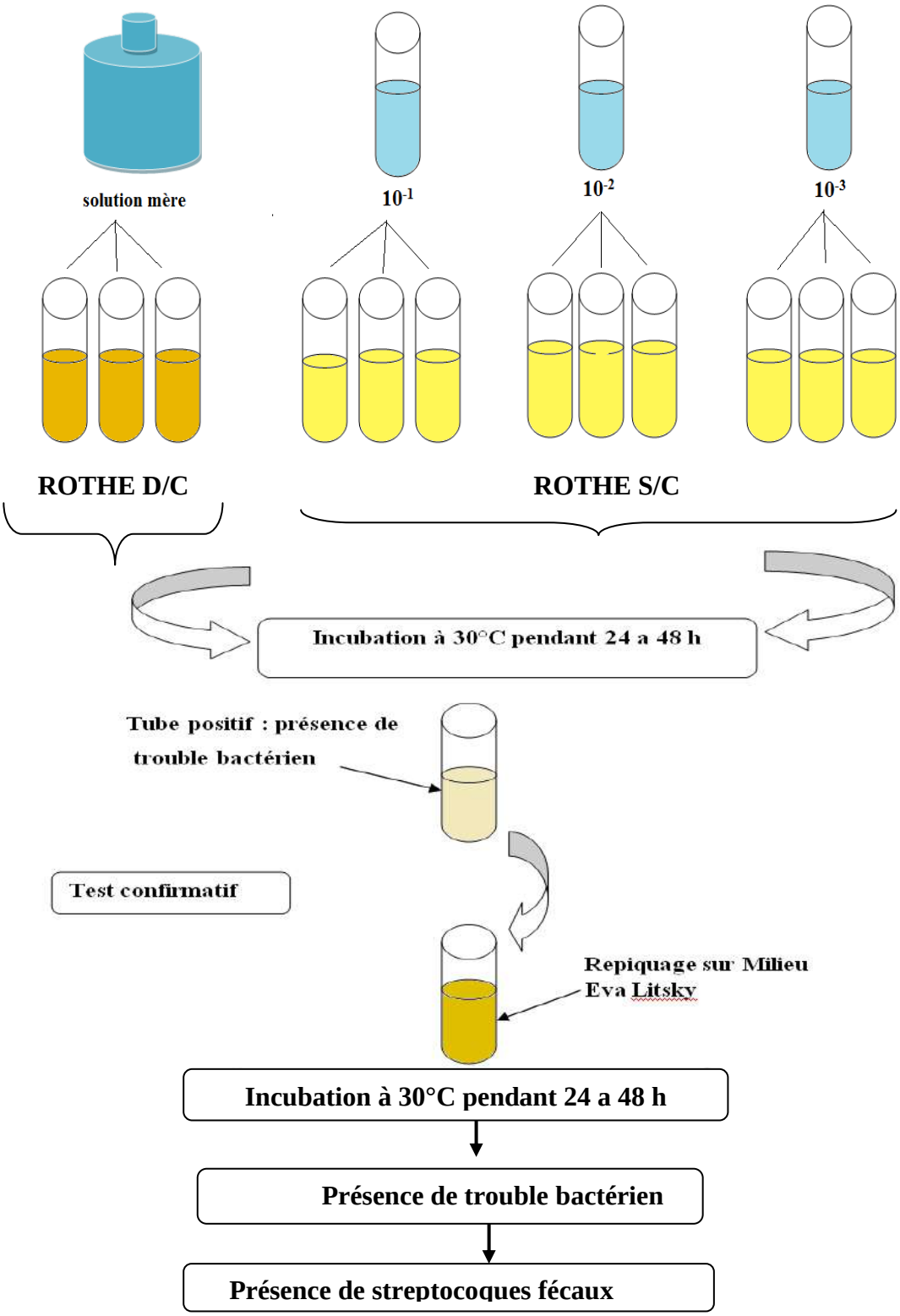


Figure 7: Mode opératoire du dénombrement des streptocoques fécaux

-Pour les des streptocoques, le résultat exprime par « présence » ou « absence » dans 100 ml.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1. Résultats d'analyses physico-chimiques

L'étude de deux paramètres physicochimiques : la température et le pH de l'eau vendue en citernes dans la commune d'Ouargla. Car ces deux paramètres influencent fortement la prolifération bactérienne Les échantillons prélevés de 10 citernes choisies de façon aléatoire, dont les jours de l'échantillonnage ont varié, du démanche au jeudi, afin que les résultats soient représentatifs de toute la semaine.

IV.1.1. Mesures de la température

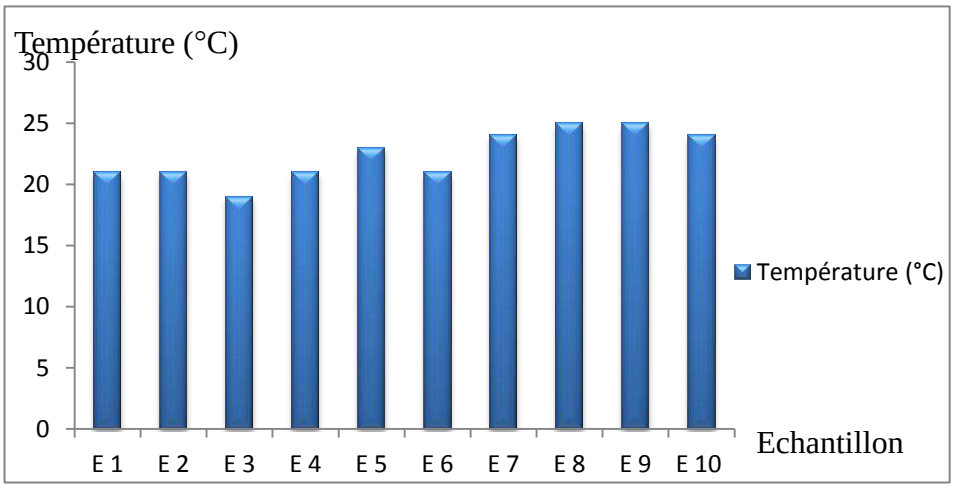


Figure 8 : Températures prélevées sur les échantillons étudiés (°C)

Il est important de connaître la température de l'eau avec précision. Parce qu'elle joue un rôle très important dans sa composition, en influençant la solubilité des gaz, la dissociation des sels dissous et la détermination du pH etc.., donc elle va se répercuter directement sur la charge bactérienne de cette eau.

D'une façon générale, la température des eaux est influencée par la saison de l'étude et l'origine dont elles proviennent (eau souterraine, eau de surface, eau de puits, eau de forage ou eau de citernes mobiles) (RODIER, 1984).

Notre travail a été réalisé sur l'eau vendue en citernes mobiles, durant les mois de Mars et Avril. Dette période s'est caractérisée cette année par des niveaux de température variant entre douce et élevée.

D'après les résultats consignés dans la figure 8, nous avons remarqué que les températures de l'eau étudiée, varient entre des valeurs moyennes de l'ordre de 19°C à 25°C. La plus haute valeur moyenne de température est enregistrée sur l'eau des deux échantillons E8 et E9. Alors que la valeur moyenne la plus basse est enregistrée sur l'échantillon E3.

Toutes les valeurs de ce paramètre, prélevées sur les échantillons analysés ne dépassent pas la norme française (NF 95-363) estimée de 25°C.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par HERIARIVONY et *al*., (2015) sur l'eau de consommation (puits) en Madagascar (18,0 °C à 25,8 °C), Alors que SARI, (2014), a obtenu des valeurs inferieures, avec une maximale aux voisinages de 16°C et une minimale de l'ordre de 14°C, sur l'eau de la source Attar Tlemcen. Ces différences de températures notées peuvent être expliquées par la différence entre les saisons et les climats des lieux de ces études.

IV.1.2. Mesures de Potentiel d'hydrogène

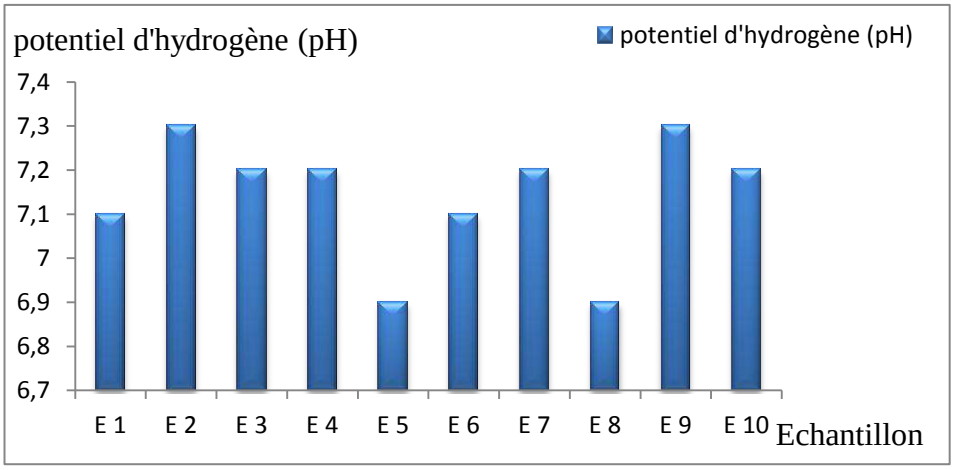


Figure 9 : pH des échantillons d'eau de citernes, étudiés

Les résultats des mesures du potentiel d'hydrogène des échantillons d'eau, consignés dans la figure 9, laissent ressortir des valeurs qui oscillent entre une moyenne maximale de 7,3 enregistrée sur les échantillons (E2 et E 9) et une moyenne minimale de l'ordre de 6,9 obtenue sur les échantillons (E5 et E 8). Ces résultats montrent des pH neutres, qui ne dépassent pas ceux exigés par la législation Algérienne et Européenne, qui précisent comme niveau guide pH 6,5 a 8,5 (JORA, 2000; RODIER et *al.*, 2005).

SARI, (2014), a obtenu des valeurs de pH voisin de la neutralité lors de son étude réalisée sur l'eau de la source Attar Tlemcen.

En revanche HERIARIVONY, et *al.*, (2015) signalent que l'eau de consommation (puits) en Madagascar a un pH entre variant 4,34 et 6,92, donc tend vers l'acidité.

Alors que HAMED et *al.*, (2012), ont rapporté des valeurs comprises entre 8 et 8,4 sur l'eau du barrage DJORF-TORBA à Bechar, donc des valeurs qui tendent vers l'alcalinité.

Les différences des valeurs du pH peuvent être dues aux natures très différentes des roches qu'elles traversent. Pour notre cas, ces eaux de citernes ont diverses provenances, et aussi elles subissent une filtration avant leurs mises sur le marché. Ceci influent fortement leur concentration en ions. Elles peuvent provenir des sources d'eau naturelle, donc ayant des contactes avec différentes type de roches (TAMPO et *al*., 2014).

D'après CHAPMAN et *al.*, (1996), les valeurs du potentiel Hydrogène se situent entre 6 et 8,5 dans les eaux naturelles.

Le pH ou potentiel Hydrogène détermine la concentration en ions H^+ de l'eau. Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques, et dépend de facteurs multiples, dont la température et l'origine de l'eau, il représente une indication importante en ce qui concerne l'agressivité de l'eau (aptitude à dissoudre le calcaire).

IV.2. Résultats d'analyses bactériologiques

Pour apprécier de la qualité bactériologique de l'eau de citerne vendue dans la ville de Ouargla, nous avons procéder au prélèvement de dix échantillons provenant de différentes citernes. Le choix de ces citernes est réalisé d'une manière aléatoire. Ces prélèvements d'eau ont été suivis par les analyses bactériologiques qui ont été effectuées au niveau du laboratoire de microbiologie et consiste en la recherche des germes totaux, des coliformes totaux et fécaux, des streptocoques fécaux et des Clostridium sulfito-réducteurs.

IV.2.1. Germes rencontrés dans les échantillons d'eau

En analysant les échantillons de l'eau étudiée, les résultats des analyses bactériologiques révèlent la présence selon l'aspect des colonies obtenues sur des milieux

sélectifs, des germes appartenant à la flore aérobie mésophile totale, aux coliformes totaux et fécaux et aux streptocoques fécaux. L'absence des Clostridium sulfito-réducteurs a été enregistrée chez tous les échantillons (Tableau III).

Tableau III : Résultats des analyses bactériologiques

Flores	**Milieu de la culture**	**Aspect des colonies**
FAMT	PCA (Plate Count Agar)	Présence des colonies de couleur blanche, avec différente taille
Coliformes totaux	VRBL (Gélose au Cristal Violet au Rouge Neutre à la Bile et au Lactose) 30°C	Présence des colonies rouges
Coliformes fécaux	VRBL (Gélose au Cristal Violet au Rouge Neutre à la Bile et au Lactose) 44°C	Présence des colonies rouges
streptocoques fécaux	ROTHE	Présence de trouble bactérien
Clostridium sulfito-réducteurs	VF **(**Viande foie)	Absence des colonies noires entourées d'un halo noir

IV.2.2. Evaluation de la contamination globale des échantillons de l'eau étudiés par les germes recherchés

L'évaluation de la contamination globale des dix prélèvements de l'eau étudiée, par les différents germes dénombrés (flores aérobie mésophile totale, Coliformes totaux et fécaux, Streptocoques et Les Clostridium sulfito- réducteurs), consignés dans le tableau IV et le figure 10.

Tableau IV: Dénombrement des flores bactériennes par échantillon

Germes (UFC/ml)	**E1**	**E2**	**E3**	**E4**	**E5**	**E6**	**E7**	**E8**	**E9**	**E10**	Moyenne ±écart type
FAMT	0.95×10^4	1.01×10^4	4.46×10^4	0.50×10^4	1.98×10^4	0.69×10^4	0.26×10^4	0.44×10^4	0.46×10^4	7.61×10^4	$1.83\times10^4\pm 2.38$
Coliformes totaux	0.03×10^4	0.32×10^4	0.06×10^4	00	1.14×10^4	00	2.17×10^4	00	00	00	$0.37\times10^4\pm 0.72$
Coliformes fécaux	00	00	0.02×10^4	00	00	00	00	00	00	00	$0.002\times10^4\pm 0.006$
streptocoques fécaux	00	00	0.004×10^4	00	00	00	00	00	00	00	$0.0004\times10^4\pm 0.001$
Clostridium sulfito-réducteurs	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00

D'après le tableau IV la flore aérobie mésophile totale est la flore prédominante pour tous les échantillons avec une valeur de contamination moyenne de $1.83\times10^4\pm2.38$ ufc/ml, suivi par les coliformes totaux dont la valeur moyenne calculée pour tous les échantillons étudiés, est de $0.37\times10^4\pm0.72$, enregistrée sur les échantillons (E7).

Puis viennent respectivement les coliformes fécaux et les Streptocoques par des valeurs moyennes de $0.002\times10^4\pm0.006$ ufc/ml et $0.0004\times10^4\pm0.001$ufc /ml respectivement. Avec l'absence des Clostridium sulfito- réducteurs dans tous les échantillons analysés.

A travers la comparaison entre les échantillons, nous constatons que l'échantillon 3 est le plus contaminé par la plupart des germes recherchés. Par la flore aérobie mésophile totale dont le taux de contamination est de 4.46×10^4ufc/ml, les coliformes fécaux avec un taux de 0.02×10^4ufc/ml et les streptocoques dont le taux noté est de0.004×10^4, avec la remarque que ce germe n'est enregistré que pour ce prélèvement.

L'échantillon E7 est le plus contaminé par les coliformes totaux, avec une valeur de l'ordre de 2.17×10^4ufc/ml (Tableau IV).

En ce qui concerne les Clostridium sulfito- réducteurs, leur absence est notée sur tous les prélèvements analysés (Tableau IV).

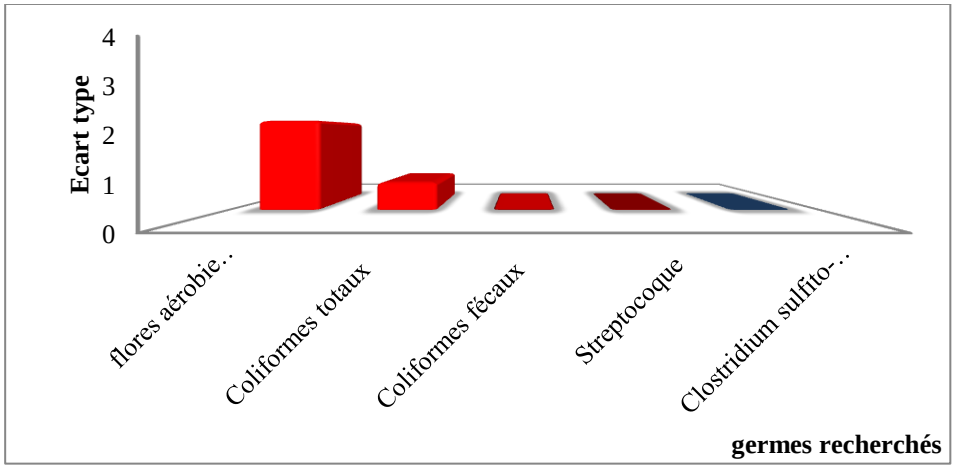


Figure 10 : Evaluation de la contamination globale de l'eau étudiée

D'après la figure 10, la contamination globale des échantillons de l'eau étudiée laisse ressortir que l'eau de citerne vendue dans la ville de Ouargla est fortement contaminée par la flore aérobie mésophile totale à une moyenne égale 2.38×10^4ufc/ml , suivi par la coliforme totaux dont la moyennes $7,2\times10^3$ufc/ml Puis viennent respectivement la coliforme fécaux et les Streptocoques par des charges bactériennes $0,6\times10^2$ufc/ml et $0,1\times10^2$ ufc /ml respectivement.

D'après MAKHLOUFI et *al.*, (2011) la contamination de l'eau de citerne est due à plusieurs facteurs telque : l'absence de nettoyage régulier, ou périodique des réservoirs par les détergents , ces réservoirs sont mal fermés ce qui favorise la pénétration de la poussière, cela permet le contact de l'eau avec le milieu extérieur surtout dans les périodes ou il y a du vent (contamination par des germes apportés par la poussière), aussi la majorité des citernes sont exposées au soleil surtout pendant la période d'été durant laquelle y a élévation de la température, ce qui favorise la multiplication des germes thermophiles tel que les coliformes fécaux , et le manque de conscience des vendeurs d'eau vis-à-vis des risques sanitaires apportés par l'eau.

IV.2.3. Résultats du dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

Cet examen vise à faire le dénombrement non spécifique du plus grand nombre de microorganismes. Ce dénombrement a pour objectif d'apprécier quantitativement la charge microbienne existante dans l'eau (JEAN, 2008).

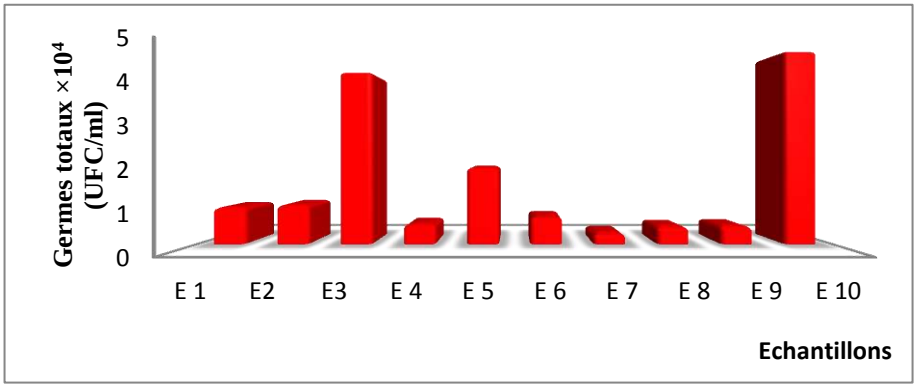


Figure 11: Dénombrement des germes totaux des échantillons d'eau de citerne, étudiés

D'après les résultats des calculs de la charge mésophile totale, consignés dans la figure 11, montrent une variation du nombre des colonies, qui oscille entre $0,26\times10^4$ et $7,61\times10^4$ufc/ml, respectivement comme valeur moyenne minimale et valeur moyenne maximale, dénombrées sur les échantillons E7 et E10 respectivement.

Les moyennes de la charge mésophile totale obtenues sur les autres échantillons sont : $0,95\times10^4$ ufc/ml (E1), $1,01\times10^4$ufc/ml (E2), 4.46×10^4ufc/ml (E3) $0,50\times10^4$ ufc/ml (E4), $1,98\times10^4$ufc/ml (E5).0, 69×10^4ufc/ml (E6), $0,44.10^3$ ufc/ml (E 8), $0,46\times10^4$ ufc/ml (E 9).

Selon TOURAB, (2013), les résultats de ses études sur des eaux souterraines dans la plaine du Haouz, il a obtenu des charges de la flore mésophile totale inferieures aux notre étude (10ufc/1ml à 4300ufc/1ml).

OUHMIDOU et *al.*, (2015) ont rapporté des valeurs comprises entre $3,2.10^2$ et $1,8.10^3$ ufc/ml pour des eaux du barrage Hassan Addakhil (Errachidia-Maroc).

La variation de la charge des germes totaux semble être liée aux paramètres abiotiques (Température et pH) ce qui agit sur le développement des micro-organismes dans le milieu aquatique (OUHMIDOU et *al.*, 2015).

IV.2.4. Résultats du dénombrement des coliformes

Les coliformes totaux et fécaux sont considérés comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une contamination d'origine fécale (LEYRAL et *al.*, 2002)

IV.2.4.1. Résultats du dénombrement des coliformes totaux

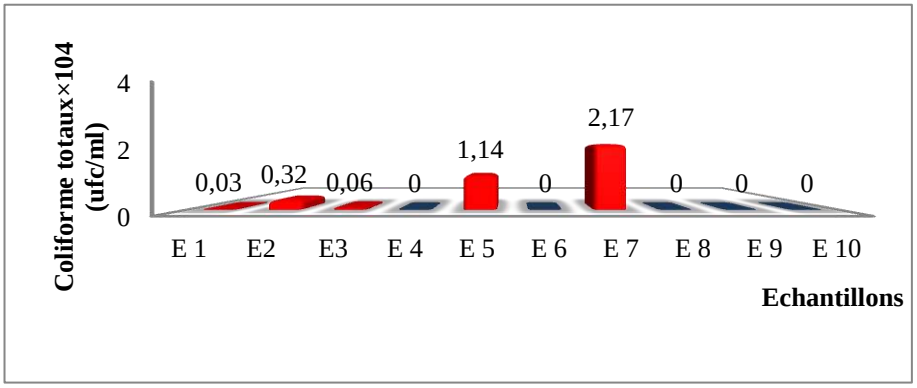


Figure 12: Dénombrement des coliformes totaux des échantillons d'eau de citernes, étudiés

D'après les résultats consignés dans la figure 12, nous avons remarqué que la charge bactérienne en coliformes totaux, varie entre des valeurs moyennes de l'ordre 0.03 a $2,17\times10^4$ ufc/ml. La plus haute valeur moyenne de charge est enregistrée sur l'échantillon E7. Alors que la valeur moyenne la plus basse est enregistrée sur l'échantillon (E1), avec l'absence des coliformes pour les échantillons (E4, E6, E8, E9, E10).

Les moyennes de la charge en coliformes totaux obtenues sur les autres échantillons sont : $0,32\times10^4$ ufc/ml (E2), $0,06\times10^4$ ufc/ml (E3) . $1,14\times10^4$ ufc/ml (E5).

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par MEHANNED, (2014) sur des eaux du barrage Sidi Chahed (Maroc), avec une valeur maximale de 9.5×10^3 ufc/100ml, et une minimale de 4 ufc/100 ml,

Alors que SARI, (2014) signale l'absence des coliformes totaux dans les résultats de son étude sur l'eau de la source Attar Tlemcen,

La présence de coliformes totaux dans un réseau de distribution d'eau potable est due à une reviviscence bactérienne (formation d'un biofilm sur les parois des conduites d'eau potable), particulièrement lorsque les concentrations de chlore libre sont faibles (LEE et *al.*, 2006).

IV.2.4.2. Résultats du dénombrement des coliformes fécaux

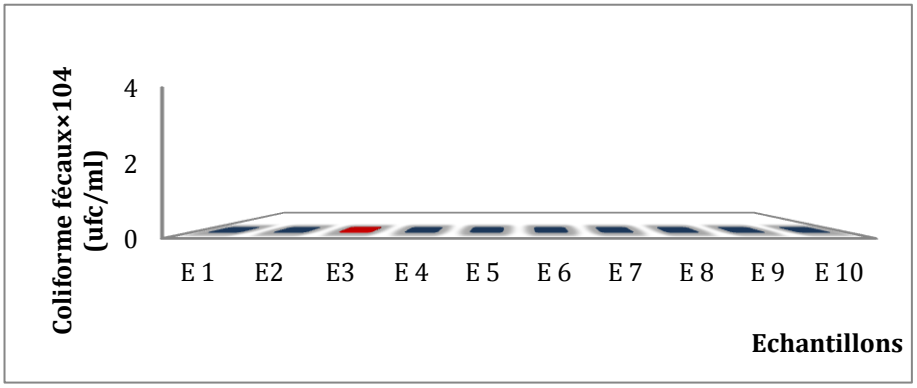


Figure 13: Dénombrement des coliformes fécaux des échantillons d'eau de citernes, étudiés

D'après les résultats consignés dans la figure 13, nous avons remarqué que la présence des coliformes thermotolérants dans l'échantillon E3 uniquement avec une valeur moyenne de l'ordre de $0,2\times10^3$ ufc/ml.

Nos résultats sont très supérieures aux valeurs obtenues par OUAHCHIA et *al.*, (2015) sur l'eau de réservoirs de la ville Tipaza dont les valeurs obtenues sont comprises entre 3.10×10^2 et 6.25×10^2 ufc / 100 ml.

Les Coliformes fécaux sont les plus importants des paramètres microbiologiques pris en compte dans le contrôle de la qualité des eaux, ce type de bactéries est particulièrement sensible à la désinfection et a la particularité de se développer difficilement à l'intérieur d'un réseau. Sa présence indique qu'une contamination bactérienne s'est introduite dans le réseau (RQEP, 2006).

L'absence des coliformes fécaux dans les échantillons d'eau peut être expliquée par l'absence de contamination bactérienne d'origine fécale, qui est due au traitement par le chlore qui inhibe les bactéries pathogènes (MOKDADI. et MESSAI., 2015)

IV.2.5. Résultats du dénombrement des Streptocoques

Les streptocoques sont associés aux coliformes fécaux, ils sont considérés comme un bons indicateurs de contamination fécale des eaux, aussi utilisés comme indicateurs

d'efficacité de traitement, car ils sont nettement plus résistants dans le milieu extérieur, que les coliformes et autres entérobactéries pathogènes (LEYRAL et *al* ., 2002)

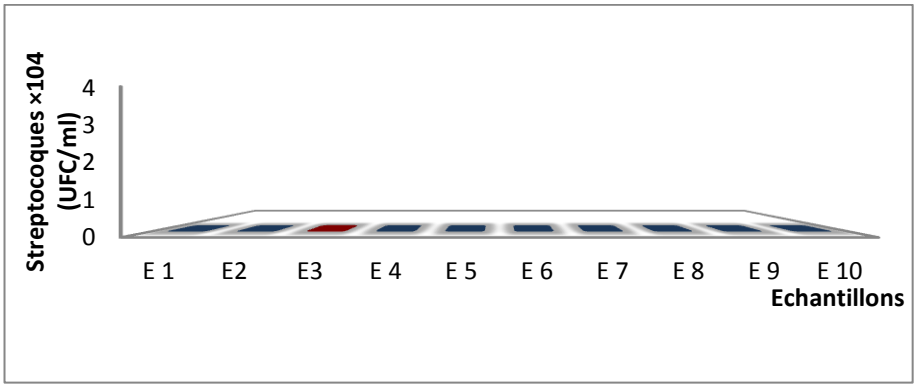


Figure 14: Dénombrement des Streptocoques des échantillons d'eau de citernes, étudiés

D'après les résultats consignés dans la figure 14, nous avons remarqué la présence des Streptocoques dans l'échantillon E3 avec une valeur moyenne de $0,4\times10^2$ ufc/ml. Cette flore est absente dans les autres échantillons.

Ces charges des streptocoques dans les eaux de citernes échantillonnées pour notre travail, sont supérieures obtenues par OUHMIDOU et .,*al* (2015), qui ont noté des nombres compris entre 1,2 et 1.0×10^2 ufc /100ml pour les eaux du barrage Hassan Addakhil (Errachidia-Maroc). Cette augmentation de la charge du streptocoque est liée à l'effet de la température (L'augmentation de la température favorise le développement des streptocoques fécaux).

Selon HAMDI, (2011), la présence de Streptocoques fécaux doit s'accompagner de la présence de coliformes fécaux pour être certain d'une contamination fécale d'une eau d'alimentation. Ceux qui s'expliquent l'absence totale des Streptocoques fécaux et leurs présences dans l'échantillon 03.

IV.2.6. Résultats du dénombrement des Clostridium sulfito- réducteurs

Les Clostridium sulfito- réducteurs sont des bactéries d'origine fécale, si elles se trouvent normalement dans les matières fécales, elles peuvent également vivre et se multiplier dans les milieux naturels (SARI, 2014).

Les résultats obtenus par notre étude montrent, l'absence totale des Clostridium Sulfito- Réducteurs. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par SARI, (2014) sur l'eau de la source Attar Tlemcen.

Selon ROBERT, (1999) l'absence de Clostridium Sulfito- Réducteurs est à valider, car si un traitement est suffisamment puissant pour les éliminer, il a de grandes chances d'éliminer les germes pathogènes.

Conclusion

Conclusion

L'eau constitue un élément essentiel pour l'organisme humain et sa consommation journalière par tous implique une surveillance étroite tant sur le plan organoleptique, physico-chimique et bactériologique.

Notre étude à pour but d'évaluer la qualité bactériologique des eaux vendues en citernes et destinées à l'utilisation Humaine, dans la localité de la ville de Ouargla durant les mois de Mars et Avril sur une période de 25 jours.

Les résultats des analyses physico-chimiques réalisées sur les échantillons d'eau prélevés de 10 différentes citernes, révèlent que la température des échantillons, vari entre 19°C et 25°C. Les différentes valeurs de pH, se situent entre 6.9 et 7.3, indiquant ainsi des pH neutres. Ces résultats sont conforment à la réglementation en vigueur et concordent avec les valeurs mesurées sur des eaux naturelles (6 et 8,5).

Les résultats des analyses bactériologiques obtenues montrent que La flore prédominante est la flore aérobie mésophile totale dont le niveau de contamination est de 2.38×10^4 ufc/ml suivie par les coliformes totaux avec 0.72×10^4 ufc/ml, les coliformes fécaux avec $0,006\times10^4$ ufc/ml, des Streptocoques 0.001×10^4ufc/ml avec une absence total de Clostridium sulfito-réducteurs.

Donc il faut, prendre toutes les mesures pour préserver ces eaux de toutes contaminations bactériennes éventuelles en prenant toutes les mesures du respect des règles d'hygiène qui doivent être appliqué dans ce type de commerce, par le nettoyage périodique des citernes et des réservoirs de dépôt de ces eaux, ainsi que le contrôle bactériologique régulier de ces eaux dans les infrastructures spécialisés comme les laboratoires d'hygiène du secteur sanitaire.

A la lumière des résultats obtenus, il convient ;

- ✓ d'approfondir ces résultats par des études complémentaires sur d'autres flores microbiennes contaminant l'eau.
- ✓ Recherche et identifier d'autres germes pathogènes

Références bibliographiques

- **ABDESSELEM A., 1999**. Suive De La Qualité Microbiologique Et Physicochimique De Trois Serres Alimentant De La Région De Tlemcen, Mémoire d'ingénieur institut de biologie, université de Tlemcen., pp 2-18.
- **AIDE., 2014.** pollution de l'eau.
- **BENZAÏD A., 2012.** Santé Internationale, Journal Grotius international.
- **BERNARD C., 2007.** Introduction à l'étude de la médecine expérimentale, Edition Bibliobazaar .
- **BERNE F., 1972.** Les traitements des eaux dans l'industrie pétrolière, Édition TECHNI, 207 p.
- **BERTRAND G., 2008.** Utiliser L'eau De Pluie, Editions Eyrolles, 130 p.
- **BORDJAH A., 2011**. analyse physico-chimique et microbiologique du lait demi-ecreme Haddadi Cherif El-Hidhab Sétif Dans le but d'obtention du diplôme de Brevet de Technicien Supérieure en Contrôle de Qualité dans les Industries Agro-alimentaire.
- **BOURGEOIS C. M., MESCLE J. F., 1996.** Microbiologie alimentaire: aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1 .Edition: Lavoisier .Tec et Doc .P: 260- 261.
- **CARDOT C., 1999.** Les traitements de l'eau: procédés physico-chimiques et biologiques, cours et problèmes résolus: génie de l'environnement. Edition Elipses.P71.
- **CEAEQ.**, **2005**. méthode d'analyse : Recherche et dénombrement des entérocoques par filtration sur membrane MA700-ENT ; (10 REV 2).- 23p.
- **CHAPMAN D.et KIMSTACH V., 1996.** Selection of water quality variables.Water quality assessments : a guide to the use of biota, sediments and water in environment monitoring, Chapman edition, 2nd ed. E & FN Spon,London, pp. 59-126.
- **DEGREMONT G., 2005.** Mémento technique de l'eau. Tome 1, 10eme édition, Ed Tec et doc, pp. 3- 38.
- **DEKHIL S. et ZAIBET M., 2013.** Traitement des eaux usées urbaines par boues activées au niveau de la ville de Bordj Bou Arreridj effectué par la station d'épuration des eaux usées ONA, Université Mohamed El Bachir El ibrahimi -Bordj Bou Arreridj.
- **DIOP C., 2006.** étude de la qualité microbiologique des eaux de boisson conditionnées en sachet et vendues sur la voie publique dans la région de Dakar,

mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales, université cheikh anta diop de Dakar.

- **FEWTRELL L. et BARTRAM J., 2001.** Water quality : guidelines, standards and health. World Health Organization Water Series. IWA Publishing, London (U.K.).
- **FNS., 2013.** Manuel pratique d'analyse de l'eau, 4ème édition
- **FREDDY S. S., 2010**. Approvisionnement en eau dans la ville de Bukavu et son impact sur les maladies de mains sales, Licence en santé publiqu, Université officielle de Bukavue.
- **GERARD G., 1999.** l'eau: milieu naturel et maitrise, Ed INRA, vol 1, 204P.
- **HAMDI W., 2011.** Qualité hygiénique et caractéristiques physicochimiques des eaux domestiques de quelques localités de la cuvette de .Memoire magister. Ouargla. Département des sciences de la nature et de la vie. Option : Microbiologie appliqué. P107.
- **HAMED M., GUETTACHE A. et BOUAMER L., 2012.** Etude des propriétés physico-chimiques et bactériologiques de l'eau du barrage DJORF- TORBA Bechar. mémoire de Fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Biologie. option : Contrôle de qualité et d'analyse, université de Bechar, 134 p.
- **HERIARIVONY S. C., RAZANAMPARANY B. et RAKOTOMALALA J. E., 2015.** caractères physico-chimiques et bactériologiques de l'eau consommation (puits) de la commune rurale d'antanifotsy, region vakinankaratra, madagascar . larhyss journal, issn 1112-3680, n°24, pp. *7-17*
- **JANVIER K., 2009.** cours d'hygiène et assaissement du milieu G3 santé publique UOB.
- **JEAN-N. S., 2008**. Bon état des eaux, Toulouse, pp 20-23.
- **JOHN P. et DONALD A., 2010.** Microbiologie, 3ème Édition, 1216 p.
- **JORA., 2000.** Les normes de potabilité d'une eau de consommation/ Journal officiel de la République algérienne n°51, 20 août 2000, Alger, 4 p.
- **KASSIM C., 2005.** Etude de la qualité physico-chimique et bacteriologique de l'eau des puits de certains quartiers du district de Bamako. Thèse de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie, université de Bamako pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'etat), 42p.
- **LEE D. G., SANG J. K. et SEONG J. P., 2006.** effect of reservoirs on microbiological water qualities in a drinking water

- **LEEMANS M., BAWIN C., BELLON J., BOVY C., 2008.** Livre bleu tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur l'eau potable et l'assainissement des eaux usées. 3éme édition, Ed. Fédération Belge du Secteur de l'eau asbl**,** 5p.
- **LEROY J. B., 1999**. La pollution des eaux, 4eme Ed.-Paris : presse universitaire de France. 127p.
- **LEYRAL G., RONNEFOY C. et GUILLET F.**, 2002. Microbiologie et qualité des industries agroalimentaire, Paris, 245p.
- **MAKHLOUFI A. et ABDELOUAHID D. J., 2011.** étude de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau potable dans la ville de Bechar .sud ouest Algérie. 1er Séminaire International sur la Ressource en eau au Sahara : Evaluation, Economie et Protection, (Ouargla), p 355.
- **MEHANNED S., CHAHLAOUI A., ZAID A., CHAHBOUNE M., DEHBI A., 2014**. Estimation de la charge de pollution bactériologique des eaux des deux affluents (Mikkés et Mellah) et son impact sur la qualité microbiologique des eaux du barrage Sidi Chahed (Maroc). IOSR Journal of Engineering (IOSRJEN), Vol. 04, n° 09, PP. 01-10.
- **MICHEL P., DEANDRADE LIMA J. R. P., BRIGAS-POULIN P., RAVEL A ., 2000.** Développement d'indices agro-écologiques pour évaluer la pression hygiénique de la production animale dans les régions rurales du Québec. Université de Montréal. 85 p.
- **MOKDADI H. et MESSAI A. N., 2014**. contribution à l'étude de la qualité physicochimique et bactériologique des quelques zones humides de la wilaya d'el-oued, mémoire de fin d'étude, universite Echahid Hamma Lakhdar d'el-oued.
- **OMS., 2000**. Directive de qualité pour l'eau de boisson : Vol2 : critères d'hygiène et documentation à l'appui.-Genéve : OMS.-1050p.
- **OUAHCHIA C., HAMAIDI C. F., HAMAIDI M. S., SAIDI F., 2015**. qualité bactériologique de l'eau potable des différents réservoirs et chez les consommateurs de la commune de Tipaza alimentes par la station de Sidi Amar a partir de l'eau de surface du lac-barrage de Boukourdane. Larhyss /journal, n°23, pp. 139-154.
- **OUHMIDOU M. et CHAHLAOUI A., 2015.** caractérisation bactériologique des eaux du barrage Hassan Addakhil (errachidia-maroc). larhyss /journal, issn 1112-3680, n°22, pp. 183-196
- **PERRY J., 1984.** Microbiologie: cours et question de révision. Edition Dunod. Paris.

- **PULIM., 1991.** L'eau et la santé en Afrique tropicale colloque pluridisciplinaire Géographique. Médecine limoges.
- **ROBERT H., 1999.** Qualité microbiologique des eaux brutes distribuées par BRL (Bas-Rhône et Languedoc): Exigences et conception d'un suivi adapté.
- **RODIER J., 1984.** L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Edition Dunod Paris.
- **RODIER J., 2005.** L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, Eaux résiduaires, Eau de mer. 8eme édition: Dunod, Paris.
- **RODIER J., 1996**. Analyse de l'eau.-8eme Ed, Paris : Dunod.- 412p.
- **SARI H., 2014.** Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau de la source « Attar » (Tlemcen) mémoire du fin d'étude pour l'obtention de diplôme master option : Science des aliments, université Abou –Bekr Belkaid Telemcen, 2p.
- **SDE., 2005.** En savoir plus sur la qualité de l'eau, brochure d'information.-Dakar.-SDE.-1 dépliant.
- **SIDE LARBI K., 2007.** Analyse bactériologique des eaux de consommation, Rapport de stage dans un secteur médical, Université Mustapha Stambouli -MASCARA- DES en microbiologie.
- **SONCY K. B., DJERI K. ANANI M. EKLOU L. Y., ADJRAH D. S., KAROU Y., AMEYAPOH C.**, **SOUZA., 2015.** Évaluation de la qualité bactériologique des eaux de puits et de forage à Lomé Togo. Journal of Applied Biosciences 91:8464 – 8469.
- **SOUMARE I. G.**, **1997.** Contribution à l'étude de la qualité hygiénique des eaux de boisson vendues sur la voie publique.Th : Méd. vet : Dakar ; 10.
- **TAMPO L., AYAH M., KODOM T., TCHAKALA I., BOGUIDO P., BAWA L., DJANEYE B., 2014.** Impact de la demande en chlore et de la chloration sur la désinfection des eaux de puits des quartiers de Lomé : cas des quartiers de Démakpoé et d'Agbalépédogan (Togo)/ Journal of applied biosciences75: pp. 6272– 6281.
- **TOURAB H., 2013.** Contribution à l'étude de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux souterraines dans la plaine du Haouz, mémoire de fin d'études eau et environnement, Université Cadi Ayyad Marrakech.
- **TRAORE E. D., 1996.** Etude de laité microbiologique de l'eau et de la glace dans les industries des produits de la pêche de Dakar. Th : Méd. vet : Dakar ; 33.
- **UPMC., 2011.** Pollution de l'air et de l'eau .Alain Hénaut p.2/11.

- **VILAGINES R., 2003.** Eau, environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie. 2eme Edition : Tec et Doc. Lavoisier. P: 3- 187.
- **VINASSÉHO O. A., 2007.** Problématique de l'eau et de l'assainissement en milieu scolaire en République du Bénin: cas de la ville de Porto Novo**,** Université d'Abomey-Calavi .

ANNEXE 1

1. Analyses physico-chimiques

1.1. Température

Tableau V *:* la variation de la température des échantillons.

Echantillons	Température (°C)	Normes
E 1	21	25°C
E 2	21	
E 3	19	
E 4	21	
E 5	23	
E 6	21	
E 7	24	
E 8	25	
E 9	25	
E 10	24	

1.2. Potentiel d'hydrogène

Tableau VI*:* la variation de pH des échantillons analysés

Echantillons	potentiel d'hydrogène (pH)	Normes (OMS)
E 1	7.1	6,5 - 8,5
E 2	7.3	
E 3	7.2	
E 4	7.2	
E 5	6.9	
E 6	7.0	
E 7	7.2	
E 8	6.9	
E 9	7.3	
E 10	7.2	

ANNEXE 2

2. Analyses bactériologiques

2.1. Matériels des analyses bactériologiques

Le matériel utilisé durant les analyses est le suivant :

2.1.1. Milieux de culture :

- **PCA**

Peptone ……6 g

Extrait de levure…….. 3 g

Gélose…….15 g

Eau D……....1L

- **VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre)**

-Peptone pepsique de viande .....7,0 g

- Extrait autolytique de levure .....3,0 g

- Lactose .....10,0 g

- Sels biliaires.....1,5 g

- Chlorure de sodium .....5,0 g

- Rouge neutre.....30,0 mg

- Cristal violet .....2,0 mg

- Agar agar bactériologique.....12,0 g

- Eau D ……..…1L

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

- **TSI (Triple Sugar Iron)**

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée

-Peptone…… 20,00

-Extrait de bœuf ……....3,00

-Extrait de levure ……..….3, 00

-Saccharose……. 10,00

-Chlorure de sodium…… 5,00

-Citrate ferrique ammoniacal ……0,30

-Thiosulfate de sodium…….0,30

-Rouge de phénol……..… 0,025

-Lactose…….10,00 -Agar…….. 12,00

-Glucose monohydraté…… 1,00

pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2

- **ROTHE (milieu simple et double concentrations)**

	Milieu S/C	**Milieu D/C**
- Hydrolysat trypsique de caséine..…	12,6……..……	25,2 g
- Peptone bactériologique……	8…….	16 g
- Glucose……..	5…….	10 g
- Chlorure de sodium……...	5…….	10 g
- Phosphate dipotassique…….	2,7……..	5,4 g
- Phosphate monopotassique……...	2,7……..	5,4 g
- Azide de sodium……...	0,2……..	0,4 g
- Eau D……		…1L

PH final: 6, 8 ± 0,2

- **Milieu Litsky (EVA Litsky) en g/l d'eau distillée** :
  - Peptone ……..20
  - Glucose……5
  - Chlorure de sodium…….5
  - Phosphate dipotassique……..……2,7
  - Phosphate monopotassique…….2,7
  - Azothydrate de sodium……...0,3
  - Ethyl-violet…….0,0005

PH final : 6,8 ± 0,2

- **Gélose viande-foie en g/l d'eau distillée**
  - Base viande-foie…….30
  - Glucose……2
  - Amidon……2
  - Agar……11

pH final : 7,6 ± 0,2

2.1.2. Réactifs, additifs et solutions

- Eau distillée stérile.
- Alun de fer.
- Sulfite de Sodium.
- Eau de javel.

2.1.3. Appareillage et verrerie :

- Pipettes graduées de 1 ml.
- Pipettes graduées de 10 ml.
- Tubes à essai stériles.
- Bec bunsen.
- Les boittes de pétri.
- Etuve à 37°C et 44°C.
- Bain marie.
- Réfrigérateur.
- Flacons en verre de 250 ml stériles.
- Portoirs.
- Anse de platine.
- Autoclaves
- Four Pasteur

ANNEXE 3

Tableau VII : Nombre le plus probable

Nombre de 3 chiffres	Nombre d'UFT par ml (NPP/ml)
000	0
001	0.45
010	0.46
100	0.6
101	1.2
110	1.3
111	2
120	2.1
200	2.3
201	5
210	6.2
211	13
212	21
220	24
221	70
222	110 et plus

ANNEXE 4

➢ **Résultats des analyses bactériologiques**

Photo N°1 : Observation des FAMT à 37°C Sur milieu PCA

Photo N°2: Observation des coliformes totaux sur milieu VRBL

Photo N°3: Observation des coliformes Fécaux sur milieu VRBL

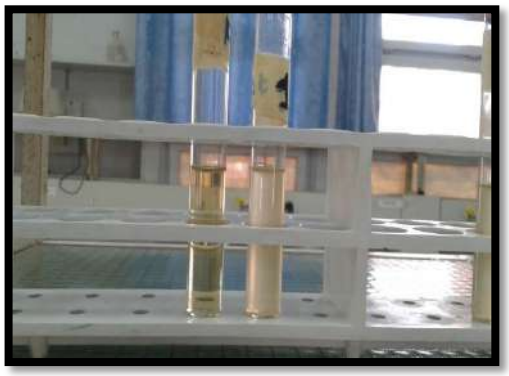


Photo N°4 : Recherche des streptocoques sur milieu ROTHE

Photo N°5: Recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs*

Étude de la qualité bactériologique de l'eau de citerne vendue dans de la ville de Ouargla

Résumé : notre travail de recherche consiste à déterminer la qualité bactériologique de l'eau vendue en citernes dans la commune d'Ouargla. Les échantillons sont prélevés de dix citernes par l'utilisation de flacons stériles qui seront par la suite acheminés aux laboratoires sous froid. Les analyses bactériologiques ont concerné les germes totaux, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques et les Clostridium sulfito-réducteurs. La détermination de quelques paramètres physicochimiques en relation directement avec la prolifération bactérienne ont été déterminé aussi (pH, température). Les paramètres physico chimiques ont varié de 6,9 à 7,3 pour le pH et de 19°C à 25°C pour la température. Les valeurs bactériologiques varient en fonction de la citerne prélevée et de la flore recherchée. La flore prédominante est la flore aérobie mésophile totale dont le niveau de contamination est de 2.38×10^4 ufc/ml suivie par les coliformes totaux avec 0.72×10^4 ufc/ml, les coliformes fécaux avec $0{,}006\times10^4$ ufc/ml, des Streptocoques 0.001×10^4ufc/ml avec une absence total de Clostridium sulfito-réducteurs.

Mots clés : Bactériologie, contamination, citernes, eau, Ouargla.

Study of the bacteriological quality of the water of tank sold in the city of Ouargla

Summary:
The research is to determine the bacteriological quality of the water sold in tanks in the wilaya of Ouargla. Samples are taken of ten tanks by the use of sterile bottles that will be subsequently sent to the laboratories under cold. Bacteriological analyses concerned total germs, total coliforms, fecal coliforms, fecal streptococci and the Clostridium sulfito-reducers. The determination of some physicochemical parameters in relation to bacterial directly have been determined as (pH, temperature).The physical-
chemical parameters varied 6.9 to 7.3 for pH and 19°C to 25°C for temperature. Bacteriologic al values depend on the hot tank and sought flora. The predominant flora is the aerobic flora mesophilic total which the level of contamination is 2.38 × 104 cfu/ml followed by total coliforms with 0.72 × 104 cfu/ml, the fecal coliforms with 0, 006 × 104 cfu/ml, the streptococci 0.001 × 104ufc/ml with a total absence of Clostridium sulfito-reducers.

Key words: bacteriology, contamination, cisterns, water, Ouargla.

مساهمة في دراسة بعض الخواص البكتيريولوجية للمياه المباعة في الصهاريج في ولاية ورقلة

الملخص :
بحثنا يتمثل في تحديد نوعية البكتريولوجية للمياه المحلاة المباعة في الصهاريج في ولاية ورقلة.. يتم أخذ عينات عشر صهاريج عن طريق استخدام قوارير معقمة التي سيتم إرسالها في وقت لاحق إلى المختبرات تحت برودة. وكانت التحاليل البكتريولوجية للجراثيم العامة ، وبكتيريا القولون الكلية والبرازية، الستربتوكوك وكلوستريديات السولفيتية الإرجاعية. تم تحديد بعض المعايير الفيزيوكيميائية المرتبطة مباشرة مع نمو البكتيريا أيضا (الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة). وتراوحت هذه المعايير الفيزيوكيميائية بين 6.9 و 7.3 درجة الحموضة و 19 درجة مئوية إلى 25 درجة مئوية لدرجة الحرارة. تختلف القيم الجرثومية اعتمادا على خزان المأخوذة منه والبكتيريا المطلوبة. البكتيريا السائدة هي مجموع النباتات الهوائية متوسطة الحرارة بما في ذلك مستوى التلوث هو 2.38×10^4 وت م / مل تليها القولونيات الكلية مع 0.72×10^4 وت م / مل، القولونيات البرازية مع 0.006×10^4 وت م / مل، الستربتوكوك 0.001×10^4 و ت م/ مل مع الغياب التام للكلوستريديات السولفيتية الإرجاعية

كلمات البحث: علم الجراثيم والتلوث، والصهاريج ، والمياه، ورقلة.