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

Année: 2020/2021 **N° d'enregistrement:**

/…../…../…../…../

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat 3ème cycle

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie-Microbiologie Appliquée

Thème

INTERACTION BACTERIES-MATERIAUX DES SYSTEMES DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE DANS LA REGION DE OUARGLA : ROLE DES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE SURFACE SUR LE POUVOIR D'ADHESION.

Présentée par : LACHACHE Amina
Soutenue publiquement le 11/07/2021

Devant le jury :

Président	Pr. IDDER Med Tahar	U.K.M. Ouargla
Directrice de thèse	**Pr.BOUDJENAH-HAROUN Saliha**	**U.K.M. Ouargla**
Examinateurs	Pr. ARHAB Rabah	Université Larbi Ben M'hidi -Oum El-Bouaghi
	Dr. HASSAINE Amina	Université B. M. Annaba
	Dr. SAGGAI Sofiane	U.K.M. Ouargla
	Dr. BENAISSA Atika	U.K.M. Ouargla

Dédicace

Je dédie ce travail :

A l'âme de mon très cher père qui a tant espéré voir ce jour.

A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.

A mon mari qui était toujours à mes côtés et qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager : Jamais de simples mots ne me permettraient de vous exprimer mes remerciements

A mes frères Yasser, Ahmed, Abderrahmane et mes sœurs Soumia et Anouar

A ma grande et petite famille.

A tous mes amis et collègues.

Et à tous ceux qui m'ont aidé en particulier Amine, Fatima Zohra, Maroua et Youcef

Amina

Remerciements

Avant tout, louange à Dieu le tout puissant, le miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleures conditions.

Je remercie très chaleureusement ma directrice de thèse Mme BOUDJENAH-HAROUN Saliha Professeur à l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, qui n'a ménagé aucun effort pour que ce mémoire puisse voir le jour. Je lui exprime ma gratitude de m'avoir dirigé avec beaucoup de disponibilité et d'intérêt. Je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude pour l'attention et les conseils qu'elle ma prodigué malgré ses multiples occupations**.** Je voudrais témoigner aussi de ses compétences et de ses immenses qualités humaines.

J'adresse mes remerciements à Monsieur JAQUES Mario, Professeur à l'Université de Montréal pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et collaboré à la réalisation de ce travail. Je suis reconnaissante pour son soutien constant, ses conseils et ses critiques constructives.

Je remercie DOGHERI Ibtissem, Poste doctorat à l'Université de Montréal, Je la remercie vivement pour m'avoir apporté un appui constant, pour son soutien et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail.

Je souhaite remercier également les membres du jury, pour le temps précieux qu'ils ont accordé à ce travail : le professeur IDDER Med Tahar, en qualité de président et valeureux enseignant de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla. Je le remercie pour l'honneur qu'il m'a fait, en acceptant de présider la commission d'évaluation de cette thèse.

Mes profondes reconnaissances s'adressent à mes enseignants : Pr. ARHAB Rabah de l'université Larbi Ben M'hidi à Oum El- Bouaghi , Dr. HASSAINE Amina de l'université de Annaba, Dr. SAGGAI Sofiane et Dr. BENAISSA Atika de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla. C'est un immense privilège que de voir mon travail évalué par des chercheurs reconnus, au niveau international. Soyez assurés, chers professeurs et docteurs, de mon estime et de ma profonde gratitude.

J'exprime mes respectueux dévouements au professeur BISSATI Samia doyenne de la faculté S.N.V de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla pour toutes ses aides.

Mes vifs remerciements vont également à toute l'équipe des laboratoires pédagogiques de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah-Ouargla.

Au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) Constantine et à l'Algérien des eaux (ADE) Ouargla, j'aimerais leur témoigner ma profonde reconnaissance pour leurs aides à la réalisation d'une partie de ce travail,

En fin, je tiens à exprimer ma gratitude et mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail.

LACHACHE Amina

Table des matières

Liste d'abréviation

Liste des Figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Résumé

Introduction …….....01

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique sur les biofilms dans les réseaux de distribution d'eau potable

I.1. Historique des biofilms……...05

I.2. Notion de biofilm dans les réseaux de distribution d'eau…….……..06

I.3. Principaux constituants du biofilm…….……..…....06

I.4. Formation des biofilms…….. 08

I.5. Intérêt de l'étude des biofilms……11

I.6. Méthodes d'analyse des biofilms au laboratoire…….……11

I.6.1. Bactéries modèles …….…..…....12

I.6.2. Modèles de culture……...……..……...…...12

I.6.2.1. Étude des biofilms en microplaques. ……..…….……12

I.6.2.2. Étude des biofilms matures ……..12

I.6.2.3. Numération sur plaque des bactéries hétérotrophes (NPBH)…….....13

I.6.2.4. Méthode de l'adénosine triphosphate (ATP)……...…….13

I.7. Facteurs influençant le développent des biofilms dans les réseaux d'eau potable…….14

I.7.1. Facteurs liés aux microorganismes……..14

I.7.2. Facteurs liés aux propriétés et structure du réseau……..……15

I.7.2.1. Nature des matériaux……....15

I.7.2.2. Diamètre des conduites…….18

I.7.2.3. Rugosité et stabilité du matériau……...18

I.7.2.4. Temps de séjour et vitesse d'écoulement…….…....18

I.7.3. Facteurs liés aux propriétés physico-chimiques du milieu……..19

I.7.3.1. pH…….……..……..19

I.7.3.2. Espèces ioniques dissoutes…….……..……20

I.7.3.3. Température……..20

I.7.4. Nutriments…….....21

I.7.4.1. Sources de carbone organique……..21
I.7.4.2. Sources d'azote…….21
I.4.4.3. Sources de phosphore…….....22
I.7.5. Désinfection…….....22
I.8. Danger microbiologique en réseau de distribution d'eau ……..24
I.9. Origines possibles de la contamination des systèmes de distribution d'eau……...25
I.9.1. Contamination de la ressource en eau……..25
I.9.2. Contamination microbiologique consécutive à une défaillance lors du traitement de potabilisation……..…...25
I.9.3. Contamination résultant d'un accident sur le réseau de distribution d'eau…….26
I.10. Conséquences du développement d'un biofilm dans les réseaux…….…27
I.10.1. Conséquences de la présence d'un biofilm sur le réseau de distribution……...27
I.10.2. Conséquences du développement de biofilm pour les consommateurs…….28

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

II.1. Présentation de la zone d'étude…….30
II.2. Détermination des caractéristiques d'eau distribuée dans la région d'Ouargla……31
II.2.1. Sites de prélèvements……31
II.2.2. Echantillonnage…….32
II.2.2.1. Techniques d'échantillonnage…….……32
II.2.2.2. Transport et conservation au laboratoire…….33
II.2.3. Techniques d'analyses……33
II.2.3.1. Analyses physico-chimiques ……..34
II.2.3.1.1. Dosage du chlore libre……..34
II.2.3.1.2. Analyses physiques……..……34
- Mesure de la température ……34
- Détermination du pH…….....34
- Mesure de la conductivité…….…34
- Mesure de la turbidité…….…….….35
- Détermination du résidu sec……..……35
- Détermination des matières en suspension…….……...35

II.2.3.1.3. Paramètres de pollution ……...36
- Dosage de l'azote ammoniacal (NH_4^+)…….…36
- Dosage des nitrites (NO_2^-)…….…....36
- Détermination des phosphates (PO_4^{-3}) …….……36

II.2.3.1.4. Minéralisation globale …….…36
a. Détermination du calcium (Ca^{2+}) et du magnésium (Mg^{2+}) ……....36
b. Dureté totale (TH) ……..37
c. Dosage du sodium et du potassium…….37
d. Détermination des chlorures (Cl^-) ……..38
e. Détermination des Sulfates (SO_4^{2-}) ……38
f. Titre alcalin complet (TAC) et Bicarbonate (HCO_3^-)……. 38
g. Minéralisation globale…… 39
II.2.3.2. Analyses bactériologiques ……..……39
II.2.3.2.1. Recherche des germes indicateurs de contamination fécale……..…..…….39
- Dénombrement des germes totaux……39
- Recherche et dénombrement des coliformes (Colimétrie) ……..40
- Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux…….……..42
- Recherche et dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs……...……..42
- Recherche de *Salmonella*…….…….43
- Recherche du *Vibrion cholérique*……..43
II.2.4. Exploitation des résultats……44
II.2.4.1. Analyse de la variance (ANOVA) ……..44
II.2.4.2. Test sur échantillon unique ……44
II.3.caractérisation des biofilms du réseau de distribution d'eau potable…….45
II.3.1. Dispositif expérimental d'étude des biofilms *in situ*……..45
II.3.2. Prélèvement mécanique des biofilms ……46
II.3.3. Isolement des espèces bactériennes des biofilms ……..46
II.3.3.1. Culture des bactéries du biofilm……..…….……...46
II.3.3.2. Repiquage des colonies……..…….……47
II.3.3.3. Test biochimiques……..……. 47
II.3.3.3. Coloration de Gram…… 47
II.3.3.3. Observation au microscope optique……47
II.3.3.3. Identification par galeries .....……47
II.4. Identification des souches bactériennes cultivables par la technologie MALDI-TOF……...…47
II.5. Identification des souches bactériennes par séquençage de l'ADNr 16S…….48
II.6. Étude *in vitro* de la capacité à former des biofilms des souches cultivables identifiées…….…….48

II.7. Observation et quantification des biofilms par microscopie confocale à balayage laser……...48

CHAPITRE I III : Résultats et discussion

III.1. Caractéristiques des eaux de consommation dans la région de Ouargla……..51

III.1.1. Caractéristiques physico-chimiques……..51

- Contrôle des taux du chlore de l'eau…….54
- Température.…….54
- Concentration en ions hydrogène « pH »……..57
- Conductivité électrique C-E……. 59
- Turbidité……61
- Taux des sels dissous (TDS) et salinité ……63
- Résidu sec à105°C…….66
- Ammonium NH_4^+ et le Nitrite NO_2^- …….……68
- Orthophosphate PO_4^{-3} …….……..71
- Calcium Ca^{+2}…….……72
- Magnésium Mg^{+2} et la dureté totale TH…….……..74
- Sodium « Na^+ » et Potassium « K^+ » …….…….78
- Chlorures «Cl^- » et les sulfates « SO_4^{-2} » ……..……..……81
- Hydrogénocarbonates « HCO_3^-» et le Titre alcalin complet « TAC » …….84
- Minéralisation globale…….…. 87

III.1.3. Qualité bactériologique……...88

III.2. Diversité des bactéries cultivables dans les biofilms étudiés…….. 91

III.2.1. Isolement de souches bactériennes du biofilms ……...91

III.2.2. Pré identification des souches bactériennes isolées …….……. ..93

III.2.3. Identification des souches bactériennes cultivables par la technologie MALDI-TOF et séquençage de l'ADNr 16S…….……..…95

III.3.Caractérisation des biofilms microbiens …….…….……96

III.3.1. Etude de la capacité des bactéries à former des biofilms en conditions statiques (Biofilms simples)…….…....96

III.3.2. Criblage et étude par microscopie confocale de la capacité des bactéries à former des biofilms mixtes……..……97

Conclusion et perspectives ….....105

Références bibliographiques …….…109

Annexes.

Liste d'abréviation

20A	selon l'âge : plus de vingt Ans
6M et 12M	selon l'âge : six et, douze Mois
A	Albienne
ADE	Algérien des eaux
AFNOR	Association Française de Normalisation
API	Analytical profile index
ATP	adénosine triphosphate
C	Cuivre
C/N	Rapport massique carbone sur azote
CI	Continental Intercalaire
CT	Complexe Terminal
EPA	Milieu Eau Peptonée Alcaline
EPS	Substance Polymère Extracellulaire
F	Foyer
ISO	Organisation internationale de normalisation
M	Miopliocène
MIC	Corrosion Influencée par les Microbe
NA	Normes algérienne
NPBH	Numération sur plaque des bactéries hétérotrophes
NTU	Unité de Turbidité Néphélométrie
OMS	Organisation mondiale de la santé
PEHD	Poly Éthylène Haute Densité
pKa	Constante d'acidité
PVC	polychlorure de vinyle
R2A	pour reasoner's 2A Agar
S	Sénonienne
TDS	Taux de sels dissous
TGEA	Tryptone Glucose Agar
TSA	Gélose Trypticase-soja Agar
UV	Ultra-Violet

Liste des Figures

N° figure	Titre	page
Figure 1	Stromatolithes en forme de biofilm	06
Figure 2	Etapes de formation d'un biofilm d'eau de distribution	09
Figure 3	Approches expérimentales de la formation du biofilm. A : modèle de culture en plaque de microtitration suivie de coloration au violet de gentiane. B et C : culture continue en flox-cell (B) ou microfermenteurs (C).	13
Figure 4	Carte géographique de l'Algérie. Site de l'étude : région de Ouargla dans le sud-est algérien	31
Figure 5	Dispositif expérimental d'étude des biofilms en conditions naturelles	45
Figure 6A	Variation de la température entre les différentes nappes	56
Figure 6B	Variation de la température entre forages et foyers	56
Figure 7A	Variation du pH entre les différentes nappes	58
Figure 7B	Variation du pH entre forages et foyers	58
Figure 8A	Variation de la conductivité électrique entre les différentes nappes	60
Figure 8B	Variation de la conductivité électrique entre forages et foyers	60
Figure 9A	Variation de la turbidité entre les différentes nappes	62
Figure 9B	Variation de la turbidité entre forages et foyers	62
Figure 10A1, 2	Variation de taux des sels dissous et de la salinité entre les différentes nappes	64
Figure 10B1, 2	Variation de taux des sels dissous et de la salinité entre forages et foyers	65
Figure 11A	Variation de taux des résidus sec entre les différentes nappes	67
Figure 11B	Variation de taux des résidus sec entre forages et foyers	67
Figure 12A	Variation de taux d'ammonium entre les différentes nappes	69
Figure 12B	Variation de taux d'ammonium entre forages et foyers	69
Figure 13A	Variation de taux des nitrites entre les différentes nappes	70
Figure 13B	Variation de taux des nitrites entre forages et foyers	70
Figure 14A	Variation de taux d'orthophosphate entre les différentes nappes	71
Figure 14B	Variation de taux d'orthophosphate entre forages et foyers	72
Figure 15A	Variation de taux de calcium entre les différentes nappes	73
Figure 15B	Variation de taux de calcium entre forages et foyers	73
Figure 16A	Variation de taux de magnésium entre les différentes nappes	76
Figure 16B	Variation de taux de magnésium entre forages et foyers	76
Figure 17A	Variation de la dureté d'eau entre les différentes nappes	77
Figure 17B	Variation de la dureté d'eau entre forages et foyers	77
Figure 18A	Variation de taux de Sodium entre les différentes nappes	79
Figure 18B	Variation de taux de Sodium entre forages et foyers	79
Figure 19A	Variation de taux de Potassium entre les différentes nappes	80
Figure 19B	Variation de taux de Potassium entre forages et foyers	80

Figure 20A	Variation de taux de chlorures entre les différentes nappes	82
Figure 20B	Variation de taux de chlorures entre forages et foyers	82
Figure 21A	Variation de taux des sulfates entre les différentes nappes	83
Figure 21B	Variation de taux des sulfates entre forages et foyers	83
Figure 22A	Variation de taux des hydrogénocarbonates entre les différentes nappes	85
Figure 22B	Variation de taux des hydrogénocarbonates entre forages et foyers	85
Figure 23A	Variation de titre alcalin complet entre les différentes nappes	86
Figure 23B	Variation de titre alcalin complet entre forages et foyers	86
Figure 24A	Variation de la minéralisation globale entre les différentes nappes	87
Figure 24 B	Variation de la minéralisation globale entre forages et foyers	87
Figure 25	Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms simples en conditions statiques.	97
Figure 26	Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms mixtes en conditions statiques.	98
Figure 27	Représentations 3D et quantifications des biofilms mixtes des isolats bactériens.	99

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	page
Tableau 1	Caractéristiques des forages échantillonnés	32
Tableau 2	Echantillons de biofilms étudiés en fonction de la nappe, de l'âge et de matériaux	46
Tableau 3	Composition physicochimique de trois forages appartenant à la nappe Albienne	51
Tableau 4	Composition physicochimique de quatre forages appartenant à la nappe Sénonienne	52
Tableau 5	Composition physicochimique de quatre forages appartenant à la nappe Miopliocène	53
Tableau 6	Les souches bactériennes isolées dans les trois milieux de culture à partir des différents échantillons du biofilm	92
Tableau 7	Pré identification des souches bactériennes isolées	94
Tableau 8	Identification des souches bactériennes par la technologie MALDI-TOF	96

Liste des annexes

N° annexe	Titre
Annexe 1	Composition des différents milieux de cultures utilisés

Interaction Bactéries-matériaux des systèmes de distribution d'eau potable dans la région de Ouargla : Rôle des propriétés physico-chimiques de surface sur le pouvoir d'adhésion.

Résumé. Cette étude vise à déterminer l'influence des caractéristiques des sources de forage et des matériaux utilisés dans les systèmes de distribution d'eau potable sur le développement des biofilms dans les conduits au niveau de la cuvette de Ouargla (Algérie). Comme la qualité des eaux a une grande influence sur l'interaction matériau et formation du biofilm bactérien, des analyses physicochimiques et microbiologiques des eaux de forage et de celles qui arrivent au foyer ont été réalisées. Les résultats ont montré que ces eaux sont bactériologiquement potables (absence des germes pathogènes). Par ailleurs, leur analyse physico chimique a révélé que la majorité des paramètres dosés dépassent les normes de potabilité préconisées par l'OMS. D'après les valeurs de leur salinité et de leur dureté variant respectivement de 2550.24 à 3825.36 mg/l et de 820 à 1540 mg/l, ces eaux sont considérées comme très dures et légèrement saumâtres. Pour caractériser les biofilms formés, vingt-sept échantillons sont sélectionnés en fonction de la nappe, du matériau et de l'âge des conduits alimentant la région. Des prélèvements ont été effectués mécaniquement à partir de plusieurs conduits de distribution à base de différents types de matériaux : cuivre, polychlorure de vinyle (PVC) et polyéthylène haute densité (PEHD) ; et à partir de différentes nappes (Albienne, Sénonienne et Miopliocènes. Plusieurs souches bactériennes ont été identifiées grâce à l'utilisation de la technologie MALDI-TOF. Les résultats obtenus ont montré que les conduits en cuivre semblent être défavorables à la colonisation bactérienne tandis qu'une grande variété d'espèces bactériennes a été retrouvée sur les matériaux en PVC et en PEHD. La capacité des souches isolées à former des biofilms a également été étudiée *in vitro*. La majorité des souches isolées, cultivées en biofilm simple et mixte, ont montré une forte capacité à former des biofilms.

***Mots-clés* :** Ouargla, biofilms, dureté, minéralisation, diversité bactérienne, système de distribution d'eau potable.

Bacteria-material interaction in drinking water distribution systems in the Ouargla region: Role of surface physico-chemical properties on adhesion power.

Abstract. This study aims to determine the influence of the characteristics of drilling sources and materials used in drinking water distribution systems on the development of biofilms in pipes in the Ouargla basin (Algeria). As water quality has a great influence on the material interaction and the formation of bacterial biofilm, physicochemical and microbiological analyses of the borehole water and of the water arriving at the home were carried out. The results showed that these waters are bacteriologically drinkable (absence of pathogenic germs). In addition, their physico-chemical analysis revealed that the majority of the parameters measured exceed the drinking standards recommended by WHO. According to the values of their salinity and hardness varying respectively from 2550.24 à 3825.36 mg/l and 820 à 1540 mg/l, these waters are considered very hard and slightly brackish. To characterize the biofilms formed, twenty-seven samples are selected according to the water table, the material and the age of the pipes supplying the region. Samples were taken mechanically from several distribution pipes made of different types of materials: copper, polyvinyl chloride (PVC) and high-density polyethylene (PEHD); and from different aquifers (Albian, Senonian and Miopliocene). Several bacterial strains have been identified using MALDI-TOF technology. The results obtained showed that copper pipes appear to be unfavorable to bacterial colonization while a wide variety of bacterial species were found on PVC and HDPE materials. The ability of isolated strains to form biofilms was also studied in vitro. The majority of the isolated strains, grown in single and mixed biofilm, showed a strong ability to form biofilms.

***Keywords*:** Ouargla, biofilms, hardness, mineralization, bacterial diversity, drinking water distribution system.

التفاعل بين المواد البكتيرية لأنظمة توزيع مياه الشرب بمنطقة ورقلة: دور الخواص الفيزيائية والكيميائية السطحية على قوة الالتصاق .

الملخص. تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على تأثير خصائص المياه الجوفية والمواد المستخدمة في أنظمة توزيع مياه الشرب على تطور الأغشية الحيوية في القنوات في منطقة ورقلة (الجزائر). نظرًا لأن تفاعل مواد القنوات وتكوين الأغشية الحيوية البكتيرية لها تأثير كبير على جودة المياه، فقد قمنا بإجراء التحليلات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية للمياه الجوفية وما يصل منها إلى المنزل (ماء الحنفية). أظهرت النتائج أن هذه المياه صالحة للشرب من الناحية الميكروبيولوجية (عدم وجود الجراثيم المسببة للأمراض). بالإضافة إلى ذلك، أظهر تحليلها الفيزيائي والكيميائي أن غالبية الخصائص المقاسة تتجاوز المعايير الموصى بها من طرف منظمة الصحة العالمية. بناءً على قيم الملوحة والصلابة الخاصة بها والتي تتراوح من 2550.24إلى 3825.36ملغ/ لتر و820 إلى 1540 ملغ/ لترعلى التوالي، تعتبر هذه المياه شديدة الصلابة وذات ملوحة عالية. لوصف مكونات هده الأغشية الحيوية، تم اختيار سبعة وعشرين عينة بناءً على مصدر المياه الجوفية وطبيعة المواد وعمر القنوات التي تغذي المنطقة. تم أخذ العينات ميكانيكياً من عدة قنوات توزيع مصنوعة من أنواع مختلفة من المواد: النحاس، البولي فينيل كلوريد (PVC) والبولي إيثيلين عالي الكثافة(PEHD) ؛ ومن طبقات مياه جوفية مختلفة (ألبيان، سينونيان وميوبليوسين) . تم التعرف على العديد من السلالات البكتيرية بفضل استخدام تقنية. MALDI-TOF أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن القنوات النحاسية تبدو غير مواتية للاستعمار البكتيري بينما مجموعة واسعة من البكتيريا تم العثور على أنواع المواد PVC وPEHD، كما تمت دراسة قدرة السلالات المعزولة على تكوين الأغشية الحيوية في المختبر، وأظهرت غالبية السلالات المعزولة المستزرعة في الأغشية الحيوية الفردية والمختلطة، قدرة قوية على تكوين الأغشية الحيوية.

الكلمات المفتاحية: ورقلة، الأغشية الحيوية، الصلابة، التمعدن، التنوع البكتيري، نظام توزيع مياه الشرب.

Introduction

Introduction

L'eau est une source vitale pour l'homme, sa disponibilité rend la vie plus facile et plus agréable. C'est pourquoi il est indispensable de l'utiliser d'une manière équitable, rationnelle et économique. Devant une telle situation, il est impératif de concevoir des systèmes de protection de cette ressource et des systèmes judicieux d'adduction, de stockage et de distribution qui constituent toujours un grand défi d'ingénierie afin de satisfaire la demande et d'assurer sa qualité.

En Algérie, les réseaux d'eau potable constituent le noyau de l'infrastructure urbaine visant à desservir en continu la population en eau potable. Beaucoup de problèmes sont rencontrés dans leurs exploitations et gestion. Ces problèmes sont souvent liés à l'âge des conduites, et aux conditions d'exploitation.

Parmi les plus grands problèmes dont souffre le Sud Algérien est le problème de précipitation des sels dans les canalisations de distribution de l'eau potable et dans les installations d'irrigation. Parmi les régions les plus touchées, on peut citer : Ouargla, Touggourt et El-Oued. Ces précipitations sont le résultat de plusieurs facteurs dont les plus importants sont: la dureté très élevée des eaux de ces régions; la température de l'eau qui dépasse 50 °C et leur pH plus ou moins basique.

Les systèmes de traitement et de distribution assurent une qualité d'eau destinée à la consommation humaine. Cependant, et selon la littérature, une variété de microorganismes pourrait survivre et croître dans ces systèmes. Une détérioration de la qualité de l'eau pendant son transport a été largement observée (MARCIANO-CABRAL et *al*. 2010; WU et *al.* 2014; LIU et *al.* 2016; LIU et *al.* 2017). Ces bactéries ont tendance à s'accrocher sur les parois internes des canalisations pour former des biofilms (DOUTERELO et *al.* 2014a, 2014b). Les biofilms sont des complexes fonctionnels de communautés microbiennes entourées par une matrice gélatineuse de substances polymériques extracellulaires (SPE) que les micro-organismes produisent eux-mêmes. Les SPE sont responsables de l'intégrité de la structure tridimensionnelle des biofilms et de leur protection contre les conditions environnementales défavorables (LIU et *al.* 2016). La formation de biofilms pourrait également favoriser la dégradation des parois des tuyaux, ce qui contribue à rendre l'eau impropre à la consommation (NAWROCKI et *al.* 2010).

La formation et la croissance des biofilms sur les parois tubulaires pourraient être affectées par de nombreux facteurs, tels que le type de matériau (ALLION et *al.* 2011), la source d'eau (ZENG et *al*. 2013), la disponibilité des nutriments (PARK et HU 2010), le type et la

concentration du désinfectant (XUE et SEO, 2013) et les forces de cisaillement (DOUTERELO et *al*. 2013). Les problèmes engendrés par la colonisation microbienne au niveau des canalisations d'eau potable a fait l'objet de nombreuses études (MARCIANO-CABRAL et *al.* 2010; WU et *al*. 2014). Selon la littérature, les matériaux communément utilisés, du fait de leur composition, leur âge et l'état de leur surface, sont potentiellement générateurs d'un développement bactérien (BUSE et *al*. 2012 ; NAWROCKI et *al.* 2010). En effet, ils peuvent favoriser la colonisation en offrant aux micro-organismes un environnement favorable à leur développement. Les propriétés physico-chimiques et la présence de crevasses assurent une biodisponibilité des nutriments et protègent les microorganismes des forces de cisaillement (LE, 2008).

Depuis les dernières décennies, un nombre croissant de matériaux synthétiques est disponible pour l'utilisation dans les réseaux intérieurs de distribution d'eau. Les conduits d'adduction des eaux potables à base de fonte et plomb sont interdits depuis 1995 (SQUINAZI, 2013), ainsi que le cuivre qui présente certaines limites comme la sensibilité à la corrosion. Ces trois matériaux sont progressivement remplacés par le PVC (polychlorure de vinyle) et le PEHD (polyéthylène haute densité). D'après la direction nationale de l'eau potable et de l'assainissement (DINEPA, 2013), ces deux matériaux sont caractérisés par leur résistance à la corrosion, leur flexibilité, leur coût réduit et leur faible poids ce qui facilite leur installation. Toutefois, on ne sait pas bien dans quelle mesure l'utilisation de ces matériaux peut entraîner une formation de biofilm et un accroissement indésirable de bactéries, dans l'eau. Aussi ce travail s'interroge sur la place des canalisations en cuivre par rapport aux deux autres types de matériaux couramment utilisés dans les réseaux de distribution d'eau potable dans notre région d'étude : les canalisations en cuivre sont-elles les plus adaptées pour empêcher ou limiter la formation de biofilm et la prolifération bactérienne dans les réseaux de distribution ? Les échantillons de biofilm provenant des systèmes de distribution en fonction sont difficiles à obtenir. Les conditions expérimentales pourraient ne pas correctement représenter les caractéristiques des communautés bactériennes de ces systèmes en fonctionnement depuis de longues périodes (DOUTERELO et *al*. 2013). Bien que de nombreuses conditions telles que le diamètre du tuyau et le régime quotidien ne sont pas communs à tous les systèmes d'exploitation, le matériau est toujours considéré comme un facteur clé affectant la colonisation bactérienne.

Le but principal que nous nous sommes fixés dans cette étude consiste à déterminer, pour la première fois, l'influence de la source d'eau (forage), de la nature et de l'âge des matériaux

utilisés sur le développement des biofilms dans les canalisations de distribution des eaux potables de la région d'Ouargla (sud-est de l'Algérie).

Pour mener à bien cette étude quatre volets d'investigations sont entrepris:

- Etude de la qualité des eaux de différentes nappes alimentant la région de Ouargla en eau potable, en effectuant des analyses physico-chimiques et bactériologiques de ces eaux.
- Déterminer l'influence du matériau de canalisations sur le changement du la qualité physicochimique et/ou microbiologique de l'eau distribuée et suivre l'évolution de sa qualité de la source au consommateur.
- Pour mieux connaître la présence et l'impact des biofilms dans les réseaux d'eau potable sur la qualité de l'eau distribuée dans cette région une identification des souches bactériennes cultivables du biofilms par la technologie MALDI-TOF et séquençage de l'ADNr 16S semble être importante et indispensable.
- Caractérisation des biofilms microbiens, par une étude *in vitro (*système expérimental de microplaque en polystyrène de 96 puits) en testant la capacité de ces souches bactériennes à former des biofilms, complétée par une observation et quantification de ces biofilms par la microscopie confocale à balayage laser.

Le présent document est structuré en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique, qui englobe des généralités sur les biofilms et leurs présences dans réseaux de distribution d'eaux potables.

Le deuxième chapitre est réservé à la méthodologie de travail. Il porte sur la présentation de la zone d'étude, les choix des sites de prélèvement, les analyses physico-chimiques et microbiologiques de l'eau potable. Les analyses de laboratoire sont complétées par des analyses statistiques. Afin d'étudier la formation des biofilms dans les conduites des eaux potables, un dispositif expérimental a été conçu suivi par un prélèvement mécanique des biofilms formés, dont le but est de les isoler, les identifier et les caractériser.

Le chapitre III, expose les résultats et discussions des essais expérimentaux. Les données obtenues au cours de cette investigation pourront être utilisées dans le but d'améliorer notre compréhension du phénomène de la colonisation bactérienne dans les systèmes de distribution d'eau potable dans les pays où l'eau est de qualité médiocre (très dures et légèrement saumâtres) et de proposer un matériau qui limite le développement de ces biofilm.

Une conclusion et des perspectives achèvent la présente étude.

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique sur les biofilms dans les réseaux de distribution d'eau potable

« L'eau est un des médicaments naturels qui profite à l'ensemble de l'organisme. On peut l'employer de façons très différentes, sans subir d'effets secondaires, pour combattre et guérir des affections aiguës, ainsi que des problèmes de santé chronique. On peut aussi l'utiliser pour prévenir la maladie et conserver une bonne santé ».

Dr Dian Dincin Buchman, Guérir par l'eau

I.1. Historique des biofilms

D'après les recherches les plus récentes, les bactéries seraient apparues sur Terre il y a environ 3,6 milliards d'années, soit bien avant l'apparition de l'Homme lui-même, il y a environ 100 000 années (GRAVES, 2004). L'homme ne se doutait pas de l'existence même des micro-organismes jusqu'au 17eme siècle, lorsqu'Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) a développé le premier microscope. Il a visualisé et illustré graphiquement des «animalcules» (bactéries) trouvées dans sa propre plaque dentaire. En 1884, Robert Koch a décrit une méthode pour identifier un micro-organisme en tant que cause de maladie (MUNCH, 2003). Les micro-organismes ont été beaucoup étudiés en suspension dans un liquide homogène ou par culture sur un milieu de culture solide (en boîte de Pétri), ce qui offre une vue très partielle de la vie microbienne dans la nature. En 1972 Wuhrmann, a indiqué que 90 à 99% des microorganismes existent sous une forme d'agglomérats à 1.5 m de profondeur dans les rivières (WUHRMANN et *al.*, 1972). Le nombre de bactéries attachées sur les surfaces immergées dans un milieu aquatique est estimé être entre 1000 et 10000 fois plus grand que le nombre de bactéries libres dites "planctoniques" (WATKINS et COSTERTON, 1984). Plus récemment, des observations microscopiques quantitatives démontrent que plus de 99,9% des micro-organismes se développent sous forme de communautés agrégées "sessiles", c'est-à-dire, attachée à une surface, plutôt que comme "planctoniques" ou flottant dans le milieu (COSTERTON et *al*, 1999).

Les micro-organismes se fixent sur des surfaces (vivantes ou non vivantes), forment des « tapis » qui conduisent à la colonisation totale de la surface. Ces tapis bactériens constituent des « *biofilms* ». Cette notion a été proposée en 1976 par William Costerton, directeur du « Center for Biofilm Engineering » de l'Université d'État du Montana.

Depuis cette époque, les biofilms sont considérés comme le mode de vie normal des micro-organismes ; étudier uniquement ces derniers sous forme planctonique signifie qu'on laisse de côté une partie énorme de la population bactérienne. En 2006, ALLWOOD et *al*., ont annoncé dans le journal « Nature » que les stromatolithes, qui résultent de l'activité biologique de cyanobactéries, sont une forme de biofilm composés de micro-organismes, et qu'ils ont été à l'origine de la création de structures de pierre depuis des milliards d'années. Ces « pierres vivantes » étaient, à cette époque, la source unique d'oxygène dans l'atmosphère et donc source de vie sur notre planète (Figure 1) (ALLWOOD et *al*., 2006).

Figure 1. Stromatolithes en forme de biofilm (ALLWOOD et *al.*, 2006).

I.2. La notion de biofilm dans les réseaux de distribution d'eau

Très rapidement après leur mise en service, les parois des réseaux de distribution d'eau sont colonisées par une structure complexe communément appelée biofilm. Cela découle du fait que ces réseaux sont continuellement exposés à un flux de matière, dont des microorganismes naturellement présents dans l'eau et ne présentant aucun danger pour la santé humaine. Ainsi, dans les réseaux de distribution d'eau, la plus forte densité de microorganismes se rencontre à la surface des matériaux constituant ces réseaux (FLEMMING et *al*., 2002). La résistance et la prolifération des bactéries dans ces conditions sont dues à leur organisation en biofilm, correspondant à l'association de microorganismes inclus dans une matrice d'exopolymères contenant également des débris particulaires et des produits de corrosion à la surface des différents matériaux. Des champignons, algues, levures, virus et protozoaires sont également retrouvés dans les biofilms.

Comme vu précédemment, des incidents survenant au niveau des stations de potabilisation des eaux ou sur les réseaux peuvent être à l'origine de la présence de microorganismes indésirables dans l'eau et ceci malgré la présence d'une concentration résiduelle en chlore circulant, généralement de l'ordre de 0,1 mg/L (DESERRE et *al.*, 1999; NYGARD et *al*., 2003; MAUNULA et *al*., 2009).

I.3. Les principaux constituants du biofilm

Les constituants essentiels d'un biofilm sont les micro-organismes agglomérés et la matrice qu'ils synthétisent. La présence de canaux permet l'établissement de flux d'eau, d'ions et de

nutriments (CLUTTERBUCK et *al*., 2007). Les micro-organismes représentent 2 à 15 % du matériel du biofilm. La matrice extracellulaire représente 50 à 90 % de la masse organique carbonée d'un biofilm. Le rapport C/N d'un biofilm est cinq fois plus élevé que pour une suspension de bactéries planctoniques, ceci étant dû à la prédominance de la matrice (SUTHERLAND, 2001; BRANDA et *al*., 2005).

Les propriétés physico-chimiques de la matrice d'exopolymères sont variables d'un biofilm à l'autre. Sa très forte teneur en eau, due à sa capacité à fixer un grand nombre de molécules d'eau par des liaisons hydrogène, permet à certains biofilms de lutter contre la dessiccation dans le milieu naturel. La matrice d'exopolymères joue aussi un rôle majeur dans les propriétés de résistance aux biocides des biofilms, en se liant directement aux agents antimicrobiens et en les empêchant de pénétrer au sein du biofilm (DONLAN et COSTERTON, 2002). Ainsi, la matrice exopolymérique joue un rôle structural et fonctionnel important puisqu'elle sert de barrière protectrice contre la dessiccation, les biocides mais aussi contre les bactériophages (DONLAN et COSTERTON, 2002).

Les premières observations microscopiques de biofilms d'eau potable les décrivaient comme des microcolonies bactériennes aléatoirement déposées sur la surface et composées d'une grande diversité de cellules dominées par des bactéries en bâtonnet (ALLEN et GELDREICH, 1977; RIDGWAY et OLSON, 1981). La composition des biofilms est bien évidemment influencée par la nature de l'eau à partir de laquelle ils se sont formés, mais également par la vitesse d'écoulement de l'eau et la nature de la surface des matériaux composant les parois. Ainsi PERCIVAL et *al.* (1999) ont observé, pour des biofilms de 5 mois et une vitesse de l'eau de 0,32 m.s-1, que le biofilm est essentiellement composé de bactéries en bâtonnet, de diatomées, de quelques hyphes fongiques et de bactéries filamenteuses. Pour une vitesse de l'eau de 1,75 m.s-1 la quantité de biomasse après un mois de contact est augmentée (2,4.105 cellules/cm2) par rapport à une vitesse de 0,32 m.s-1 (3,2.103 cellules/cm2) et le nombre de bactéries filamenteuses plus important (PERCIVAL et *al.*, 1999). Plus récemment, MARTINY et *al. (*2003) ont étudié la morphologie d'un biofilm de trois ans formé dans un pilote alimenté par de l'eau de distribution et composé d'une boucle de 12 mètres à la surface de laquelle étaient disposés des coupons d'inox. Ils ont pu déterminer que la colonisation du support se fait à partir de bactéries isolées qui se multiplient pour former des microcolonies et qu'après trois ans la biomasse recouvrait 76% de la surface pour une épaisseur pouvant varier entre 15 et 30 µm.

La densité bactérienne d'un biofilm de réseau d'eau potable sur les parois est généralement comprise entre 105 et 108 cellules/cm^2 (BOE-HANSEN et *al.*, 2002; BATTÉ et *al*., 2003;

LANGMARK et *al.*, 2005), pour une biomasse bactérienne circulant dans l'eau comprise entre 103 et 106 cellules/mL (BLOCK et *al.*, 1993; SERVAIS et *al.*, 1995; SIBILLE et *al.*, 1997).

Par contre, seulement 1 à 9% des bactéries composant cette biomasse sont cultivables sur gélose après 15 jours de culture, ce qui explique que l'identification des espèces bactériennes composant cette biomasse soit difficile. Les progrès en biologie moléculaire ont permis une identification plus précise des populations bactériennes composant un biofilm d'eau potable. Ainsi, MARTINY et *al.* (2005) ont identifié 12 groupes bactériens dans leurs biofilms parmi lesquels Acidobacteria, Nitrospirae et Planctomycetes, alors que les bactéries cultivables les plus fréquemment mises en évidence appartiennent aux groupes Proteobacteria et Bacteriodetes.

La structure des biofilms d'eau potable formés en conditions naturelles n'est que partiellement élucidée, en partie en raison de la difficulté à prélever des échantillons *in situ* dans les réseaux de distribution. Les principales informations sur les biofilms du milieu hydrique ont été obtenues à partir de biofilms générés en laboratoire à l'aide de pilotes d'étude également appelés réacteurs. Ces informations sont ensuite extrapolées à des biofilms in situ (BLOCK et APPENZELLER, 2001; PARIS et *al.*, 2009; ABE et *al.*, 2012). Les biofilms des réseaux de distribution apparaissent globalement comme des structures hétérogènes et discontinues, composées d'agrégats dispersés à la surface du matériau. Le biofilm est composé d'une biomasse stratifiée qui doit être appréhendée comme une structure à trois dimensions (ABE et *al.*, 2011 et 2012). Certaines études effectuées sur des biofilms mono espèces ont permis de déterminer que les agrégats bactériens sont entourés de canaux qui peuvent occuper jusqu'à 50% du volume total du biofilm et qui permettent la circulation d'eau, de nutriments, de particules et éventuellement de microorganismes (BRIANDET et *al.*, 2008). L'activité métabolique des microorganismes varie en fonction de leur localisation dans le biofilm. En effet, lorsque le biofilm présente une faible épaisseur le transfert d'oxygène et de nutriments ne serait pas limitée. Par contre, lorsque le biofilm est plus épais, l'activité respiratoire serait plus faible au niveau des couches profondes et les bactéries présentes seraient protégées de la présence de biocide résiduel circulant dans l'eau.

I.4. Formation des biofilms

La formation des biofilms est largement décrite dans la littérature (PRATT et KOLTER 1998, FILLOUX et VALLET, 2003 ; LEJEUNE, 2003 ; HALL-STOODLEY et *al.*, 2004 ;KOLTER et GREENBERG, 2006). Les principaux microorganismes responsables de la formation d'un

biofilm sont les bactéries, en effet ces dernières sont capables d'adhérer, de se répliquer et de sécréter des exopolymères consolidant la biomasse formée à la surface des réseaux de distribution d'eau.

D'autres organismes tels que des protozoaires, des virus, des algues, des champignons vont ensuite être capables de se fixer et d'intégrer cette biomasse. Nous nous attarderons spécialement sur la composante bactérienne du biofilm. La prolifération bactérienne sous forme de biomasse est le résultat d'un ensemble de processus physiques, chimiques et biologiques qui se produisent en plusieurs étapes (Figure 2).

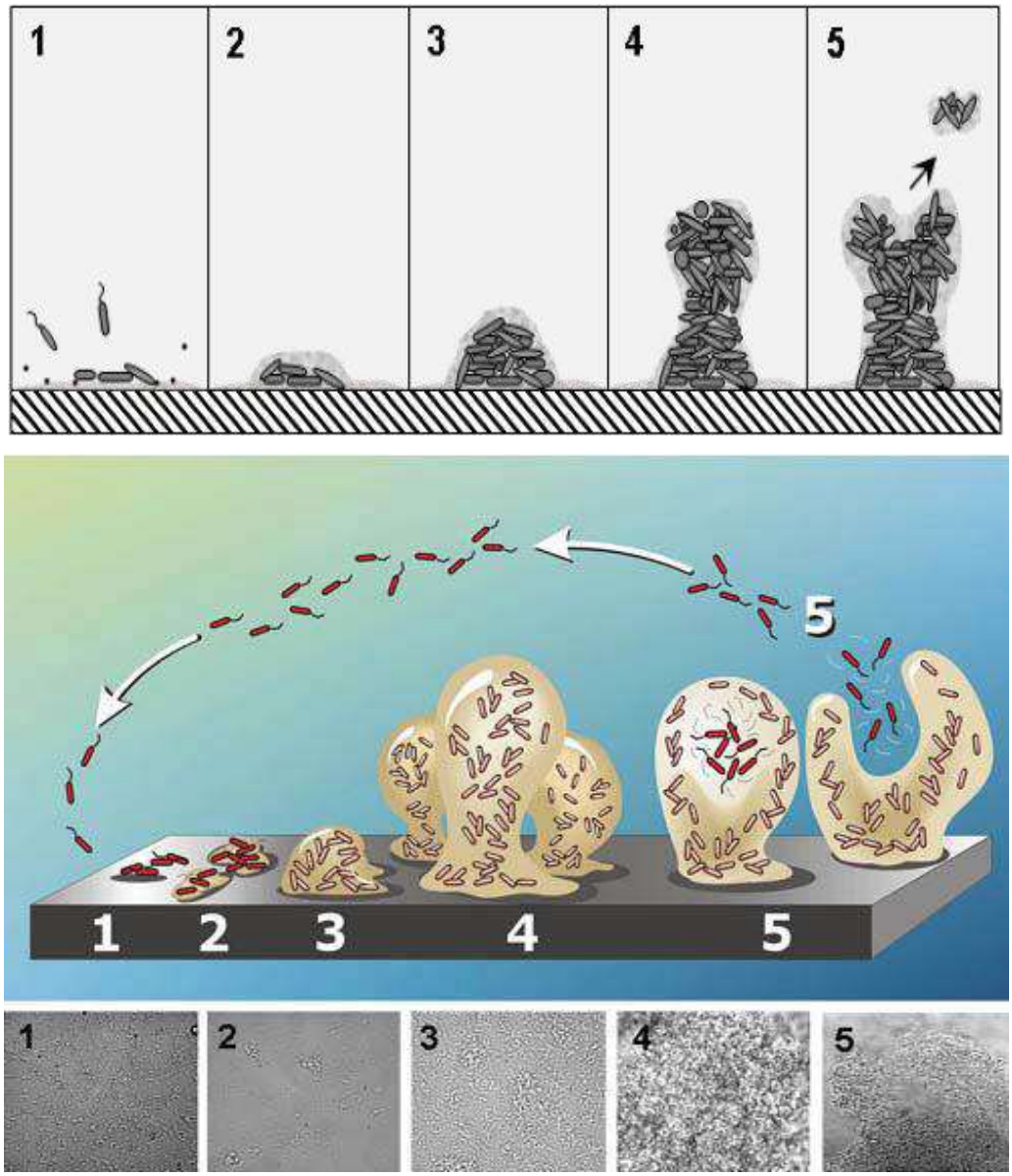


Figure 2. Etapes de formation d'un biofilm d'eau de distribution (POITELON et *al.*, 2011)

1 : adhésion de polymères (conditionnement de la surface), 2 : adhésion de bactéries, 3 : synthèse d'une matrice de biopolymères, 4 : Croissance du biofilm, 5 : relargage de portions de biofilm.

L'étape initiale est la formation d'un film conditionnant (Figure 2, étape 1) résultant de l'adsorption de biomolécules (protéines, lipides, minéraux, fragments d'ADN…). Il s'agit de molécules de petite taille, quelques nanomètres, ce qui leur permet une diffusion plus grande et d'atteindre la surface plus rapidement que les microorganismes. Ce dépôt va très rapidement modifier la surface et ses propriétés physico-chimiques (SCHNEIDER, 1997; ABE et *al*., 2011). Ce film est potentiellement favorable au dépôt des microorganismes circulant dans l'eau. Il s'ensuit alors le dépôt des microorganismes sur la surface, qui peut se produire par sédimentation, mouvement brownien, convection, résulter de turbulences dans le flux d'eau ou tout simplement par mobilité des microorganismes éventuellement couplée avec des phénomènes de chimiotactisme dus aux molécules composant le film conditionnant (BUSSCHER et WEERKAMP, 1987).

Une seconde étape consiste en l'attachement des microorganismes, et notamment des bactéries, à la surface des conduites du réseau (Figure 2, étape 2). Cette étape peut être divisée en deux principaux phénomènes : l'adhérence puis l'adhésion. L'adhérence correspond à une adsorption réversible des cellules, par le biais d'interactions électrostatiques, hydrophobes et d'interactions de Van der Walls. Cette étape est souvent aspécifique et de courte durée (5 à 10 heures) (GAUTHIER et ISOARD, 1989). Elle est suivie par l'étape d'adhésion qui est la fixation irréversible des bactéries. Elle fait appel au métabolisme bactérien par sécrétion d'exopolymères qui consolident leur attachement au support et stabilisent le biofilm (Figure 2, étape 3). Les bactéries, qui contrairement aux virus sont capables de se multiplier dans un tel environnement, se multiplient et colonisent le support en formant des colonies structurées dans une matrice d'exopolymères (Figure 2, étape 4). Enfin la maturation du biofilm se poursuit jusqu'à atteindre un équilibre entre d'une part le taux d'accumulation et de croissance du biofilm et d'autre part le taux de détachement de matière par relargage de portions superficielles dans l'eau circulante (Figure 2, étape 5). Deux phénomènes de régulation de l'épaisseur du biofilm sont observés. Les phénomènes d'érosion surviennent quotidiennement et correspondent à des pertes de biomasse localisées à la surface du biofilm. Les phénomènes de dépouillement sont des pertes de portions entières de biofilm pouvant survenir lors de turbulences hydrauliques au sein du réseau (SKRABER et *al.*, 2005). Il existe également des phénomènes de prédation essentiellement dus à des protozoaires tels que les

amibes et qui peuvent être responsables de l'élimination partielle de la biomasse (PARIS et *al*., 2009).

I.5. Intérêt de l'étude des biofilms

Dans de nombreux cas les biofilms ont toutefois des effets positifs, ou même vitaux en ce qui concerne les biofilms physiologiques par exemple (colonisation de tractus intestinal ou de la surface des racines et des feuilles de plantes). Ils sont également des agents géochimiques importants dans les environnements de surface, en agissant sur les transformations et les flux de matière aux interfaces liquide-solide et dans la formation ou l'altération des minéraux. La capacité à dégrader le support sur lequel les biofilms se développent est mise à profit dans les procédés de biolixiviation, qui utilisent l'attaque microbienne des minéraux pour mettre en solution les ions souhaités. La capacité des biofilms à transformer leur milieu est aussi couramment mise en œuvre pour la dépollution des effluents aqueux (MEDDOUR, 2012).
Les propriétés particulières des bactéries immobilisées sont utilisées depuis plus d'un siècle. Ainsi, dès 1823, SCHUETZENBACH envisagea d'utiliser des copeaux de hêtre pour adsorber des micro-organismes et produire du vinaigre et Pasteur développa le premier système à cellules immobilisées, dans le procédé « Pasteur » ou « Orléans » pour la production de vinaigre. L'immobilisation cellulaire consiste à confiner des cellules microbiennes dans un espace restreint afin d'obtenir une biomasse active à haute densité (KAREL et *al.*, 1985). Contrairement aux systèmes utilisant des cellules en suspension, cette technologie permet d'augmenter la productivité grâce à l'aspect continu des opérations, à la haute densité cellulaire maintenue dans les réacteurs et à la réutilisation des biocatalyseurs (GROBOILLOT et *al.*, 1994). De plus, l'immobilisation cellulaire limite les risques de contamination (CHAMPAGNE et *al.*, 1994) et augmente la stabilité plasmidique (HUANG et *al*., 1996).

I.6. Méthodes d'analyse des biofilms au laboratoire

Les approches expérimentales classiques pour étudier les microorganismes ne sont pas adaptées à l'étude de leur mode de vie complexe en biofilms. Au cours des dernières années, les chercheurs ont donc développé différents modèles expérimentaux associant analyse moléculaire et microscopie (ROUX et GHIGO, 2006).

I.6.1. Bactéries modèles

La majorité des espèces bactériennes étudiées en laboratoire forment des biofilms. Les bactéries modèles les plus étudiées sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae*. Ces bactéries pathogènes ou commensales à Gram négatifs sont facilement manipulables et ont permis l'identification et l'étude de nombreux facteurs moléculaires impliqués dans la formation des biofilms. Plusieurs équipes travaillent également avec la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* qui est impliquée dans de nombreuses infections nosocomiales.

I.6.2. Modèles de culture

I.6.2.1. Étude des biofilms en microplaques

L'utilisation des modèles statiques de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, a permis d'avancer considérablement dans la compréhension de ce mode de vie. La technique des microplaques multi-puits, couplée à l'analyse de mutants de transposition, a permis d'identifier de nombreux gènes impliqués dans la formation des biofilms sur des surfaces abiotiques (GENEVAUX et *al.*, 1996 ; PRATT et KOLTER, 1998 ; O'TOOLE et KOLTER, 1998). Un grand nombre de laboratoires utilisent ce modèle pour étudier les étapes précoces de la formation des biofilms (figure 3A).

I.6.2.2. Étude des biofilms matures

Afin d'identifier et d'étudier les facteurs moléculaires impliqués dans la maturation et la structuration du biofilm, on utilise des modèles de culture continue comme les microfermenteurs ou les chambres en flux (*flow-cell*), inoculés avec des souches bactériennes exprimant des protéines fluorescentes (BELOIN et *al.*, 2005). Le développement de la structure tridimensionnelle du biofilm est ensuite suivi par microscopie confocale laser (REISNER et *al.*, 2003) (figure 3B et C).

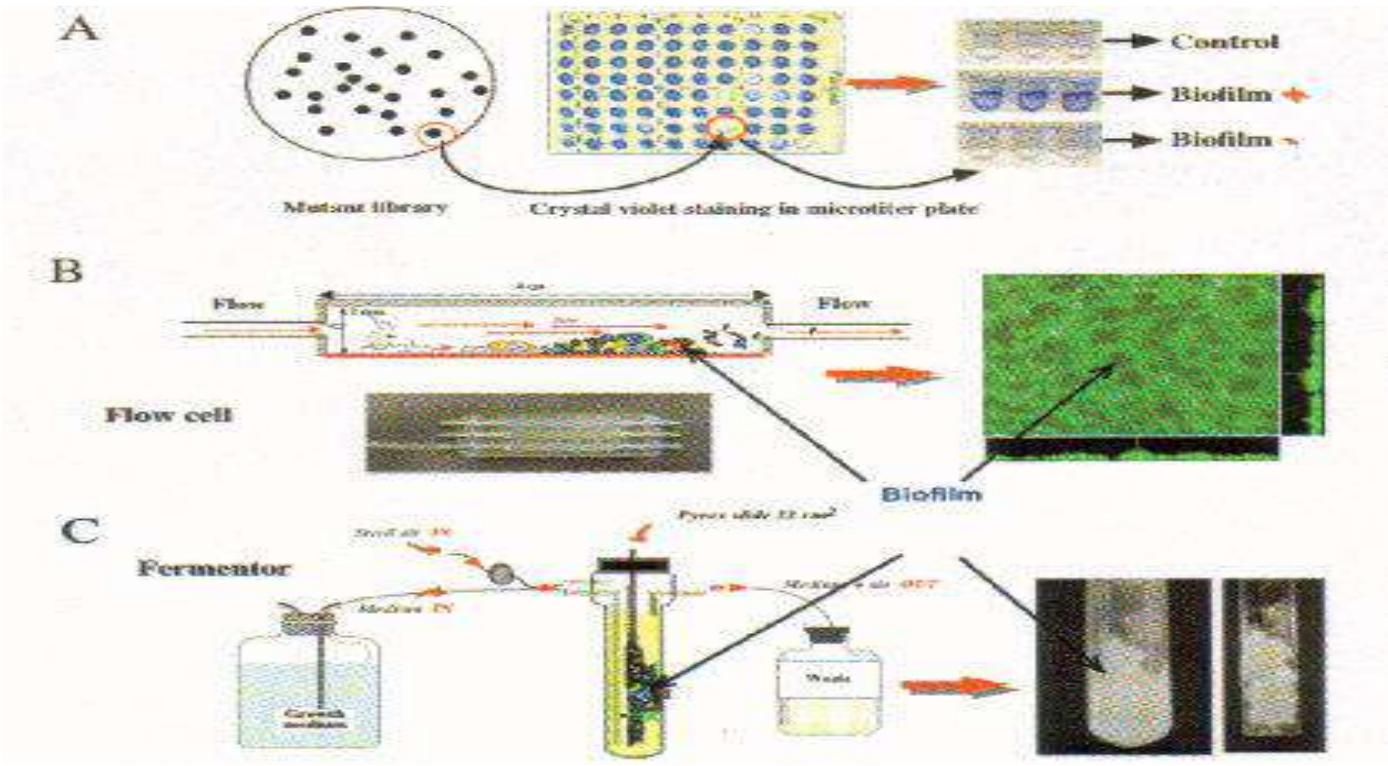


Figure 3. Approches expérimentales de la formation du biofilm.
A : modèle de culture en plaque de microtitration suivie de coloration au violet de gentiane.
B et C : culture continue en *flox-cell* (B) ou microfermenteurs (C).

I.6.2.3. Numération sur plaque des bactéries hétérotrophes (NPBH)

C'est un test qui mesure la quantité de bactéries hétérotrophes (c'est-à-dire de bactéries qui dépendent de matières organiques pour se nourrir) dans des échantillons d'eau provenant d'un réseau de distribution. Les résultats de la NPBH peuvent donner une idée générale du niveau de bactéries présentes qui se nourrissent de matières organiques. En règle générale, si la NPBH est élevée, il existe un risque également élevé de formation de biofilm. La comparaison des résultats avec des tendances historiques permet de déterminer si les niveaux de bactéries sont anormalement élevés dans le réseau (CWAE, 2016).

I.6.2.4. Méthode de l'adénosine triphosphate (ATP)

C'est un test qui mesure la biomasse totale des organismes vivants dans des échantillons d'eau ou à la surface de canalisations. L'ATP est une molécule présente dans tous les organismes vivants. En cas d'augmentation du biofilm, il devrait aussi y avoir une augmentation de l'ATP. La méthode de l'ATP n'a pas pour but de remplacer la NPBH, mais elle peut contribuer à la surveillance microbienne. Des trousses d'ATP sont disponibles

commercialement pour des échantillons d'eau ou des surfaces (par exemple, paroi de canalisation). Il est possible de mesurer directement les niveaux du biofilm ou des bactéries qui ont adhéré à la surface de la paroi d'une canalisation. En règle générale, le prélèvement d'échantillons de canalisation dans des réseaux de distribution peut être coûteux. Une autre solution consiste à prélever une carotte, appelée un coupon (Liu et *al.* 2013). Après que le coupon a été extrait, on peut mesurer le biofilm (Liu et *al.* 2013).

I.7. Facteurs influençant le développement des biofilms dans les réseaux d'eau potable

Etant donné l'importance du processus d'adhésion dans la formation du biofilm, il est nécessaire de connaître les paramètres qui l'influencent, afin de pouvoir chercher les mesures préventives à leur formation.

Ces paramètres peuvent se résumer en facteurs liés aux microorganismes, d'autres liés aux propriétés physico-chimiques (pH, température…) de l'eau potable, d'autres structuraux (nature du matériau de canalisation…) et hydrodynamiques (débits, régimes,…), d'autres qui se traduisent par la disponibilité en nutriments, et finalement, des facteurs liés à la présence de certains produits toxiques pour les bactéries, tels que les désinfectants.

I.7.1. Facteurs liés aux microorganismes

Selon qu'ils sont dotés ou non d'une mobilité grâce à des flagelles par exemple, l'adhésion des microorganismes aux supports inertes est favorisée ou non.

L'adaptabilité et la capacité des microorganismes à produire des EPS est également un facteur qui favorise leur adhésion aux supports, surtout durant les phases post-adhésion initiale gérées essentiellement par les interactions spécifiques (biologiques). La formation de ces EPS est généralement maximale pendant les périodes de stress (BOURION, 1995).

Les propriétés physico-chimiques de la paroi cellulaire (charge, caractère hydrophobe/hydrophile, acide ou basique) dépendent de la composition de la paroi cellulaire (LATRACHE et *al.*, 1993) et de leur métabolisme, celles-ci changeant en fonction des conditions de culture (température, composition du milieu nutritif…), le type de Gram (+ ou –) de l'espèce bactérienne, et donc influencent l'adhésion bactérienne aux supports (BELLON-FONTAINE et CERF, 1991).

L'âge de la culture joue également un rôle important puisque Stanley (1983) a montré, en effet, que l'attachement de *P. aeruginosa* est meilleure en phase exponentielle de croissance par rapport à la phase stationnaire. Pareillement, LITTLE et *al*. (1986) ont montré que *P. marina* est plus hydrophobe en phase stationnaire et adhère mieux durant cette phase par

rapport à la phase exponentielle, le même résultat ayant été observé par VAN LOOSDRECHT et *al.* (1987 et 1990) sur de nombreuses espèces bactériennes.

I.7.2. Facteurs liés aux propriétés et structure du réseau

I.7.2.1. Nature des matériaux : décrite par BESNER et *al.*, (1999) ; GAUTHIER, 2002 ; DINEPA, 2013 ; DOUTERELO et *al.*, (2013) et SQUINAZI, 2013.

D'une manière générale, le choix d'un matériau est fonction de la nature du terrain, des coûts de fourniture et de mise en œuvre, de la facilité à réaliser les raccordements, les réparations,… De nombreux types de tuyaux sont disponibles pour réaliser une conduite d'adduction d'eau potable. Ils sont classés en fonction du type de matériaux avec lesquels ils sont fabriqués :

a. les matériaux métalliques : fonte grise ou ductile, acier, béton, cuivre

b. les matériaux organiques : PVC, polyéthylène haute et basse densité.

Cependant, d'autres critères doivent être pris en compte. En effet, les interactions entre l'eau et les matériaux constitutifs des systèmes de distribution d'eau potable sont à l'origine de la dégradation de la qualité de l'eau. Ainsi les différents matériaux utilisés pour les conduites d'eau potable, influencent le développement de biofilms de diverses façons :

- la rugosité du matériau, qui offre une grande surface de contact avec l'eau ; celle-ci favorise alors l'adhésion des microorganismes sur les parois des conduites,
- le matériau relargue dans l'eau des éléments qui peuvent être métabolisés par les bactéries hétérotrophes présentes au niveau des biofilms : matière organique dans le cas des matériaux organiques, ions métalliques, dans le cas des matériaux corrodables, et ainsi favoriser leur développement,
- la stabilité du matériau : les tubercules de corrosion de certains matériaux peuvent constituer des sites préférentiellement colonisés par les bactéries.

On peut distinguer trois grands types classés selon la nature du matériau de fabrication de base : les matériaux ferreux (essentiellement fonte grise, fonte ductile et acier), plus propices à la corrosion, les bétons et ciments ainsi que les matériaux organiques (plastiques). Les canalisations en plomb et cuivre sont de moins en moins utilisées, et leur présence est actuellement restreinte aux anciens branchements entre les conduites principales du réseau public et les réseaux intérieurs aux immeubles. La réglementation de certains pays interdit même actuellement leur utilisation (BESNER, 1999).

- Les matériaux métalliques

Les matériaux métalliques (ou inorganiques) influencent le développement des microorganismes à deux niveaux distincts :

-La corrosion des matériaux métalliques peut entraîner, selon la qualité de l'eau (eau agressive), la formation de tubercules de corrosion. Ces derniers constituent des niches où les microorganismes peuvent se développer. En effet, ces tubercules présentent une grande surface de contact avec la phase aqueuse et permettent ainsi un piégeage plus important de la matière organique circulante, tout en offrant une protection contre la diffusion du désinfectant résiduel. La présence de ces tubercules conditionne l'efficacité de l'adhésion des bactéries pionnières.

-La corrosion de ces matériaux par les eaux agressives, ou moyennement à faiblement minéralisées, conduit à l'émission d'ions métalliques dans l'eau. Ces ions métalliques peuvent alors être utilisés par des bactéries dont le métabolisme est dépendant. Ces bactéries se développent et colonisent les parties du réseau qui se corrodent. Elles peuvent alors accentuer les phénomènes de corrosion. Les termes de biocorrosion ou de MIC (Microbially Influenced Corrosion) sont alors employés. En effet, la croissance bactérienne dans un réseau de distribution contribue à la corrosion en fournissant un milieu propice aux réactions corrosives. Les mécanismes impliqués dans les phénomènes de corrosion sont souvent une combinaison complexe de procédés physiques, chimiques, mais également biologiques. Ainsi, plusieurs types bactériens peuvent être responsables de biocorrosion:

• Les *ferrobactéries*: qui tirent l'énergie nécessaire à leur synthèse, de l'oxydation des sels ferreux (Fe II) en sels ferriques (Fe III). Or, dans les canalisations à base de métaux ferreux, la formation d'un biofilm en un point non protégé ou altéré de la surface, entraîne la formation d'hydroxyde ferreux. La présence de *ferrobactéries* au point d'attaque entraîne la mobilisation des ions ferreux et leur transformation en ions ferriques.

Ceci a pour conséquence, la formation d'amas de "rouille", renfermant les corps bactériens, suivie d'une dissolution du métal.

• Les bactéries sulfatoréductrices: anaérobies strictes, ces bactéries sont présentes au niveau de la sous-couche du biofilm, en contact avec le métal. La réduction des sulfates entraîne la formation d'hydrogène sulfuré qui se combine avec les sels ferreux pour donner du sulfure de fer.

• Les *sulfobactéries*: aérobies, ces bactéries métabolisent le soufre à partir de composés réduits et le rejettent dans le milieu ambiant ou l'emmagasinent dans leurs cellules. Ceci entraîne la formation de boues. Les *sulfobactéries* peuvent également oxyder le soufre et

former des produits acides (H_2SO_4) et ainsi provoquer une acidification corrosive avec modification importante du pH du milieu.

Dans ce cas, les matériaux utilisés pour l'adduction de l'eau peuvent constituer une source de nutriments ou de facteurs de croissance.

Dans le cas de ces métaux corrodables, la présence de produits de corrosion des matériaux ferreux amplifie l'activité et la production de biomasse. Ainsi, la production bactérienne peut être jusqu'à dix fois plus importante sur un matériau corrodable que sur un autre matériau.

- Les matériaux organiques

Les matériaux organiques sont, pour certains, perméables à des produits organiques tels que des solvants ou des hydrocarbures, qui entraînent une contamination de l'eau. En plus, de ce risque de contamination chimique, ces contaminants organiques peuvent constituer, selon leur biodégradabilité, des nutriments pour la flore bactérienne.

Des nutriments peuvent également provenir du relargage de composés existant dans la structure même du matériau, d'adjuvants introduits au niveau du matériau (souvent de nature organique) ou provenant d'impuretés présentes dans les composants de base. Ces nutriments peuvent alors selon leur biodégradabilité constituer une source nutritive pour la biomasse fixée et favoriser le développement des biofilms.

Les matériaux utilisés pour le transport de l'eau potable, qu'ils soient synthétiques ou non, sont potentiellement générateurs d'un développement bactérien du fait de leur composition complexe : composés de base (polymère organique, matière minérale), adjuvants nécessaires à la stabilité des matériaux … En plus de leur contribution à la croissance bactérienne, ils peuvent être à l'origine de saveurs, de couleur ou de turbidité.

Les matériaux organiques (PVC, polyéthylène…) deviennent de plus en plus utilisés pour la fabrication de nouveaux réseaux ou la rénovation et le remplacement d'un ancien réseau (conduites métalliques, béton…) en raison des avantages que présentent leur facilité d'installation et de manipulation, leur durabilité (résistance à la corrosion) et leur faible coût. De tels matériaux sont utilisés depuis les années 1960, ce qui témoigne que leur durée de vie peut dépasser 40 ans (BESNER, 1999). Cependant, certains matériaux organiques sont perméables à des molécules organiques telles que des solvants, des hydrocarbures, des phénols, ou des produits phytosanitaires, ce qui entraîne une contamination de l'eau et constituent éventuellement (selon leur biodégradabilité) un apport de nutriments pour la flore bactérienne planctonique ou sessile. Des nutriments peuvent également provenir du relargage de composés de base existant dans la structure même du matériau, (adjuvants, impuretés présentes (SADIKI et *al.*, 1996).

L'adhésion bactérienne aux supports est fonction des propriétés physico-chimiques de ce dernier ; KUHN et *al.* (2002) ont montré que l'adhésion de *C. albicans* était souvent importante sur des supports plastiques à caractère hydrophobe. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par GALLARDO MORENO et *al.* (2002) pour *Enterococcus faecalis* avec une adhésion plus importante sur le silicone comparé au verre. Quant à REYNOLDS et FINK (2001), ils avaient observé pour des supports hydrophobes, que les levures de boulangerie sont capables d'adhérer au polystyrène, au polypropylène et dans une moindre mesure au PVC. CHANDRA et *al.* (2001) ont même montré que la nature du support pouvait affecter la structure et l'organisation du biofilm formé.

I.7.2.2. Diamètre des conduites

Le diamètre d'une conduite peut affecter la formation des biofilms dans les conduites d'adduction d'eau potable en modifiant indirectement, pour un certain débit, la vitesse linéaire découlement et donc les forces de cisaillement. (BOUTALEB, 2007)

I.7.2.3. Rugosité et stabilité du matériau

La rugosité est un paramètre qui traduit l'importance de la surface de contact avec l'eau. Une forte rugosité augmente donc significativement les sites de fixation (microcrevasses) pour les microorganismes favorisant ainsi leur adhésion aux parois de conduites et les protégeant des phénomènes de cisaillement hydrodynamiques (VAN LOOSDRECHT et *al.*, 1990). Pour un matériau peu stable, les tubercules de corrosion par exemple, peuvent constituer des sites préférentiellement colonisés par les bactéries. L'état de surface des conduites est fonction de leur âge. Le nombre de fuites et de bris dans un réseau augmente en général avec l'âge, ce qui constitue une source de contamination externe de microorganismes (BELLON-FONTAINE et CERF., 1991).

I.7.2.4. Temps de séjour et vitesse d'écoulement

La conservation de la qualité de l'eau est d'autant plus aisée que le temps de séjour dans le réseau est court. Le temps de séjour moyen dans le réseau peut être de l'ordre de quelques jours, mais certains volumes d'eau peuvent stagner plus d'une dizaine de jours dans des zones du réseau où l'écoulement est faible ou bien quand la demande en eau est quasiment nulle (en périodes de vacances par exemple). Une brusque augmentation de la vitesse d'écoulement

peut entraîner l'arrachage du biofilm et par conséquent une détérioration transitoire mais importante de la qualité de l'eau dans les réseaux (BESNER, 1999).

Des études ont montré que la stagnation ou les faibles vitesses d'écoulement favorisent la corrosion et les dépôts de biofilms ou d'un film conditionnant par adsorption de macromolécules ce qui peut conduire à la modification des propriétés de surface du support, et, par conséquence, favoriser la bioadhésion sur les surfaces des conduites. TRICARD et *al.* (1995) ont montré que ces dépôts apparaissent dès que le débit de l'eau est inférieur à 0,01 m.s-1 et disparaissent au-delà de 0,1 $m.s^{-1}$. Toutefois, pour un biofilm formé, un écoulement turbulent est également bénéfique en favorisant le transport des éléments nutritifs et des microorganismes (CHARACKLIS, 1984). Ceci permet le renouvellement du milieu et l'amélioration de la stabilité du biofilm (CARPENTIER et CERF, 1993).

La majorité des réseaux de distribution d'eau potable sont conçus pour supporter des vitesses d'écoulement d'eau potable allant de 0,2 jusqu'à 0,5 m/s (MANUEL et *al.*, 2007). Pour les débits importants, les forces de cisaillement entre le liquide et le support colonisé deviennent importantes et ont pour effet d'arracher les cellules fixées (CHARACKLIS, 1981 ; BRYERS et CHARACKLIS, 1982). Cet arrachage continuel limite l'accumulation de la biomasse fixée (BRYERS et CHARACKLIS, 1982). Des études ont montré que les problèmes de stagnation favorisant corrosion et dépôts apparaissent dès que la vitesse de l'eau est inférieure à 0,01 m/s et disparaissent au-delà de 0,1m/s (TRICARD et BUFFAUT, 1995). Il est alors conseillé des valeurs guides d'écoulement entre 0,5et 1,5 m/s (FNDAE, 2003).

I.7.3. Facteurs liés aux propriétés physico-chimiques du milieu

I.7.3.1. pH

L'adhésion bactérienne au support est fortement influencée par le pH (GORDON et *al.*, 1981). Plusieurs essais en laboratoire ont prouvé que la majorité des bactéries se développent mieux à pH neutre ou légèrement alcalin (BORNERT, 1989). BALEBONA et *al.* (1995) avaient également observé que *Sparus aurata* adhérait mieux au verre à des pH basiques (pH d'eau de mer 8,2- 8,5) qu'aux pH acides. STANLEY (1983) avait montré que la fixation des bactéries peut varier selon le pH et qu'elle est généralement maximale à l'optimum métabolique. Le pH du milieu environnant modifie la charge de surface des microorganismes ainsi que celle des supports solides suite au déplacement des équilibres d'ionisation (protonation/déprotonation) des groupements fonctionnels exposés selon leur pKa (WU et *al.*, 1994, HAMADI et *al.*, 2004, GABORIAUD et *al.*, 2006) ce qui peut avoir comme

conséquence une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques répulsives défavorables à l'adhésion.

I.7.3.2. Espèces ioniques dissoutes

De nombreux auteurs ont montré que les espèces ioniques dissoutes, de par leur nature ainsi que par leur concentration, affectent considérablement la bioadhésion des microorganismes aux supports (BUSALMEN et SANCHEZ, 2001 ; HAMADI et *al.*,2004 ; BAYOUDH et *al.*, 2006 ; GABORIAUD et *al.*, 2006) puisqu'ils jouent un rôle important aussi bien sur leur croissance, en leur offrant les éléments indispensables à leur métabolisme (sodium, potassium, magnésium, chlore…), que sur les propriétés de surface : en effet, la présence d'espèces ioniques peut modifier les propriétés de surface, que se soit celle des microorganismes ou des support solides. A titre d'exemple, MOZES et *al.* (1987) rapportent que l'adhésion de *S. cerevisiae* sur le verre et sur des surfaces en plastique (polypropylène, polystyrène, PVC et PMMA) est augmentée en présence d'ions ferriques, ce qui a été expliqué par le masquage des charges négatives exposées sur les surfaces et ayant comme conséquence la réduction des interactions électrostatiques répulsives. BELLON-FONTAINE et CERF (1991) ont montré également que l'adhésion est favorisée en présence de cations mono, di ou trivalents tels que Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{3+} ou Al^{3+}.

I.7.3.3. Température

Les variations saisonnières de température affectent la formation des biofilms dans les réseaux de distribution, surtout quand l'eau est d'origine superficielle, puisque pour des températures éloignées de l'optimum, la vitesse de multiplication des microorganismes est ralentie (GUILLEMOT, 2006). Sur certains réseaux, en climat tempéré, le nombre de coliformes, par exemple, varie de façon saisonnière dans des réseaux de distribution : l'activité bactérienne s'accroît nettement lorsque la température dépasse 15°C, les plus hauts niveaux étant observés durant les mois d'été (BESNER, 1999).Une température élevée peut favoriser des goûts ou odeurs désagréables. De plus, elle accélère la plupart des réactions physico-chimiques et biologiques dans le réseau, influence la croissance bactérienne, dissipe l'effet du désinfectant résiduel en agissant sur les constantes d'équilibre et accélère la corrosion. On a observé sur certains réseaux en climat tempéré que le nombre de conformes dans des réseaux de distribution variait de façon saisonnière, les plus hauts niveaux se produisant durant les mois d'été. L'activité bactérienne s'accroît nettement lorsque la température dépasse 15°C. (FNDAE, 2003).

I.7.4. Nutriments

La biodisponibilité des nutriments est un des facteurs clés qui détermine la reviviscence des bactéries susceptibles de former un biofilm dans les réseaux de distribution d'eau potable. (VAN DER KOOIJ, 1982). L'adsorption de nutriments sur les parois de canalisations peut constituer un film organique primaire qui modifie les propriétés de surface du support et favorise la croissance des microorganismes (RUBIO, 2002 ; MCFETERS et *al.*, 1984). C'est notamment le cas des surfaces plastiques et d'élastomères tels que le polyéthylène, l'éthylène-propylène ou le latex (ROGERS et *al.*, 1991). CHAMBERLAIN (1992) avait montré que des surfaces de propriétés physicochimiques initialement différentes deviennent similaires après adsorption de matières organiques.

I.7.4.1. Sources de carbone organique

Les sources de carbone organique sont essentielles pour la prolifération bactérienne, c'est un facteur primordial dans la maîtrise de la qualité microbiologique de l'eau dans le réseau, puisque la consommation de matière organique est généralement suivie d'un accroissement de la densité bactérienne présente au sein du biofilm (population sessile), tout comme dans l'eau circulante (population planctonique) (LITTLE et *al*., 1986).

La matière organique présente dans l'eau potable est constituée d'une fraction particulaire et d'une fraction dissoute. Cette dernière est composée des molécules organiques provenant de la décomposition d'organismes morts et/ou de végétaux, et de microorganismes, comme les bactéries (Sibille, 1998).

I.7.4.2. Sources d'azote

L'azote est utilisable par les microorganismes sous ses formes ammoniacale et organique.

L'azote ammoniacal n'est pas détecté dans l'eau d'alimentation traitée au point critique par le chlore afin d'éliminer toute trace d'ammoniac. L'azote organique y est détecté à des concentrations allant de 0,1 à 0,2 mg/l (DONLAN et PIPES, 1988 ; HAUDIDIER et *al.*, 1988). Les sources d'azote organique sont les acides aminés (10%), les protéines (10%), les chlorophylles (1%), et les substances humiques (40%) (LE CLOIREC et *al.*, 1983). Les bactéries hétérotrophes incorporent principalement les groupements aminés de ces composés organiques (R-NH2) sous forme ammoniacale après désamination (LECLERC, 1975).

I.7.4.3. Sources de phosphore

Le phosphore est incorporé dans les cellules bactériennes sous forme de phosphate inorganique (LECLERC, 1975). Le phosphate est présent dans l'eau sous forme insoluble et/ou organique. Les microorganismes (*Pseudomonas, Flavobacterium, Bacillus*) solubilisent les phosphates en sécrétant toutes sortes d'acides organiques ou produisent (*Bacillus*) des phosphatases pour libérer les phosphates inorganiques (FLORENTZ et *al.*, 1987). La concentration en P-phosphates varie dans les réseaux de 0,01 à 0,5 mg/l (VAN DER KOOIJ et *al.*, 1982 ; DONLAN et PIPES, 1988 ; HAUDIDIER et *al.*,1988). L'addition de phosphore à l'eau potable augmente fortement la croissance des bactéries hétérotrophes pour les eaux produites à partir d'eaux superficielles ou souterraines (CHANDY et *al.*, 2001).

I.7.5. Désinfection

AFNOR (1981) définit la désinfection en tant qu'opération, au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux microorganismes présents au moment de l'opération.

Le traitement de l'eau par un désinfectant a pour but de la rendre potable du point de vue bactériologique, il n'a jamais pour but de détruire tous les organismes vivants dans l'eau, mais plutôt de garantir l'absence de tout germe infectieux et de mettre hors risque de contamination un point d'eau ou un système de distribution ayant subi une pollution. Théoriquement, la gamme des moyens techniques pour réaliser cette opération est relativement étendue ; elle va des techniques chimiques utilisant des réactifs oxydants (chlore, brome, ozone) ou aux moyens physiques (rayonnement UV…).

Pratiquement, ce sont les procédés chimiques et plus particulièrement le chlore qui sont les plus utilisés car ce sont eux qui associent une sécurité satisfaisante et une plus grande efficacité de mise en œuvre (RODIER et *al.*, 1996).

Le groupe des dérivés chlorés (BORNERT, 1989 ; BOURION, 1995) se présente sous des formes très variées ; ce sont les désinfectants les plus communément utilisés dans les industries agroalimentaires, car ils présentent beaucoup d'avantages :

-Spectre d'activité étendu (bactéries Gram+ et Gram-, spores, nématodes, protozoaires, algues, virus et dans une moindre mesure levures et moisissures)

-Faible coût

-Efficacité accrue avec la température et efficacité à froid

-Bonne rinçabilité (peu moussant)

Les composés chlorés les plus connus sont :

-L'hypochlorite de sodium (eau de Javel)

-L'hypochlorite de calcium

-Les chloramines

- Les désinfectants chlorés granulaires et notamment les acides chlorocyanuriques

-Le dioxyde de chlore.

Les inconvénients de l'utilisation des dérivés chlorés en tant que désinfectants résident dans le fait que leur efficacité, qui reste fortement dépendante du pH, peut être atténuée par les souillures organiques. Ils sont très corrosifs et irritants, notamment aux pH inférieurs à 8,5, et présentent une mauvaise stabilité à chaud, à l'état dilué ou à la lumière dans le cas de l'hypochlorite). Ils peuvent en outre affecter les propriétés organoleptiques de l'eau.

La désinfection des eaux comporte deux critères importants, correspondant à deux effets différents d'un désinfectant donné :

-un effet bactéricide, qui correspond à la capacité à détruire les germes en une étape donnée du traitement,

-un effet rémanent, qui correspond au maintien du désinfectant dans le réseau de distribution. La rémanence d'un oxydant au sein du système de distribution permet de garantir la qualité bactériologique de l'eau au cours de la distribution. Il s'agit à la fois d'un effet bactériostatique contre les reviviscences bactériennes en réseau et d'un effet bactéricide contre des pollutions faibles et ponctuelles survenant dans le réseau. Ces deux effets doivent être pris en compte pour assurer la stabilité biologique le long du réseau. L'effet rémanent de l'oxydant sélectionne les désinfectants pouvant être utilisés en désinfection finale. Seuls le chlore, le dioxyde de chlore et les monochloramines présentent un effet rémanent et permettent ainsi d'assurer un résiduel de désinfectant en réseau, le traitement par l'ozone et l'irradiation UV ne présentant qu'un effet bactéricide.

RIZET et *al.* (1984) ainsi que MAUL et *al.* (1985) ont montré que la présence du chlore libre résiduel dans l'eau des réseaux de distribution diminue le nombre de bactéries libres cultivables. Cependant il existe des facteurs limitant l'action bactéricide du chlore :

-La tolérance de certaines bactéries au chlore : RIDGWAY et OLSON (1982) ont montré que les bactéries isolées des réseaux chlorés sont plus résistantes que les bactéries isolées des réseaux non chlorés. Cette adaptation est cependant limitée, car à des doses supérieures à 10 mg/l, seuls 0,5% des bactéries survivent et ceci quel que soit leur provenance. LECHEVALLIER et *al.* (1988) montrent qu'une souche de *Klebsiella pneumoniæ* cultivée

dans un milieu oligotrophe (1mg/l de glucose) est trois fois plus résistante au chlore libre que la même souche cultivée dans un milieu riche (10mg/l de glucose)

-Le genre ou l'espèce bactérienne: certaines bactéries présentent une ultime résistance à la désinfection, ainsi les *Actynomycètes* et les *Bacillus* présentent une résistance à des doses pouvant aller jusqu'à 10mg/l de chlore libre pendant deux minutes (RIDGWAY et OLSON, 1982). Des résultats similaires ont été obtenus pour certaines bactéries à Gram-comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobactérium*, et *Klebsiella*.

-La fixation des bactéries sur des particules en suspension ou sur les parois de canalisations : ainsi, LECHEVALLIER. (1994) montrent que les bactéries fixées sur des particules de charbon actif (provenant de l'usine d'eau d'alimentation) sont plus résistantes que les mêmes bactéries libres lorsqu'elles sont exposées pendant une heure à 2mg/l de chlore libre. HERSON et *al.* (1987) ont également montré que *Enterobacter cloacae* fixée sur le fer résiste à 0,8 mg/l de chlore libre pendant 1 heure. Par ailleurs, il a été également démontré que les bactéries fixées sur les parois des canalisations résistent à la désinfection par le chlore et que son action sur un biofilm déjà constitué est extrêmement faible, la matière organique sécrétée par ce biofilm pouvant empêcher son action bactéricide (PARENT et *al.*, 1996).

I.8. Danger microbiologique en réseau de distribution d'eau

La qualité de l'eau de distribution et par conséquent la santé humaine peuvent être affectées par la présence de microorganismes pathogènes, accidentellement introduits dans le réseau de distribution d'eau. Les principaux microorganismes à transmission hydrique sont les bactéries, Les bactéries couramment impliquées dans des contaminations liées à l'eau sont *Escherichia coli (E. coli*), *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* et *Yersina* (BORING et *al.*, 1971; EDEN et *al.*, 1977; MENTZING, 1981; TAYLOR et *al.*, 2000; CHEN et *al.*, 2001). Les parasites présentent comme particularité de comporter dans leur cycle de développement une forme infectieuse, appelée kyste ou oocyste, très résistante aux conditions environnementales et aux traitements de désinfection. Les parasites les plus couramment décrits lors d'épidémies liées à l'ingestion d'eau contaminée sont *Cryptosporidium*, *Giardia* et les amibes pathogènes telles qu'*Entamoeba histolytica*. Enfin, les virus entériques pathogènes impliqués sont essentiellement les virus des gastro-entérites (*rotavirus*, *norovirus*) et les virus des hépatites A et E. Dans le cadre de ce travail, seul le danger de contamination du système par des virus entériques sera développé. **(**CLARK et *al.*, 2003; HRUDEY et *al.*, 2003).

I.9. Origines possibles de la contamination des systèmes de distribution d'eau

L'eau potable est initialement captée dans un environnement naturel, puis traitée dans une usine de traitement, stockée dans des réservoirs, avant d'être acheminée jusqu'au robinet du consommateur. Une pollution accidentelle d'origine fécale peut être introduite à différents niveaux du système, lors de la collecte, de la production et de la distribution de l'eau.
L'objectif premier de ces réseaux était l'acheminement de l'eau vers les consommateurs, afin de répondre en quantité suffisante et en tout point du réseau à leur demande. La gestion de ces réseaux a longtemps consisté en la gestion de simples outils de transport d'eau et les aspects quantitatifs étaient privilégiés par rapport aux aspects qualitatifs, entraînant ainsi des surdimensionnements de réseaux. (PELLEÏEUX, 2013)

II.9.1.Contamination de la ressource en eau

Les ressources en eau utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation sont essentiellement de deux types, les eaux de surface (rivière, lac) et les eaux souterraines.
La qualité de la source en eau utilisée pour approvisionner le système joue un rôle important sur la filière de traitement mise en œuvre pour répondre aux exigences de qualité de l'eau distribuée. Ces ressources sont normalement protégées par un périmètre de sécurité visant à éviter le contact avec une éventuelle pollution microbiologique. Cependant, une contamination par une pollution fécale inhabituelle peut notamment survenir si ce périmètre est inexistant ou mal évalué, mais aussi en cas de crues, de contact accidentel avec des effluents de station d'épuration, des décharges de bassins de stabilisation d'eaux usées, des débordements de réseaux d'égout ou des fuites de fosses septiques (CURRIERO et *al.*, 2001; TILLAUT et *al.*, 2004).

I.9.2. Contamination microbiologique consécutive à une défaillance lors du traitement de potabilisation

Avant d'être distribuée l'eau destinée à la consommation subi des traitements afin que son utilisation ne présente aucun danger pour la santé. Dans la plupart des cas, une approche à barrières multiples est appliquée, incluant des traitements physiques tels que la coagulation, la floculation, la sédimentation, la filtration et des traitements par désinfection avec des oxydants. Ces procédés de traitement sont interdépendants et chaque étape aura un impact sur l'efficacité globale du traitement de potabilisation. Ces traitements appliqués dans les stations de potabilisation peuvent être momentanément inefficaces ou inadaptés notamment lors d'une

pollution ponctuelle de la ressource en eau à des concentrations supérieures aux valeurs habituelles. Une étude américaine reporte 25 épidémies liées à la consommation d'eau de distribution entre 2001 et 2002. Parmi ces épidémies, 10 seraient liées à une contamination d'eaux souterraines et 7 à une défaillance lors du traitement de potabilisation (BLACKBURN et *al*., 2004).

Une mauvaise hydraulique au niveau des décanteurs, des concentrations insuffisantes en coagulant, floculant, oxydant, ainsi qu'une filtration inadaptée peuvent être responsables de la présence de microorganismes dans l'eau distribuée (MAC KENZIE et *al.*, 1994).

Les indicateurs de pollution fécale déterminant les limites de qualité microbiologique de l'eau potable sont uniquement de nature bactérienne et doivent impérativement être absents dans 100 ml d'eau potable analysée. *E. coli* appartient aux coliformes thermotolérants c'est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux. Cette bactérie est l'indicateur de pollution fécale le plus utilisé et elle est considérée comme un indicateur certain de pollution fécale. Les entérocoques sont également des bactéries de la flore digestive de l'homme et des animaux. Ils sont plus résistants que les coliformes face à des conditions environnementales difficiles telles qu'un pH élevé ou une forte concentration en sel. (MANSOTTE et BEAUDEAU, 1999).

Les indicateurs microbiologiques utilisés par la législation française comme références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine sont essentiellement utilisés pour évaluer l'efficacité des traitements de potabilisation. En effet, les spores de *Clostridium perfringens* ont une résistance aux traitements de potabilisation qui s'approche de celle des microorganismes fécaux les plus résistants. De plus, de par leur taille, les spores sont considérées comme de bons indicateurs de l'efficacité des procédés de filtration en association avec les mesures de turbidité de l'eau. Les coliformes totaux sont utilisés comme témoins de l'efficacité de l'étape de désinfection (BEAUDEAU et *al.*, 1999).

I.9.3. Contamination résultant d'un accident sur le réseau de distribution d'eau

Les pollutions sur le réseau de distribution d'eau sont plus fréquentes que sur les stations de potabilisation, du fait de l'absence de moyen de détection et de barrières. La probabilité qu'elles conduisent à des effets de santé est deux à trois fois plus élevée que pour les pollutions survenant en amont. La contamination du réseau peut se produire par le biais de fissures au niveau des réservoirs d'eau potable, par des retours d'eau contaminée lors de ruptures de canalisations, en cas d'accidents associés aux opérations de réparation et d'entretien du réseau ou lors d'immersion du système suite à des inondations (DESHAYES et

SCHMITT, 2001). Une potentielle contamination extérieure peut entrer dans un réseau de distribution d'eau lorsque ce dernier est mis en dépression, par exemple à l'occasion de coupure d'eau ou lors de la remise en eau du système (WALSKI et LUTES, 1994; QAQISH et *al.*, 1995). KARIM et *al.* (2003) ont analysé 66 échantillons de sol et d'eau directement en contact avec des canalisations d'arrivée d'eau potable dans des toilettes publiques. L'objectif était de déterminer l'éventuelle présence de microorganismes pathogènes en contact avec les tuyaux. Plus de la moitié des échantillons contenaient des coliformes fécaux indiquant la présence d'une pollution fécale.

I.10. Conséquences du développement d'un biofilm dans les réseaux décrite par : (SERVAIS et *al.*, 1995 ; BLOCK et APPENZELLER, 2001 ; GAUTHIER, 2002; MATHIEU et *al.*, 2009; PELLEÏEUX, 2013).

Différents problèmes peuvent être directement reliés à la formation et au développement d'un biofilm sur les parois des canalisations d'adduction d'eau potable. Ces conséquences peuvent porter sur le réseau de distribution lui-même, ou sur la consommation de l'eau issue du réseau contaminé.

I.10.1. Conséquences de la présence d'un biofilm sur le réseau de distribution

Ces conséquences sont multiples et concernent aussi bien les populations bactériennes, que les caractéristiques physiques du réseau :

- les bactéries accumulées au niveau d'un biofilm constituent le premier maillon d'une chaîne alimentaire et ainsi favorisent le développement de macroorganismes,
- certains types bactériens peuvent induire, par leur présence ou leur activité métabolique, une augmentation de la turbidité, de la sapidité et de l'odeur de l'eau,
- certaines bactéries peuvent accélérer le phénomène de corrosion. Le terme de biocorrosion est alors utilisé,
- les capacités de distribution d'un réseau peuvent être diminuées par l'augmentation des forces de résistance, induites par la présence de biofilms, une augmentation du nombre de non-conformités par rapport aux critères microbiologiques de qualité de l'eau destinée à la consommation peut être observée au sein de réseaux abritant des biofilms (problème d'arrachement des biofilms). Le développement de bactéries nitrifiantes dans des zones d'anoxie, peut également entraîner des non-conformités, avec dépassement de la norme pour les nitrites.

I.10.2. Conséquences du développement de biofilm pour les consommateurs

L'entrée à flux constant de biomasse au sein des systèmes de distribution d'eau potable et sa prolifération au sein des réseaux posent une problématique du point de vue de la santé publique. En effet, le système est constamment ensemencé par des germes dont la plupart sont inconnus (pathogènes opportunistes). De plus, les conditions régnant au sein des réseaux de distribution peuvent permettre le maintien ou la croissance de coliformes, et ainsi entraîner le non-respect des critères de potabilité. Une fraction des microorganismes peut également représenter un risque potentiel pour les consommateurs, et ainsi, augmenter la fréquence de symptômes gastro-entériques (diarrhées, vomissement). Des travaux épidémiologiques ont montré que le taux moyen d'incidents à tropisme gastro-intestinal était de 0,1 par personne et par an, dans le cas d'une population générale, pour la consommation d'une eau respectant les critères de potabilité

(Block et *al*., 2001). Pour des groupes d'enfants, population plus sensible, des valeurs plus élevées d'environ 4 troubles digestifs par personne et par an et un épisode diarrhéique par personne et par an, ont été mis en évidence.

Toutefois, ces troubles ne sont pas identifiés par le système médical et ne sont révélés que par la réalisation d'études épidémiologiques spécifiques.

La limitation de l'instabilité biologique des systèmes de distribution d'eau potable, et de la prolifération des microorganismes au niveau des biofilms relève d'un intérêt certain, aussi bien pour les utilisateurs, que pour les distributeurs, soulignant la nécessité d'une maîtrise de la qualité microbiologique des eaux au cours de leur distribution.

CHAPITRE II
Matériel et méthodes

« Nous buvons 90% de nos maladies. Une catastrophe…Désormais, c'est l'eau elle-même qu'il va falloir laver »

Louis Pasteur (fin du XIXe siècle)

II.1. Présentation de la zone d'étude

La cuvette d'Ouargla est située au Sud-Est du pays à environ 800 km au Sud-Est d'Alger. Elle s'étend sur environ 30 km de long et 12 à 18 km de large, à une altitude variant de 103 à 150 m. Elle se caractérise par un climat Saharien, avec une pluviométrie très réduite, des températures élevées et une forte évaporation. La température moyenne annuelle est de 23,74°C. Les mois les plus chauds de la cuvette de Ouargla, sont Juin et Juillet avec des températures moyennes mensuelles respectivement de 32,50°C et 35,40°C. Les basses températures sont enregistrées en Janvier (09,70°C à 10,80°C) (DPAT, 2006).

Les précipitations sont rares et irrégulières, et varient entre 1 mm et 180 mm par année exceptionnelle. Les sols d'Ouargla se caractérisent par une texture sablonneuse, une structure particulière, à pH alcalin avec une très forte salinité.

L'eau souterraine constitue la principale source d'eau dans cette région d'Ouargla. Elle se dispose d`un potentiel hydrique très important constitué de trois grands ensembles aquifères qui va du haut vers le bas, donnant ainsi des ressources en eaux souterraines, et des ressources en eaux superficielles. La nappe du quaternaire ou nappe phréatique est dite aussi nappe libre. Cette nappe est contenue dans les sables alluviaux de la vallée, en se localisant principalement dans la vallée d'Oued Righ et dans la cuvette. Cette nappe n`est pas exploitée à cause de sa grande salinité qui dépasse les 15 g/l. En outre, elle est polluée, car elle se mélange aux eaux urbaines et aux eaux de drainage de la palmeraie (ONA, 2003).

L'ensemble aquifère du Complexe Terminal (CT), comprend trois aquifères différents qui de haut en bas, sont le Mio-pliocène, le Sénonien et le Turonien (ONA, 2003). L'exploitation de la nappe du Mio-pliocène par le creusement de nombreux puits artésiens, date de 1883. Sa salinité varie de 2 à 7 g/l. Elle est utilisée surtout pour l`irrigation (AMMOUR et TOUIL, 2007).

La nappe artésienne du Sénonien est exploitée dans les calcaires entre 140 et 200 m de profondeur. Le résidu sec varie entre 1,8 et 3,6 g/l. Elle est surtout utilisée dans l`alimentation en eau potable (ONA, 2003).

Un ensemble aquifère du Complexe Intercalaire (continental intercalaire), contient la nappe de l`Albien, et considéré parmi les plus grands réservoirs souterrains d`Afrique, couvrant une superficie de 800.000 km². Sa température varie de 30 à 70°C, son résidu sec est de l`ordre de 2 g/l. Elle est essentiellement utilisée pour l`alimentation en eau potable et l`excès sert à l`irrigation (ONA, 2003).

II.2. Détermination des caractéristiques d'eau distribuée dans la région

II.2.1. Sites de prélèvements

La cuvette d'Ouargla (Algérie), (Figure 4) renferme d'importantes réserves d'eaux.

Celles-ci sont issues de deux grands systèmes aquifères connus au Sahara Algérien. Le Complexe Terminal (CT) qui regroupe les nappes Miopliocène et Sénonienne et le Continental Intercalaire (CI) est représenté par la nappe Albienne.

Ces nappes se différencient par plusieurs paramètres tels que la profondeur, la température, la salinité et la dureté de leurs eaux.

Pour l'étude des caractéristiques physico-chimiques et la qualité microbiologique des eaux potables alimentant la région de Ouargla, notre échantillonnage a porté sur onze (11) forages. Ces derniers sont répartis de la façon suivante :

-Trois forages de la nappe Albienne : Elhdeb I, Elhdeb II et Elhdeb III

-Quatre forages de la nappe Sénonienne : Sidi khouiledI,Ain Hadji, Abattoir et Ain Rahma

-Quatre forages de la nappe Moi-pliocène : Bor el haicha, Hassi Miloud, Bamendil 3 et Bahmid.

Afin de déterminer l'influence du réseau de distribution sur la qualité de l'eau consommée, pour chaque nappe un forage a été choisi (Elhdeb I, Sidi khouiled I, Bor el haicha) nous avons prélevé des échantillons à partir du foyer qui s'alimentent de chaque forage. De telle façon que pour chaque forage d'une nappe donnée nous avons échantillonné trois (03) foyers qui se différencient par la nature du matériau de leurs conduites de distribution (PVC, Cuivre et PEHD).

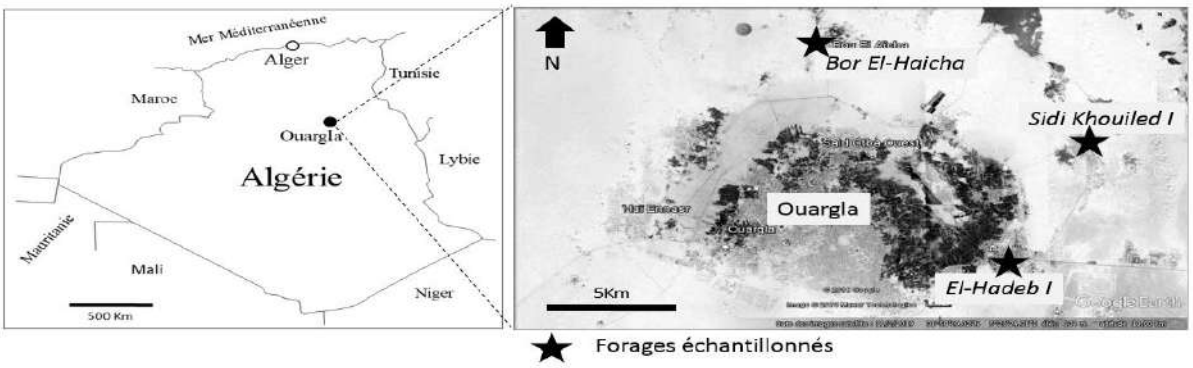


Figure 4. Carte géographique de l'Algérie. Site d'étude : Région de Ouargla dans le sud-est algérien.

Ces forages sont choisis en fonction de leurs exploitations et leurs caractéristiques (tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques des forages échantillonnés.

Forages	La nappe captée	Mises en service	Profondeur(m)	Débit (m^3/h)
El Hadeb I	Albienne	1974	1335	286
Forage Sidi Khouiled I	Sénonienne	1990	185	110
Bor-Elhaicha	Miopliocène	1986	30	40

II.2.2. Echantillonnage

II.2.2.1. Techniques d'échantillonnage

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté. Il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physicochimiques de l'eau (RODIER et *al*., 2005). Le matériel de prélèvement doit faire l'objet d'une attention particulière. L'emploi de flacons neufs en verre borosilicaté de préférence bouchés émeri ou le cas échéant avec des bouchons en polyéthylène ou en téflon maintenus pendant 1 heure dans l'eau distillée puis séchés. Pour les analyses microbiologiques, les flacons utilisés doivent assurer une fois bouchés, une protection totale contre toute contamination. Il est conseillé d'utiliser des flacons en verre de 250, 500, 1000 ml. Avant l'usage, les flacons doivent être soigneusement lavés, puis rincés à l'eau distillée, car il ne doit rester aucune trace d'un éventuel détergent ou antiseptique. Les flacons en verre seront stérilisés par la chaleur, soit à l'autoclave à 120°C pendant 1 heure, soit au four Pasteur à 180°C pendant 1 h 30 (LARPENT, 1997). En présence d'une eau traitée par un oxydant, il faut ajouter avant stérilisation 5 gouttes d'une solution de thiosulfate de sodium à 10% (RODIER et *al*., 2005). Pour la présente étude, des flacons de 500 ml en verre sont utilisés.

Suivant l'origine de l'eau le mode de prélèvement varie. Dans le cas d'un robinet, il sera indispensable de faire couler l'eau pendant un certain temps qui ne sera jamais inférieur à 10 mn (RODIER et *al*., 2005).

Durant les prélèvements, les flacons sont rincés trois fois avec de l'eau à analyser puis remplis jusqu'au bord. Le bouchon est placé de telle manière à ce qu'il n'y ait aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. Les prélèvements s'effectuent dans les meilleures conditions de stérilisation. Pour procéder aux prélèvements, il y a lieu de suivre les étapes suivantes :

- Se laver très soigneusement les mains et les avant-bras, les rincer à l'alcool et les laisser sécher ;
- Flamber le robinet pendant au moins 1 minute en utilisant par exemple une lampe à souder portative au gaz butane ou une tige en fer enrobée de coton imbibé d'alcool ;
- Ouvrir le robinet et laisser couler 10 minutes avant de faire le prélèvement, tout en gardant la flamme allumée à côté du robinet (RODIER et *al.*, 2005).

II.2.2.2. Transport et conservation au laboratoire

Afin d'éviter que la teneur initiale en germes des eaux ne risque de subir des modifications dans le flacon, toutes les analyses sont effectuées le plus rapidement possible.
L'évolution est difficile à prévoir et dépend de nombreux facteurs : température, concurrence bactérienne des espèces présentes, composition chimique de l'eau. A cet effet, la circulaire du 21 janvier 1960, relative aux méthodes d'analyses bactériologiques des eaux d'alimentation spécifie que «si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10°C, les prélèvements seront transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C. Même dans de telles conditions, l'analyse bactériologique doit débuter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon. Si exceptionnellement l'analyse doit être reportée, il faut entreposer les échantillons à 4 °C (RODIER et *al*., 2005).

II.2.3. Techniques d'analyses

La périodicité des analyses sera fonction du débit journalier prélevé au niveau des ouvrages et installations de productions destinés à l'alimentation en eau potable, mais aussi du volume journalier fourni par le réseau de distribution d'eau (JORA, 2009) ; de la population desservie (plus celle-ci sera grande, plus la fréquence d'analyses sera accrue) ; de la qualité de l'eau, en particulier si celle-ci est soumise à des pollutions permanentes ou occasionnelles. Elle dépendra du choix des paramètres analytiques représentatifs de la pollution générale comme l'oxygène dissous, les matières en suspension, les germes de pollution fécale, etc., ou d'une pollution particulière liée à des rejets (métaux toxiques, matières organiques, etc.) (RODIER et *al*., 2005).

II.2.3.1. Analyses physico-chimiques

L'analyse physico-chimique nous renseigne non seulement sur la qualité proprement dite, mais permet aussi de suivre l'évolution de la qualité dans le temps ainsi que la détection d'éventuelle contamination de l'eau. (TERKMANI, 2009). Les procédures d'analyses physico-chimiques utilisées sont déduites des méthodes standards et classiques.

II.2.3.1. 1. Dosage du chlore libre

Le chlore réagit instantanément avec la DPD (N, N-Diéthylphénylène-,4 diamine) en absence d'ions iodure dans le milieu réactionnel. La DPD sert d'indicateur redox, coloré en rose en milieu oxydant et incolore en milieu réducteur à un pH compris entre 6,2 et 6,5 (FIGARELLA et LEYRAL, 2002).

II.2.3.1.2. Analyses physiques

a. Mesure de la température

La température de l'eau est un paramètre de confort pour les usagers. Elle permet également de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs lui sont liées (conductivité notamment). De plus, en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu, il est possible d'obtenir des indications sur l'origine et l'écoulement de l'eau. La température doit être mesurée *in situ* (FRENCH ACF).

b. Détermination du pH

Le pH est mesuré directement à l'aide d'une électrode de pH combinée. Il consiste à tremper l'électrode dans le bêcher de l'échantillon, laisser stabiliser un moment, puis noter le pH (RODIER et *al*., 2005).

c. Mesure de la conductivité

Pour la détermination de la conductivité, nous avons utilisé un conductivimètre multiéléments. Elle est déterminée après rinçage plusieurs fois de l'électrode, d'abord avec de l'eau distillée puis en la plongeant dans un récipient contenant de l'eau à examiner ; faire la mesure en prenant soin que l'électrode soit à complètement immergée. Le résultat de conductivité est donné directement en µS/cm.

Le résultat de la salinité et du taux de sels dissous (TDS) sont donnés respectivement en ‰ et en mg/l (RODIER et *al.,* 2005).La mesure de ce paramètre nous permis d'évaluer rapidement la minéralisation globale et d'en suivre l'évolution, car il existe une relation entre la teneur des sels dissous d'une eau et sa conductivité.

d. Mesure de la turbidité

Elle se détermine à l'aide d'un turbidimètre HACH 2100N. Après remplissage de la cuvette de mesure propre et bien essuyée au papier hygiénique contenant l'échantillon à analyser, bien homogénéisé, il s'effectue rapidement la mesure. Il est nécessaire de vérifier l'absence de bulle d'air avant la mesure. La mesure est obtenue directement en NTU (RODIER et *al*., 2005).

e. Détermination du résidu sec

La détermination des résidus permet d'estimer la teneur en matières dissoutes et en suspension d'une eau. Elle consiste à prélever 100 ml d'eau à analyser dans une fiole jaugée et la déverser dans la capsule. Cette dernière est placée à l'étuve à 105°C pendant 24 heures, puis laissée refroidir pendant ¼ d'heure au dessiccateur, et peser immédiatement. Les résultats sont donnés en mg/l suivant l'expression (RODIER et *al* ., 2005):

$$RS = (PP - PV)\ 10 \times 1000$$

PP : Poids plein de la capsule

PV : Poids à vide de la capsule

f. Détermination des matières en suspension

Les matières en suspension sont déterminées par pesée différentielle suivant la formule de RODIER et *al.* (2005), après vaporisation de l'échantillon à une température de 150°C pendant 2 heures.

$$MES\ (mg/l) = Pp\text{-}Pv \times 100000/100 = (Pp\text{-}Pv) \times 10000$$

Pp : Poids plein du filtre

Pv : Poids vide du filtre.

II.2.3.1.3. Paramètres de pollution

- **Dosage de l'azote ammoniacal (NH_4^+)**

La détermination de l'azote ammoniacal ($NH4^+$) est obtenue par méthode colorimétrique à environ 655 nm du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium (ISO 5664,1990).

- **Dosage des nitrites (NO_2^-)**

Les nitrites (NO_2^-) sont dosés suivant la méthode colorimétrique. Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoîque qui, après couplation avec le N1 Naphtyléthylène diaminedichloride donne une coloration rose mesurée à 543 nm (ISO 6777, 1994).

- **Détermination des phosphates (PO_4^{-3})**

La détermination des phosphates (PO_4^{-3}) se fait par méthode colorimétrique (Spectrophotomètre UV-visible), après formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium, puis réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption l'une vers 700 nm, l'autre plus importante à 880 nm (ISO 6878/1, 1994).

II.2.3.1.4. la minéralisation

- **Détermination du taux de calcium (Ca^{2+}) et du magnésium (Mg^{2+})**

Le titrage molaire des ions calcium et magnésium se fait à l'aide d'une solution de sel disodique de l'acide éthylène-diamine-tétra acétique (EDTA) à pH10. Le noir érichrome T, qui donne une couleur rouge foncé ou violette en présence des ions calcium et magnésium, est utilisé comme indicateur. La détermination de la quantité de calcium est donnée par la formule suivante (RODIER et *al*., 2005):

$$Ca^{2+}\ (mg/l) = V_1 \times 0.01 \times F \times 40.08 \times 1000/50$$

Donc

$$Ca^{2+}\ (mg/l) = V_1 \times F \times 8.016$$

V_1 : Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée

C : Concentration molaire d'EDTA (0,01 M/l)

M_{Ca}^{2+} : Masse molaire du calcium en g

PE : Prise d'essai (volume de l'échantillon nécessaire pour ce dosage)

F : Facteur de dilution

La détermination de la quantité en magnésium est donnée par la formule suivante :

$$Mg^{2+} (mg/l) = (V_2-V_1) \times C_{EDTA} \times F \times M_{Mg}^{2+} \times 1000/PE$$

D'où :

V_2 : Volume total d'EDTA

V_1 : Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée

C : Concentration molaire d'EDTA (0,01 M/l)

M_{Mg}^{2+} : Masse molaire du Magnésium en g

PE : Prise d'essai (volume de l'échantillon nécessaire pour ce dosage)

F : Facteur de dilution

$$Mg^{2+} (mg/l) = (V_2-V_1) \times 0.01 \times F \times 24.3 \times 1000/50$$

Donc

$$Mg^{2+} (mg/l) = (V_2-V_1) \times F \times 4.86 \text{ (ISO 6059, 1989)}$$

- **Dureté totale (TH)** :

La méthode adoptée est celle de (ISO 6059, 1989) selon les étapes suivantes :

-Mesurer 50ml de l'échantillon avec une dilution de 5 ;

-Ajouter 2ml de la solution tompon (base forte) ;

-Ajouter 03gouttes de noire erichrome ;

-Titrer avec l'EDTA 0.01 (acide faible) jusqu'à le virage de la couleur du rose au bleu.

-Le résultat est obtenu par la formule suivante :

$$[TH] (mg/l) = V_1 \times 0.01 \times F \times 40.08 \times 1000/50$$

V_1 : Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée

F : Facteur de dilution

- **Dosage du sodium et du potassium**

La photométrie de la flamme est un des procédés les plus rapides et sensibles, d'analyse du sodium et du potassium sous forme de sels. L'analyse se fait en partant de leurs solutions. Il est utilisé pour la présente mesure l'appareil Dr LANGE (JENWAY). Les résultats sont donnés directement en mg/l (ISO 9964/3,1990).

- **Détermination des chlorures (Cl^-)**

Les ions chlorure réagissent avec les ions argent pour former du chlorure d'argent insoluble précipitant quantitativement. Durant le titrage, le pH est maintenu entre 5 et 9.5, afin de permettre la précipitation. L'expression des résultats est donnée par (LADJEL, 2009):

$$Cl^- (mg/l) = VAgNO_3 \times NAgNO_3 \times MCl/PE = VAgNO_3 \times 0.01 \times F \times 1000/5$$

$$Cl^- (mg/l) = VAgNO_3 \times 71 \times F$$

$VAgNO_3$: Volume d'$AgNO_3$ nécessaire pour le dosage de l'échantillon

$NAgNO_3$: Normalité d'AgNO3

MCl^- : Masse des chlorures

F : Facteur de correction du titre d'Ag NO_3

PE : Prise d'essai

$$F = 1/ VAg\ NO_3$$

- **Détermination des Sulfates (SO_4^{2-})**

Les sulfates sont dosés par spectrophotométrie UV visible à 420 nm, après que les ions sulfates sont précipités et passés à l'état de sulfate de baryum, en présence de $BaCl_2$.

L'expression des résultats est donnée par :

SO_4^{2-}(mg/l) = Valeur lue × facteur de la dilution (LADJEL, 2009)

- **Titre alcalin complet (TAC) et Bicarbonate (HCO_3^-)**

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence de bicarbonates, de carbonates et d'hydroxydes. La détermination des volumes successifs d'acide fort en solution diluée nécessaire pour neutraliser, aux pH 8.3 et 4.3, le volume d'eau à analyser. La première détermination sert à calculer le titre alcalimétrique (TA), la seconde à calculer le titre alcalimétrique complet (TAC) (RODIER et *al.*, 2005) :

$$F.G = V_A \times N_A \times MHCO_3^- \times 1000/PE = V_A \times 0,1 \times 61 \times 1000/100$$

$$F.S : V_{A1} \times 61 = HCO_3^-$$

VA : Volume d'acide versé

NA : normalité d'acide versé

$MHCO_3^-$: Masse des bicarbonates (HCO_3^-)

PE : Prise d'essai

F.G : Formule générale

F.S : Formule spécifique

La concentration de HCO_3^- = TAC×1.22

- **Minéralisation globale :** il existe une relation entre la teneur des sels dissous d'une eau et sa conductivité. La minéralisation, exprimée en mg/l, est obtenue par la formule suivante :

Minéralisation globale (mg/l)= 0.759×conductivité (µs/cm)

Pour une conductivité comprise entre 833 et 10000 (ce qui est notre cas), le coefficient est de 0.759 (RODIER et *al.*, 2005).

II.2.3.2. Analyses Bactériologiques

La population de la ville de Ouargla s'alimente à partir des eaux souterraines, provenant de la couche aquifère généralement exempte de micro-organismes pathogènes (SAMAKE, 2002). Les eaux souterraines ont pendant longtemps été synonymes d'eau propre. C'est-à-dire répondant naturellement aux normes de potabilité. Cela est malheureusement inexact dans l'absolu (BOEGLIN, 2000). Cependant, la zone de captage est protégée par une réglementation publiée au Journal Officiel de la République Algérienne n° 60 du 30 Rajab 1426 correspond au 4 Septembre 2005. Toutefois, la dégradation de la qualité de l'eau peut survenir à tout moment entre le lieu de production et le robinet de l'utilisateur. Elle peut être liée à une prolifération de micro-organismes naturellement présents dans l'eau, voir à une contamination des réservoirs, des canalisations publiques ou des réseaux intérieurs de distribution des bâtiments (SQUINAZI, 2006). Les précautions doivent être prises pour éviter une contamination secondaire de l'eau dans le réseau de distribution (SAMAKE, 2002).

Pour mettre en évidence l'influence des canalisations sur le changement de la qualité physicochimique et/ou bactériologique et suivre l'évolution de sa qualité, et/ ou le développement des germes pathogènes dans ces eaux, des analyses bactériologique s'avèrent indispensables.

II.2.3.2.1. Recherche des germes indicateurs de contamination fécale

- **Dénombrement des germes totaux**

La recherche et le dénombrement des germes revivifiables se réalisent à deux températures différentes afin de cibler les micro-organismes psychrophiles (22°C) et les microorganismes mésophiles (37°C). Le milieu de culture est de la gélose glucosée tryptonée à l'extrait de levure (TGEA) fondue puis refroidie à 45±2°C. Les dilutions décimales vont de 10-1 à 10-3,

en double dans des boites de Pétri. Après ensemencement les boites sont partagées en deux séries distinctes :

- La première série est incubée à 22±2°C pendant 68±4 heures,
- La seconde série est incubée à 36±2°C, pendant 44±4 heures.

Le calcul ensuite de la valeur du nombre (N), de microorganismes revivifiables à 22±2°C, et celle du nombre (N) de microorganismes revivifiables à 36±2°C à part, en tant que moyenne pondérée, sera fait suivant l'équation :

$N = \sum c / 1,1 \times d$

$\sum c$: Somme des colonies dénombrées sur deux boites de dilutions successives retenues

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution

Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 22°C et à 37°C par ml d'eau est exprimé par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10 (LEBRES et MOUFFOK, 2008). Si les boites ensemencées, contiennent plus de 300 colonies, les résultats sont exprimés 3.10^2 (ISO 6222, 1990).

- **Recherche et dénombrement des coliformes (Colimétrie)**

Les coliformes sont considérés comme indice de contamination fécale. La recherche et le dénombrement des coliformes se fait selon la méthode en filtration sur membrane à 0,45µ en milieu solide (LEBRES et MOUFFOK, 2008). La colimétrie par filtration est une méthode rapide, simple, normalisée nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration. Pour la recherche des bactéries coliformes par filtration sur membrane, il faut au préalable un essai standard; qui débute par une stérilisation de l'entonnoir gradué en acier inoxydable ainsi que la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen, les refroidir tout de suite après, avec l'eau à analyser ou avec de l'eau distillée stérile. Mettre en place de façon aseptique, une membrane de porosité minimale de 0,45 µ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile. Fixer ce dispositif avec la pince correspondante. Déposer ensuite aseptiquement 100 d'eau à analyser, devant un bec bunsen. Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane. Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, sur la surface d'une plaque de gélose tergitol au chlorure de 2,3,5-triphényltetrazolium (TTC) et heptadécylsulfate de sodium (Tergitol 7) préalablement préparée. Cette dernière sera incubée couvercle en bas à 36±2°C pendant 21±3 heures voire 44±4 heures et servira à la recherche des bactéries coliformes, suivie de l'identification biochimique des *Escherichia coli*.

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

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

Pour les tests à l'oxydase, il faut effectuer tout d'abord un repiquage sur gélose tryptonée au soja (TSA) à la caséine de 5 à 10 colonies, à incuber à 36±2°C pendant 21±2 heures, puis 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.

Pour le test à l'indole, il faut transférer chaque colonie caractéristique séparément (5 à 10) dans un tube contenant 3 ml de bouillon au tryptophane. Bien triturer la colonie dans le milieu puis incuber ce dernier à 44±0,5°C pendant 21±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. Est considérée comme colonie de coliformes, toute colonie caractéristique (jaune), dépourvue de l'enzyme oxydase et non productrice d'indole. Et est considérée comme bactérie d'espèce *Escherichia coli,* toute colonie caractéristique (rouge), dépourvue de l'enzyme oxydase, mais productrice d'indole à 44°C. Calculer ensuite la valeur a du nombre de bactéries coliformes lactose positives et des *Escherichia coli.* Le résultat final sera exprimé selon l'équation mathématique suivante :

$$a = b/ A C$$

Où :

b : nombre de colonies caractéristiques présumées dans la boite

A : nombre de colonies repiquées

C : nombre total de colonies trouvées dans la boite

Un essai rapide pour un deuxième test dit test rapide peut être effectué parallèlement à l'essai standard et dans les mêmes conditions. Il consiste à filtrer une seconde fois 100 ml d'eau à analyser, devant un bec bunsen à travers une seconde membrane qui sera placée dans un premier temps sur une plaque de gélose tryptonée au soja (TSA) à la caséine à incuber couvercle en bas d'abord à 36±2°C pendant 4 à 5 heures puis transférer la membrane sur gélose tryptonée contenant des sels biliaires (TBA) à incuber à 44±0,5°C pendant 19 à 20 heures. Cette méthode sert à la recherche sélective des *Escherichia coli.*

Après la période d'incubation spécifiée, transférer la membrane sur un papier filtre imbibé de réactif de Kovacs puis l'irradier sous une lampe UV pendant 10 à 30 minutes. Seront considérés comme des *Escherichia coli*, les colonies qui prennent une coloration rouge : à dénombrer. Le nombre d'*Escherichia coli* sera rapporté à 100 ml d'eau à analyser.

- **Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux**

La méthode de recherche se fait selon la méthode de LEBRES et MOUFFOK (2008), qui est la streptométrie par filtration. Tout comme la colimétrie par filtration, c'est aussi une méthode rapide, simple, et normalisée. Elle nécessite la disponibilité d'une rampe de filtration.
Tout d'abord, il faudrait stériliser un entonnoir à l'aide d'un bec bunsen. Le refroidir soit avec de l'eau distillée stérile. Mettre en place de façon aseptique une membrane de 0,45 µ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile. Fixer ce dernier avec la pince correspondante. Remplir de façon aseptique l'entonnoir avec 100 ml d'eau à analyser. Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane. Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boite de Pétri de 45 mm de diamètre contenant de la gélose SLANETZ et BARTLEY. Cette membrane sera incubée à 36±2°C pendant 44±4 heures. Après incubation, les streptocoques fécaux apparaissent sous forme de petites colonies rouges, marron ou roses, lisses, légèrement bombées. Transférer aseptiquement la membrane du milieu SLANETZ et BARTLEY sur une plaque de gélose bile esculine azoture (BEA) préchauffée préalablement à 44°C. Cette dernière sera incubée à son tour à 44±0.5°C pendant 2 heures. Les colonies caractéristiques prennent une coloration noire traduisant ainsi l'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu. Le nombre de colonies trouvées sera exprimé dans 100 ml d'eau à analyser.

- **Recherche et dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs**

Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries à GRAM+.
Elles se développent entre 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne. L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 à 48 heures. La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse sera à

refaire en utilisant des dilutions décimales de 10^{-1} voire 10^{-2}, la deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures. Il faut dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse. Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à la quantité de prise d'eau à analyser (LEBRES et MOUFFOK, 2008).

- **Recherche de *Salmonella***

La recherche de Salmonella par méthode en milieu liquide, passe par un enrichissement du milieu. Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu de Sélénite-Cysteïné D/C réparti à raison de 100 ml par flacon, qui sont ensemencé à l'aide de 100 ml d'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures. Ce flacon fera l'objet d'un deuxième enrichissement sur milieu Sélénite en tubes à raison de 0,1 ml, et d'un isolement sur gélose Hektoen. L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 heures. Pour la lecture des boites et l'identification, d'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un isolement, et d'autre part, la boite de gélose Hektoen subira une lecture en tenant compte du fait que les Salmonella se présentent le plus souvent sous forme de colonies de couleur gris bleu à centre noir.

L'identification morphologique et biochimique, se déroulent comme suit (LADJEL, 2009):

- Etat frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Ensemencement d'un tube de Kligler (TSI) qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H_2S),
- Ensemencement d'un tube de gélose nutritive inclinée qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures qui servira à l'agglutination sur lame,
- Ensemencement dans une galerie biochimique classique (ONPG, Oxydase, LDC, ODC, ADH, Témoin, Urée, Indole, TDA, VP, RM …).

L'identification antigénique, repose sur l'agglutination sur lame de verre, à partir des mêmes colonies isolées la veille sur GN inclinée en tubes, à l'aide des sérums de groupes d'abord OMA, OMB puis les autres après (LADJEL, 2009).

- **Recherche du Vibrion cholérique**

Pour la recherche du Vibrion cholérique, il est utilisé la méthode en milieu liquide.

L'ensemencement débute par un enrichissement primaire s'effectuant, sur le milieu eau peptonée alcaline 10 fois contenant au préalable 50 ml de milieu, auquel on ajoute

aseptiquement 450 ml d'eau à analyser au moment du prélèvement. Le tout est incubé à 36±2°C pendant 20±4 heures.

Pour l'enrichissement secondaire et isolement, après incubation, le flacon constituant l'enrichissement primaire fera l'objet d'une part, d'un enrichissement secondaire sur milieu EPA en tubes auquel il est ajouté 1 ml par tube, d'autre part, d'un isolement sur gélose GNAB1. L'incubation se fait à 36±2°C pendant 20±4 heures. Pour la lecture des boites et l'identification, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB 2 qui sera incubé à 36±2°C pendant 20±4 heures, et la boite de gélose GNAB 1 subira une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses, transparentes et très caractéristiques. Cinq colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique basée essentiellement sur :

- Etat frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Oxydase (+),
- Ensemencement d'un tube de KIA qui sera incubé à 37°C, 24 h (Saccharose, Glucose, Gaz et H_2S),
- Ensemencement d'un tube de gélose nutritive inclinée qui sera incubé à 36±2°C pendant 20±4 heures et servira à l'agglutination sur lame. Si l'agglutination avec l'eau physiologique est négative et positive au sérum polyvalent O_1 (antigène de la paroi), répondre : Vibrion cholérique (LADJEL, 2009).

II.2.4. Exploitation des résultats

Les méthodes statistiques utilisées pour la présente étude :

II.2.4.1. Analyse de la variance (ANOVA) : Méthode de comparaison de plusieurs moyennes (Nappes), utilisée pour vérifier si les moyennes des groupes provenant d'une même population, permet d'étudier le comportement d'une variable quantitative à expliquer en fonction d'une ou de plusieurs variables qualitatives.

II.2.4.2. Test sur échantillon unique : Utilisée pour comparer la moyenne d'un échantillon (foyers) à une moyenne standard connue (forage). Elle permet de tirer des conclusions sur l'indication de l'effet des différents types des matériaux sur le changement de la qualité des eaux.

II.3. Caractérisation des biofilms du réseau de distribution d'eau potable

II.3.1. Dispositif expérimental d'étude des biofilms *in situ*

Afin d'étudier la formation du biofilm dans les conduits des eaux potables, un dispositif expérimental a été conçu par notre équipe. Il permet de raccorder à la tête de chaque forage sélectionné trois types de conduits ; **C**uivre **(C)**, **P**oly **C**hlorure de **V**inyle (PVC) et **P**oly **É**thylène **H**aute **D**ensité (PEHD). Le système ainsi réalisé se caractérise par un écoulement continu dans un circuit fermé (Figure 5). Les prélèvements du biofilm, ont été réalisés en deux étapes, après six (06) et douze (12) mois de suivi. Des coupes au niveau de ces trois conduits ont été réalisées stérilement à proximité d'un bec bunsen, entreposées dans des boîtes stériles et conservées à 4°C.

Afin d'étudier des échantillons âgés plus de (20) vingt ans et d'avoir une idée sur d'autres facteurs influençant la formation du biofilm, des prélèvements ont été effectués de la même manière directement sur des conduits des foyers sélectionnés, en fin de chaine de distribution, alimentant en eau potable des maisons.

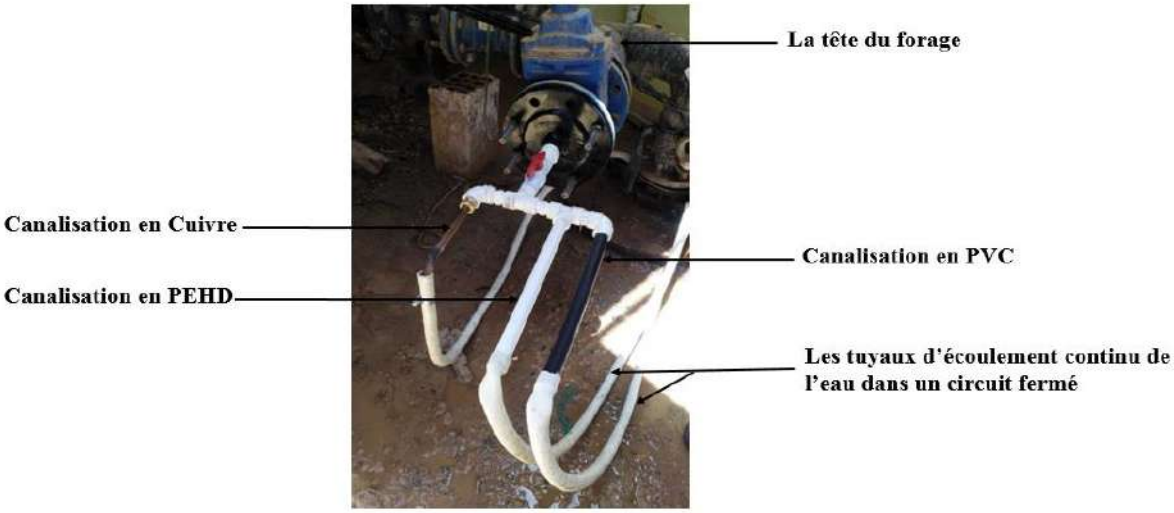


Figure 5. Dispositif expérimental d'étude des biofilms en conditions naturelles. Ce système a été installé par notre équipe au niveau des différents sites de forages alimentant la région de Ouargla (Algérie) : ici l'exemple de forage Bor-Elhaicha (la nappe Miopliocène).

II.3.2. Prélèvement mécanique des biofilms

La technique de prélèvement mécanique des biofilms formés par grattage a été adoptée pour la réalisation de cette étude. Stérilement, la surface interne des dispositifs de canalisation a été grattée à l'aide d'une spatule, dans le sens de la longueur. Par la suite, les échantillons ont été déposés dans des flacons contenant de l'eau puis vortexés vigoureusement pendant 15 secondes **(**Maule et *al.* 1999 ; Walker et *al.* 1993; Rogers et *al.* 1994a; Barranguet et *al.* 2003**)**.

Dix échantillons ont été obtenus et repartis en trois lots en fonction des différentes nappes **(S** = Sénonienne, **M** = **M**iopliocèneet **A** = **A**lbienne), selon l'âge (**6M** ,**12M** et **20A** âgé respectivement de **six** et, **douze Mois** plus de **vingt Ans**) et selon le type de matériau (**C** = **C**uivre, **PV**C = **PV**, **PE**HD= **PE**). Voir tableau 2.

Tableau 2. Echantillons de biofilms étudiés en fonction de la nappe, de l'âge et de matériaux.

Age	Les nappes								
	Albienne			Sénonienne			Miopliocène		
	Matériaux								
	Cuivre	PVC	PEHD	Cuivre	PVC	PEHD	Cuivre	PVC	PEHD
6 mois	AC6M	APV6M	APE6M	SC6M	SPV6M	SPE6M	MC6M	MPV6M	MPE6M
12mois	AC12M	APV12 M	APE12M	SC12M	SAPV12M	SPE12M	MC12M	MPV12M	MPE12M
20 ans	AC20A	APV20A	APE20A	SC20A	SPV20A	SPE20A	MC20A	MPV20A	MPE20A

II.3.3. Isolement des espèces bactériennes des biofilms

II.3.3.1. Culture des bactéries du biofilm

Différents milieux sélectifs (versées dans des boites de pétri) sont ensemencés à raison de 100 µl de chaque suspension de biofilm gratté (HUSSON, 2010) :

– Le milieu TS, est ordinaire et permet le développement des germes non exigeants. C'est une gélose non sélective, qui ne contient pas d'indicateur coloré et dont le principal substrat est le glucose. Incuber à 22 ◦C.

– Le milieu R2A, pour l'isolement des bactéries à croissance lente, a une faible concentration en extrait de levure, hydrolysat de caséine, peptone et glucose, permettant à un large éventail de bactéries de se développer sans que les bactéries à croissance rapide inhibent le développement des bactéries à croissance lente (comme c'est le cas pour des milieux plus riches en milieu nutritif, comme pour le TS). Incuber à 30 ◦C.

– **Le milieu Drygalski,** est utilisé pour l'isolement des bactéries à Gram négatif non exigeantes, il contient du désoxycholate de sodium qui inhibe la croissance de la plupart des bactéries à Gram positif. Il contient un indicateur coloré de pH pour mettre en évidence l'acidification liée à une éventuelle utilisation du lactose par la bactérie. Incuber à 37 ◦C.

Tous ces milieux sont incubés 48 h en aérobiose.

II.3.3.2. Repiquage de colonies obtenues

Afin d'isoler les souches à identifier, il est nécessaire de les repiquer sur un milieu TS stérile, avec la méthode par épuisement de l'inoculum.

II.3.3.3. Tests biochimiques

Pour l'identification des bactéries de cette étude deux tests biochimiques ont été effectués : l'oxydase et la catalase.

– L'oxydase est un test essentiel pour orienter l'identification des bacilles et coques Gram négatif.

– La catalase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles et des coques Gram positif.

II.3.3.4. Coloration de Gram

Ce test permet de caractériser la paroi bactérienne (Violet de gentiane, Lugol, Alcool, Fuchsine). Bactéries Gram- sont colorées en rose. Bactéries Gram+ sont toujours colorées en violet.

II.3.3.5. Observation au microscope optique

Elle permet de distinguer : les bactéries sphériques appelées coques, les bactéries bacilles, les bactéries incurvées ou vibrions, les bactéries fusiformes et les bactéries spirilles…etc.

II.3.3.6. Identification par galeries

L'emploi de galeries API (Biomérieux, Galerie API E, Galerie API 32 Staph) après une période d'incubation donnée permet l'identification de l'espèce des bactéries mises en évidence précédemment.

Etant donné que la majorité des souches n'ayant pas viré, les isolats ont été codifiés et conservés sous deux copies une lyophilisée et l'autre à – 80°C dans le milieu TS contenant 20% glycérol pour une identification ultérieure.

II.4. Identification des souches bactériennes cultivables par la technologie MALDI-TOF (Désorption Laser Assistée par Matrice / Temps d'ionisation spectrométrie de masse en vol). Pour confirmer l'identification des souches, toutes les analyses ont été réalisées en utilisant la méthode de transfert direct (Manuel d'utilisation du MALDI Biotyper 3.1, BrukerDaltonics

Inc.). Un applicateur en bois stérile à usage unique de 15 cm a été utilisé pour récolter une colonie bactérienne et la déposer sur une cible MSP 96 points (BrukerDaltonics Inc.). Les spots ont été exposés à l'air et séchés à température ambiante. Par la suite, les échantillons ont été recouverts de 1,0 µL de matrice (solution saturée d'α-cyano- d'acide 4-hydroxycinnamique dans 50% d'acétonitrile, 47,5% d'eau et 2,5% d'acide trifluoroacétique) (Sigma-AldrichCanada Inc., Oakville, ON, Canada) et séchées à l'air à température ambiante. Les bactéries *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli* ATCC 25922 sont utilisées comme souches de référence.

Après l'acquisition du spectre de masse d'un échantillon, le logiciel Biotyper le compare aux spectres de référence de la base de données et affiche les identifications correspondantes (CAMERON et *al.*, 2017).

II.5. Identification des souches bactériennes par séquençage de l'ADNr 16S.

Les souches bactériennes, non identifiées avec exactitude au MALDI-TOF, ont été identifiées par séquençage de l'ADNr 16S. Ces analyses ont été réalisées par le Service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal (canada).

II.6. Étude *in vitro* de la capacité à former des biofilms des souches cultivables identifiées

Afin d'étudier la capacité des souches bactériennes à former des biofilms (simple ou mixte), le système expérimental de microplaque en polystyrène de 96 puits a été adopté (CORALIE et *al.*, 2017). Il s'agit d'une technique rapide et efficace permettant le criblage d'un grand nombre de bactéries. Brièvement, les colonies de la gélose TS ont été mises en suspension dans du TS à 0,5 Mc Farland. Cent microlitres des suspensions bactériennes ont été distribués dans des puits (Corning Costar n ° 3595, USA). Après incubation à 30 ° C pendant 24 h, la microplaque a été lavée trois fois. Les biofilms bactériens ont été colorés avec 150 µL de solution de cristal violet à 0,1% pendant 20 minutes et rincés avec de l'eau ultra-pure jusqu'à ce que le liquide de lavage soit clair. Le colorant a ensuite été élué avec de l'éthanol à 96% (200 µL/puits) et la quantification a été réalisée en mesurant l'absorbance à une DO 595 nm.

II.7. Observation et quantification des biofilms par microscopie confocale à balayage laser

Les biofilms ont été préparés comme décrit ci-dessus et colorés avec le marqueur fluorescent Film Tracer TM FM 1-43® (Molecular Probes, Eugene, OR, USA) tel que recommandé par le

fabricant. Les biofilms marqués ont été visualisés par microscopie confocale à balayage laser (FV1000 IX81, Olympus, Markham, ON, Canada).Les images ont été acquises en utilisant le logiciel Fluoview (Olympus). Les structures 3D ainsi que les quantifications des biofilms (biovolume et épaisseurs) ont été réalisés grâce au logiciel Image pro (Media Cybernetics, SilverSpring, MD, USA).

CHAPITRE III
Résultats et discussion

III.1. Caractéristiques des eaux de consommation dans la région de Ouargla

III.1.1. Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des forages des différentes nappes sont présentés dans les tableaux 3.4.5.

Tableau 3. Composition physico-chimique des trois forages appartenant à la nappe Albienne

Renseignements fondamentaux		**Nappe : Albienne** **Date de prélèvement : 01-07-2017**		
Éléments et paramètres		**Forage Elhdeb I**	**Forage Elhdeb II**	**Forage Elhdeb III**
Paramètres physico-chimiques	**T** (°C)	54	55	54
	Concentration en ions hydrogène « pH »	6.94	7.20	7.47
	C-E (µS/cm)	3360	2129	2665
	Turbidité (NTU)	1.23	0.819	5.19
	T.D.S (mg/l)	1680	1065	1333
	Salinité ‰	1.68	1.0	1.3
	Résidu sec à105°C	1650	1596	5984
Les paramètres de pollutions	**NH_4^+** (mg/l)	0.075	0.069	0.073
	NO_2^-(mg/l)	0.210	0.002	0.029
	PO_4^{-3}(mg/l)	00	00	00
La minéralisation	**Ca^{+2}** (mg/l)	208.41	172.34	132.26
	Mg^{+2} (mg/l)	72.41	48.6	60.75
	TH (mg/l)	820	630	580
	Na^+ (mg/l)	300	244	250
	K^+ (mg/l)	20	25	46
	Cl^-(mg/l)	661.66	765.04	686.80
	SO_4^{-2} (mg/l)	450	360	400
	HCO_3^- (mg/l)	162.66	129.01	162.66
	TAC (mg/l $CaCo_3$)	133.36	105.47	133.33
	Minéralisation globale (mg/l)	2550.24	1615.91	2022.73

Ce tableau montre que les trois forages de la nappe albienne se rapprochent dans presque toutes les valeurs des paramètres dosés.

La température, la dureté et la minéralisation dépassent les normes algériennes qui sont respectivement (25°C, 200 mg/l, 1000 mg/l) (JORA, 2011).

Tableau 4. Composition physico-chimique des quatre forages de la nappe Sénonienne

Renseignement fondamentaux		**Nappe Sénonienne Date de prélèvement : 02-07-2017**			
Éléments et paramètres		**Forage sidi khouiled I**	**Forage Ain Hadji**	**Forage Abattoir**	**Forage Ain Rahma**
Paramètres physico-chimiques	**T** (°C)	31	29	32	31
	Concentration en ions hydrogène « pH »	7.18	7.14	7.19	7.11
	C-E (µS/cm)	5040	2810	3150	4180
	Turbidité (NTU)	0.864	1.00	1.09	0.701
	T.D.S (mg/l)	2520	1405	1575	2090
	Salinité ‰	2.50	1.4	1.5	2.0
	Résidu sec à105°C (mg/l)	2832	2000	2200	2320
Les paramètres de pollutions	**NH_4^+** (mg/l)	0.0041	00	00	00
	NO_2^-(mg/l)	0.003	00	00	0.005
	PO_4^{-3}(mg/l)	00	0.070	00	00
La minéralisation	**Ca^{+2}** (mg/l)	340.68	268.53	196.32	308.61
	Mg^{+2} (mg/l)	167.7	82.63	89.9	58.33
	TH (mg/l)	1540	1010	860	1010
	Na^+ (mg/l)	500	350	320	300
	K^+ (mg/l)	35	17	15	32
	Cl^-(mg/l)	994.06	608.86	629.42	803.29
	SO_4^{-2} (mg/l)	910	495	392	580
	HCO_3^- (mg/l)	109.8	154.10	164.37	133.55
	TAC (mg/l $CaCo_3$)	90	126.31	134.73	109.47
	Minéralisation globale (mg/l)	3825.36	2810.79	2390.85	3172.62

Mêmes constatations que pour la nappe albienne, les quatre forages de la nappe sénonienne sont presque similaires par rapport à leurs caractéristiques physicochimiques ainsi que leur minéralisation globale.

Tableau 5. Composition physicochimique des quatre forages de la nappe Miopliocène

Renseignements fondamentaux		**Nappe : Moi-pliocène Date de prélèvement : 03-07-2017**			
Éléments et paramètres		**Forage Bor El Haicha**	**Forage Hassi Miloud**	**Forage Bamendil 3**	**Forage Bahmid**
Paramètres physico-chimiques	**T** (°C)	32	30	32	31
	Concentration en ions hydrogène « pH »	7.21	7.13	7.42	7.43
	C-E (µS/cm)	3730	2780	2920	3300
	Turbidité (NTU)	0.519	0.368	0.379	0.60
	T.D.S (mg/l)	1865	1390	1460	1550
	Salinité ‰	1.80	1.3	1.5	1.6
	Résidu sec à105°C (mg/l)	2400	1810	1860	3306
Les paramètres de pollutions	**NH_4^+** (mg/l)	0.012	00	0.017	00
	NO_2^-(mg/l)	0.005	00	0.008	0.10
	PO_4^{-3}(mg/l)	0.2	0.332	0.078	0.87
La minéralisation	**Ca^{+2}** (mg/l)	192.38	172.34	176.35	248.4
	Mg^{+2} (mg/l)	114.21	92.34	92.35	82.63
	TH (mg/l)	950	910	820	960
	Na^+ (mg/l)	300	200	200	200
	K^+ (mg/l)	20	15	21	21
	Cl^-(mg/l)	701.65	436.26	559.87	739.8
	SO_4^{-2} (mg/l)	688	480	480	1075
	HCO_3^- (mg/l)	144.74	148.72	97.6	113.21
	TAC (mg/l $CaCo_3$)	118.54	121.90	80	92.8
	Minéralisation globale (mg/l)	2831.07	2110.02	2216.28	2504.7

En analysant ces résultats, nous constatons que la majorité des paramètres dosés et mesurés dépassent les normes imposées par plusieurs directives. Dans notre cas, nous nous somme référés à celles des normes de potabilité algériennes et de l'OMS, car cette dernière ne fixe pas des normes strictes mais des valeurs guides, permettant de porter un jugement comparatif sur la qualité de l'eau. Ces valeurs sont susceptibles d'être utilisées avec une certaine souplesse dans le souci constant de la protection de la santé publique. Ces eaux sont considérées comme très minéralisées et dures.

- **Contrôle des taux du chlore libre de l'eau**

Les résultats de cette investigation montrent que l'eau de robinet dans tous nos échantillons ressort avec un taux de Chlore (tous nos échantillons colorés en rose), qui témoigne d'un traitement de désinfection appliquée à ces eaux distribuées.

L'ajout de chlore à l'eau pour traitement n'inhibe pas la formation d'un biofilm sur des matériaux (SIBILLE, 1998 ; COSTERTON et *al*., 1999b). Néanmoins, le chlore peut dans certains cas, ralentir la formation du biofilm à la surface des matériaux à des concentrations résiduelles en chlore supérieures à 0.3 mg/l (SIBILLE, 1998). JUERY (2004) et RODIER et *al*. (2005), rapportent que l'utilisation de l'eau de javel pour la désinfection de l'eau destinée à la consommation humaine peut conduire à la production de sous-produits de désinfection responsables de mauvais goûts et d'odeurs, voire dangereux pour la santé ; par ses caractères cancérogènes pour l'homme ; comme les trihalométhanes, les chlorophénols, les organochlorés. De plus, l'eau de javel est basique et peut provoquer la précipitation du calcium en cas d'eau dure ce qui entraine le colmatage des équipements (JUERY, 2004).

Etant donné que la différence dans la composition des eaux des forages de la même nappe est non significative et afin de déterminer l'impact des canalisations et de leurs matériaux sur la qualité de l'eau distribuée nous avons choisi un seul forage de chaque nappe pour comparer les caractéristiques de ses eaux à celles arrivées aux consommateurs. Trois foyers s'alimentant de chaque forage ont été sélectionnés en fonction du matériau de leur canalisation. Les forages 1 (Elhdeb I), 2 (Sidi Khouiled I) et 3 (Bor-Elhaicha**)** correspondent respectivement aux nappes albienne, sénonienne et miopliocène.

Les différences significatives (S) ou non significatives (NS) notées dans la composition de ces nappes (réalisées par le test statistique de comparaisons « ANOVA » sont représentés par l'annexe1. Par ailleurs la comparaison entre la composition des eaux de chaque nappe avec celles des foyers correspondant a été réalisée avec le Test sur échantillon unique et les résultats sont reportés dans les annexes 5, 6 et 7.

- **La Température**

Les résultats illustré dans la Figure 6 A montrent que l'eau du forage de la nappe Albienne présente des températures les plus élevées (des eaux thermales), vu la période d'échantillonnage (mois de juillet) et la profondeur de l'aquifère. La température est de l'ordre de 55°C ceci implique la nécessité d'un refroidissement avant la distribution urbaine.

Pour les deux autres nappes, la température varie entre 29°C et 32°C, Nos résultats concordent avec ceux de TABOUCHE et ACHOUR (2004), qui rapportent que la température des eaux souterraines de la nappe sénonienne de la région orientale du Sahara septentrional algérien, varie entre 25°C et 27°C, ce qui explique leur homogénéité thermique.

Pour les eaux de ces deux nappes, leur température est dans la limite de potabilité 25°C (JORA, 2005).

Pour la nappe albienne, la diminution de la température est notée pour l'eau distribuée dans les trois types du matériau de canalisations, par rapport à celle du forage1. Cependant pour les deux autres nappes aucune variation de température n'a été enregistrée entre les forages et les foyers (Figure 6 B). La faible variation de la température des eaux, montre qu'elles ne séjournent pas longtemps dans les conduites des réseaux des distributions, vu la consommation importante en eaux des zones desservies.

La température élevée accélère la plupart des réactions physico-chimiques et biologiques dans les réseaux et provoque une croissance et une diversité microbienne dans les canalisations (Documentation technique FNDAE, 2003) car l'activité bactérienne s'accroît nettement lorsque la température dépasse 15°C. (GAUTHIER, 2002 ; USEPA, 2008). En effet, la température est importante non seulement parce qu'elle affecte l'activité métabolique et enzymatique des bactéries, mais aussi parce qu'elle influence certains paramètres physico-chimiques (pH, activité ionique, agitation thermique et solubilité des gaz) (MARSH et MARTIN, 1992 ; BRIANDET et *al*., 1999 ; GALLARDO-MORENO et *al*., 2002 ; CAPPELLO et GUGLIELMINO, 2006 ; BOEGLIN, 2000 ; DIB, 2009 et LADJEL, 2009) ainsi que les propriétés de surface des microorganismes. CAPPELLO et GUGLIELMINO, (2006) ont observé par exemple qu'une élévation de la température de culture provoque une augmentation de la capacité d'adhésion de *P. aeruginosa* au polystyrène de par l'augmentation de l'hydrophobicité de sa surface.

Ce paramètre a aussi une incidence sur la demande en chlore et le chlore libre résiduel, qui est nécessaire pour contrôler le biofilm (NDIONGUE et *al*. 2005).

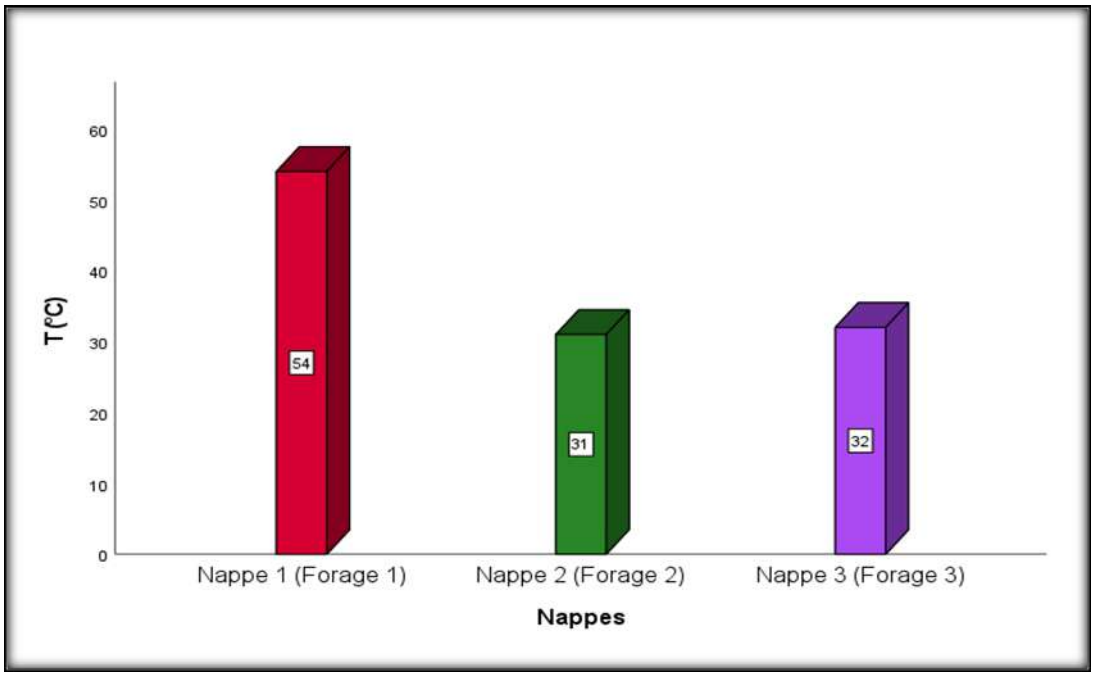


Figure 6A : Variation de la température entre les différentes nappes

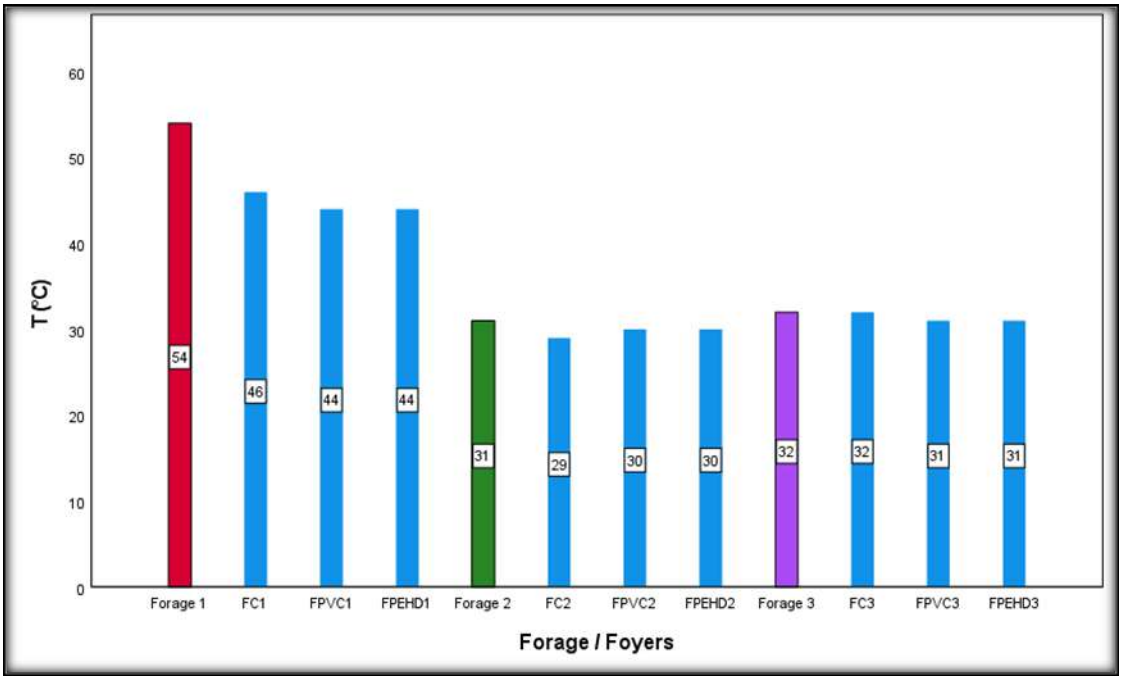


Figure 6B : Variation de la température entre forages et foyers

- **Concentration en ions hydrogène « pH »**

Les résultats illustrés dans la figure 7A montrent que le pH de tous nos échantillons est conforme à la norme algérienne de potabilité d'une eau de consommation (6.5 à 9) (JORA, 2011). Sachant que le pH du forage de la nappe Albienne présente des valeurs moins élevées « 6.94 » que les deux autres forages des deux autres nappes qui ont des valeurs homogènes « 7.18 et 7.21 »

Pour la nappe Albienne une augmentation du pH est enregistrée dans le FC1 et le FPEHD1. En revanche aucune variation de pH n'est notée dans le FPVC1.

Pour les deux autres nappes, dans les échantillons prélevés à partir des conduites de cuivre (FC2, FC3) aucune variation de pH n'est enregistrée entre forages et foyers. Néanmoins une augmentation des valeurs de pH observés dans les échantillons dont les conduites de distribution à base de PVC et PEHD (FPVC2, FPVC3, FPEHD2, FPEHD3) (figure 7B)

Selon LADJEL (2009), la plupart des eaux présentent un caractère alcalin bicarbonaté car le pH est souvent inférieur à 8,3. D'après TABOUCHE et ACHOUR (2004), les eaux souterraines de la région orientale du Sahara septentrional algérien, ont un pH voisin de la neutralité à caractère alcalin. NEZLI et *al*. (2009), signalent que les eaux de la nappe du complexe terminal de la basse vallée de l'Oued M'Ya (Ouargla), sont de pH plus ou moins neutres à caractère alcalin d'où une tendance à la formation de dépôts de $CaCO_3$ (entartrage) dans le réseau de distribution d'eau potable (HARKABUS, 2006). Pour LADJEL (2009), c'est une indication que ces eaux ne contiennent pas assez de CO_2, et sont saturées en $CaCO_3$, donc incrustantes. Les eaux naturelles ont un pH qui est fonction des concentrations en gaz carbonique dissous et en hydrogénocarbonates. Dans un réseau, le pH peut varier au cours de la distribution du fait d'une évolution de la concentration du CO_2 dissous due à une aération dans les conduites de distribution (BOEGLIN, 2000).

Un pH inférieur à 7 peut provoquer une augmentation de l'activité corrosive, ce qui crée des secteurs protégés où les microbes peuvent adhérer aux surfaces des canalisations et former des biofilms (CWAE, 2016).

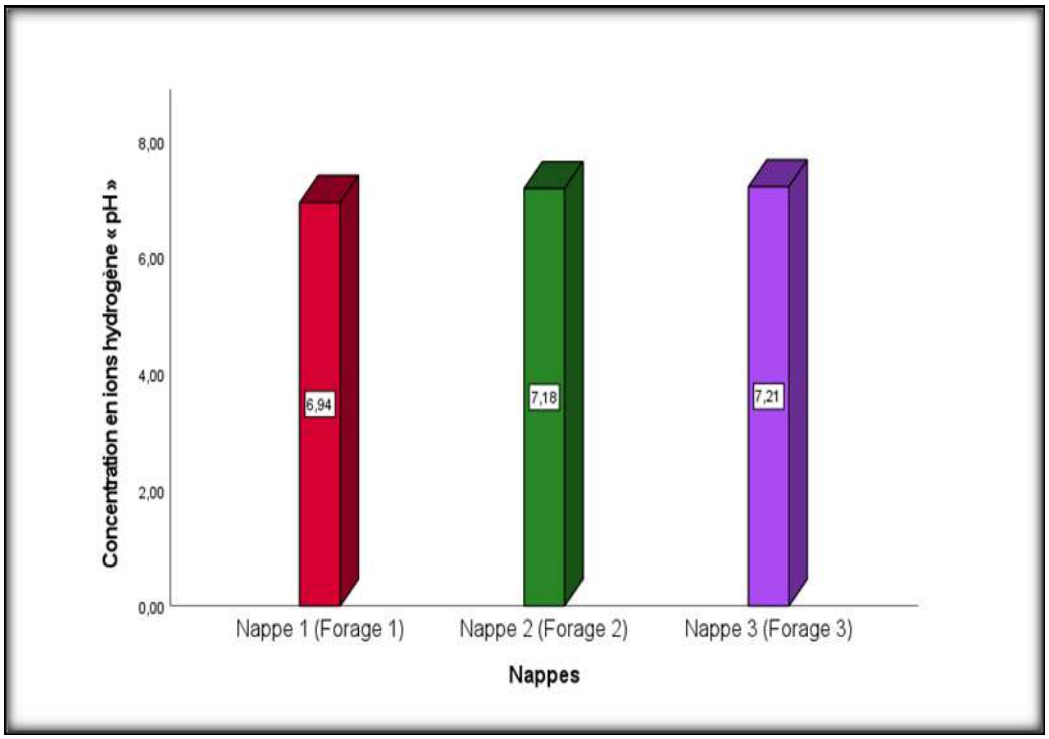


Figure 7A : Variation du pH entre les différentes nappes

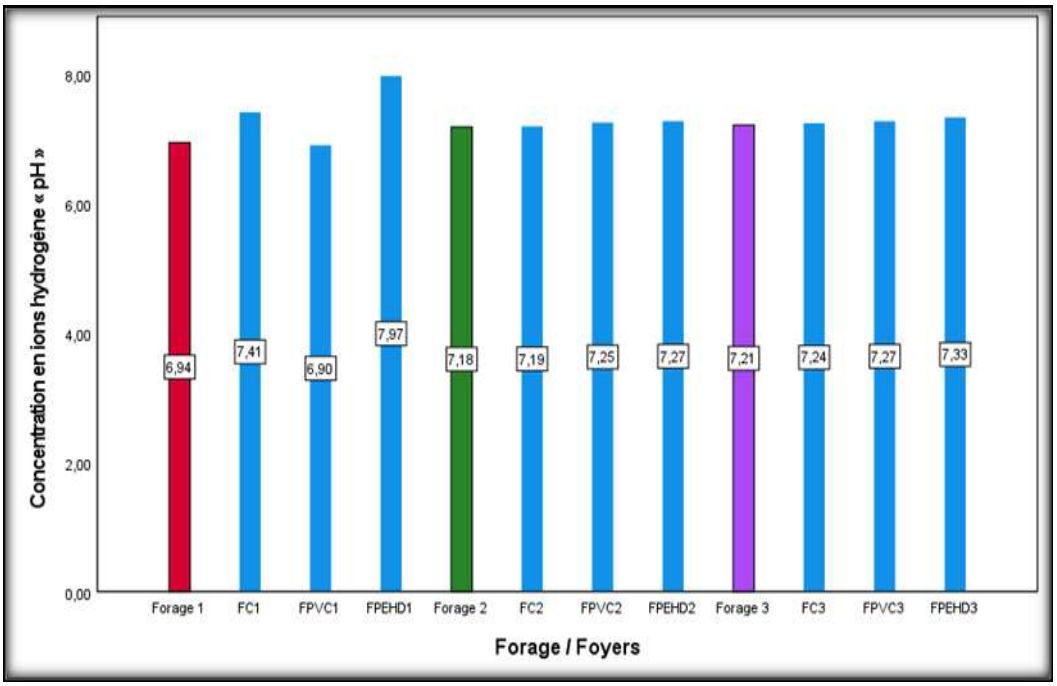


Figure 7B : Variation du pH entre forages et foyers

- **Conductivité électrique C-E**

Les résultats obtenus (figure 8A), montrent que les eaux de trois nappes présentent une conductivité électrique supérieure à 1000 µS/cm, du fait de leurs teneurs trop élevées en sodium, en calcium, en magnésium, en chlorures et en sulfates. Les valeurs mesurées varient d'une nappe à une autre, la plus grande valeur de conductivité est enregistrée dans le forage de Sidi Khouiled (La nappe Sénonienne), suivie par le forage de Bor-Elhaicha (Nappe Miopliocène), puis par le forage de Elhdeb I (Nappe Albienne).

On note une diminution de la conductivité dans tous nos échantillons (quelle que soit la nappe et quel que soit le matériau de canalisation), sauf dans l'échantillon à base de PVC (FPVC1) issus de la nappe Albienne, où la conductivité n'a pas changé lors de trajet entre forage et foyer (figure 8B) .RODIER et *al.* (2005), signalent que la variation de conductivité est induite par la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Cette mobilité dépend de la nature des ions dissous et de leur concentration, tels que les ions de calcium ($Ca2^{+}$), de sodium (Na^{+}), de chlorure (Cl^{-}), des bicarbonates ($HCO3^{-}$), etc…. La conductivité électrique augmente avec la concentration des ions en solution et la température (DIB, 2009)

Les normes algériennes, fixent une valeur limite de conductivité de 2800 µS/cm pour les eaux chargées en sels minéraux (JORA, 2000). Mais les législations européennes ne font pas état de valeur maximale admissible, mais l'on retient une limite de 1.5 g pour les résidus sec, dont l'équivalent en conductivité serait de l'ordre de 2000 µS/cm. Toutes les valeurs de conductivité obtenues au cours de la présente étude indiquent une minéralisation élevée des eaux potables de cette région. Car d'après RODIER et *al.*, (2005) si la conductivité est supérieure à1000 µS/cm, la minéralisation est élevée. TABOUCHE et ACHOUR (2004), ont aussi noté que les conductivités électriques des eaux souterraines de la région orientale du Sahara septentrional algérien ont une minéralisation élevée. De même NEZLI et *al.* (2009), notent des valeurs élevées de conductivité allant de 1840 µS/cm à 4090 µS/cm pour les eaux souterraines de la région d'étude. La mesure de la conductivité permet une évaluation rapide et approximative de la minéralisation globale ou la salinité de l'eau, même d'en suivre l'évolution (BOEGLIN, 2000; DIB, 2009). Ces minéralisations relativement fortes témoignent d'un temps de contact plus élevé avec la matrice encaissante traduisant soit des circulations très lentes ou des temps de séjour prolongés, soit une contamination (DAKOURE, 2003).

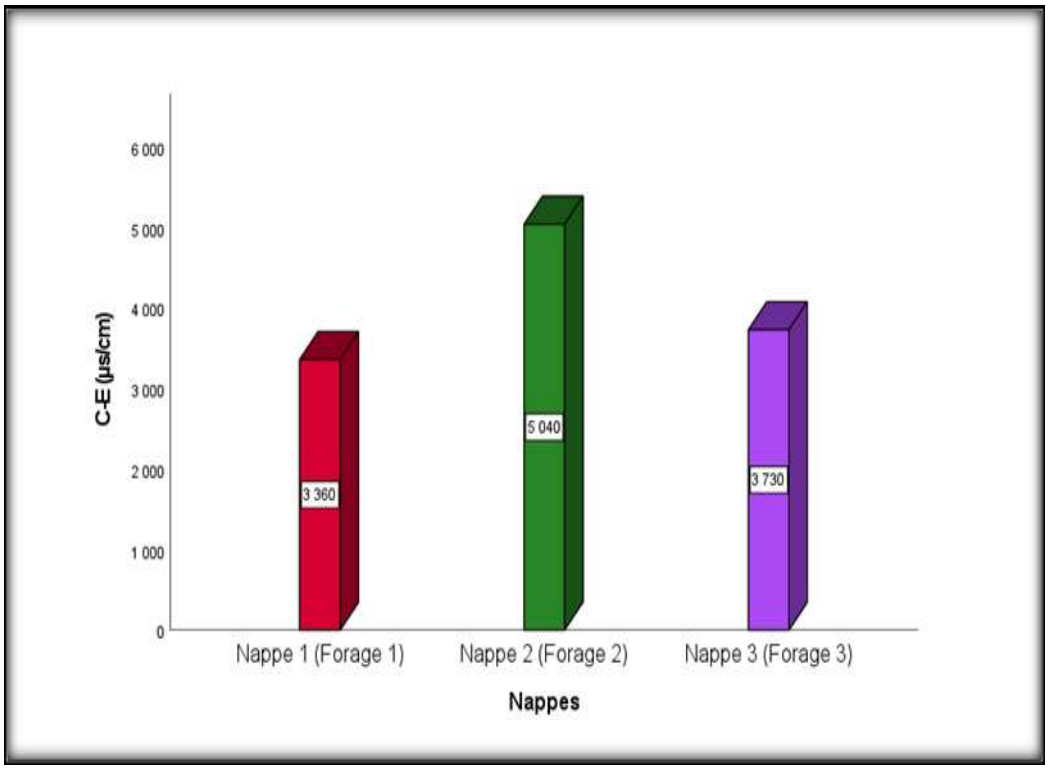


Figure 8A : Variation de la conductivité électrique entre les différentes nappes

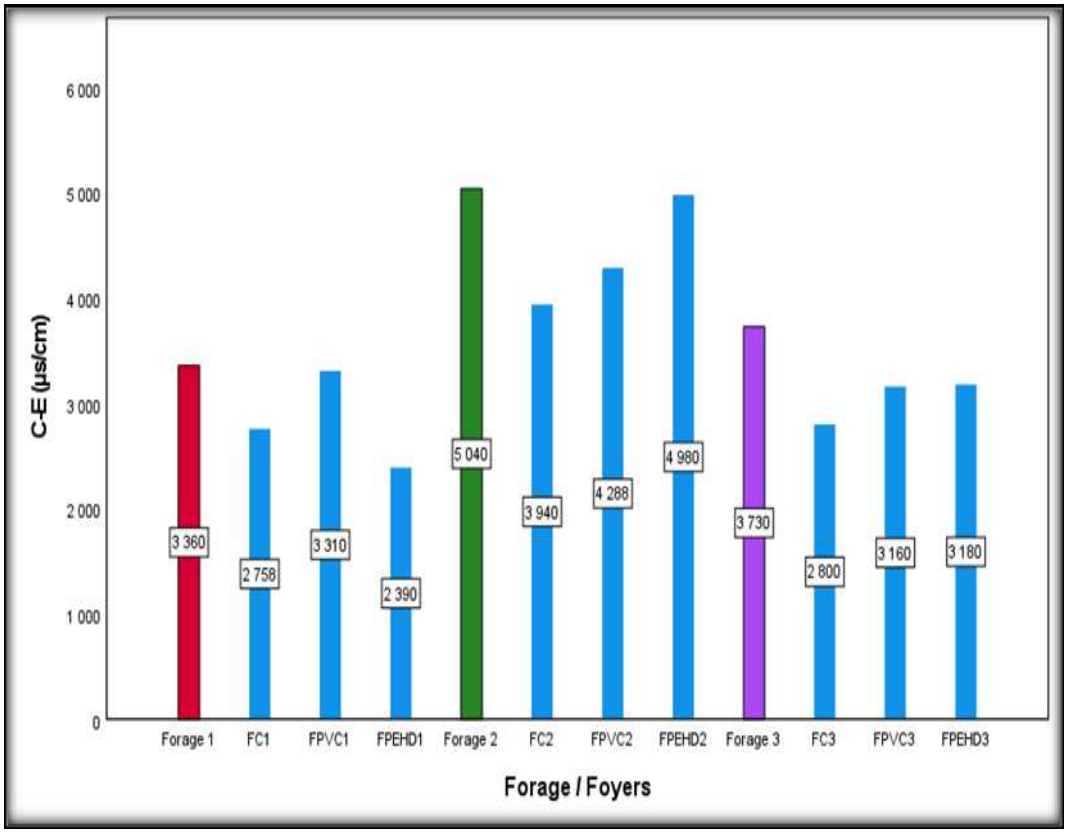


Figure 8B : Variation de la conductivité électrique entre forages et foyers

- **Turbidité**

Nos résultats (figure 9A) montrent que les valeurs mesurées varient d'une nappe à une autre, la plus grande valeur de turbidité est attribuée au forage de Elhdeb I, suivie par le forage de Sidi Khouiled, par la suite le forage de Bor-Elhaicha.

Une augmentation de la turbidité est enregistrée dans les échantillons FC1, FPVC2, FPEHD2, FC3 et FPVC3 entre forage et foyer contre une diminution notée dans les échantillons FPEHD1, FC2 et FPEHD3 (figure 9B).

Les normes de turbidité de l'eau potable sont assez différentes. L'OMS (1965) et les normes algériennes (2000), recommandent comme valeur limité de turbidité 5 NTU. L'OMS (1993), précise que dans le cas où l'on pratique la désinfection, il conviendrait que la turbidité soit inférieur à 1 NTU (RODIER et *al*., 2005). Les valeurs de turbidité inferieures ou égale à 1.23 NTU, sont conformes aux normes.

Selon DESJARDIN (1990); KETTAB (1992); BOEGLIN (2000), parmi les caractéristiques générales des eaux souterraines, il faut retenir leur très faible turbidité. Afin de pouvoir gérer en continu la qualité d'une eau traitée, il a été introduit la notion de concentration en résiduel de désinfectant chimique après un temps de contact donné, pour s'assurer d'une garantie de désinfection à condition que la turbidité de l'eau ne protège pas ces germes (≤0.3 NTU) (MONTIEL, 1999). Une forte turbidité peut aussi protéger les micro-organismes des effets de la désinfection, et stimuler la croissance des bactéries ou déclencher une forte demande en chlore (OMS, 2004).

Dans le réseau, une turbidité élevée de l'eau révèle les problèmes suivants :

-précipitation de fer, aluminium ou manganèse, due à une oxydation dans le réseau,

-précipitation lente de CaCO3 (ou parfois hydroxydes de magnésium), due à un mauvais ajustement du pH à l'usine de traitement,

-une corrosion importante,

-l'agglomération naturelle des colloïdes qui peuvent provenir d'arrachements de biofilm, ou de bactéries agglomérées par leur glycocalyx (polysaccharides présents sur les parois extérieures des bactéries),

-des précipités formés par l'effet de post-floculation dans le réseau (effort persistant du floculant et polymérisation non achevée) dégradent la qualité organoleptique de l'eau et conditionnent la prolifération de microorganismes (FNDA, 2003).

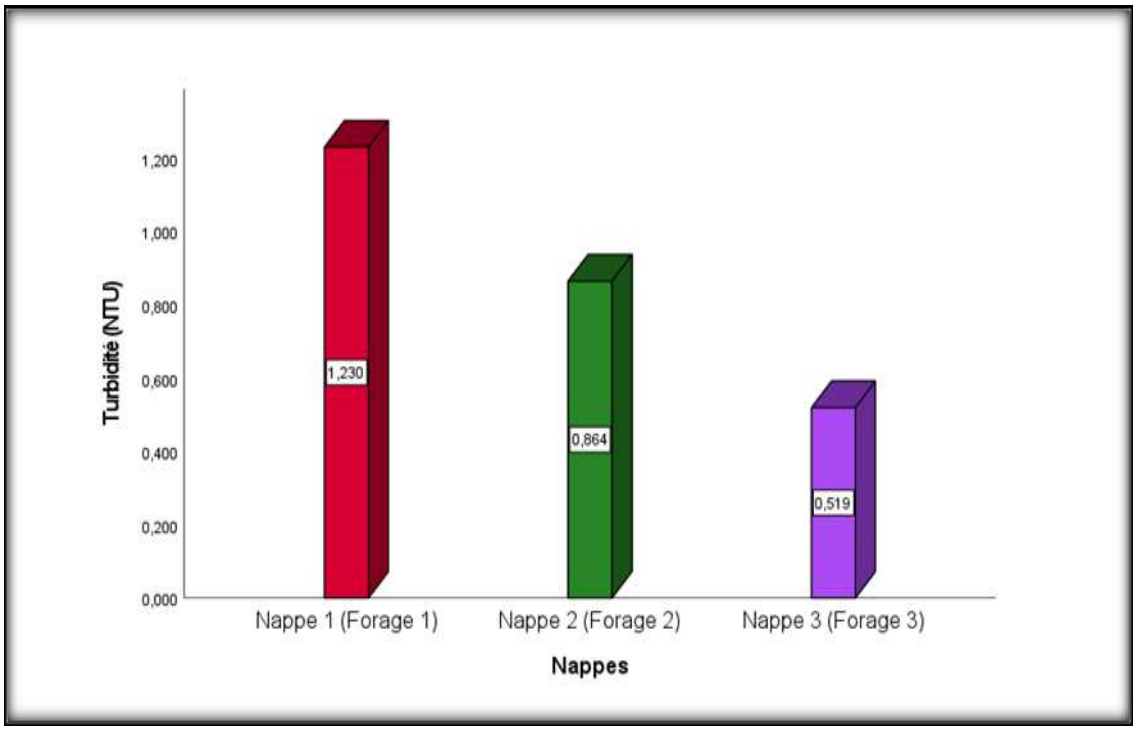


Figure 9A : Variation de la turbidité entre les différentes nappes

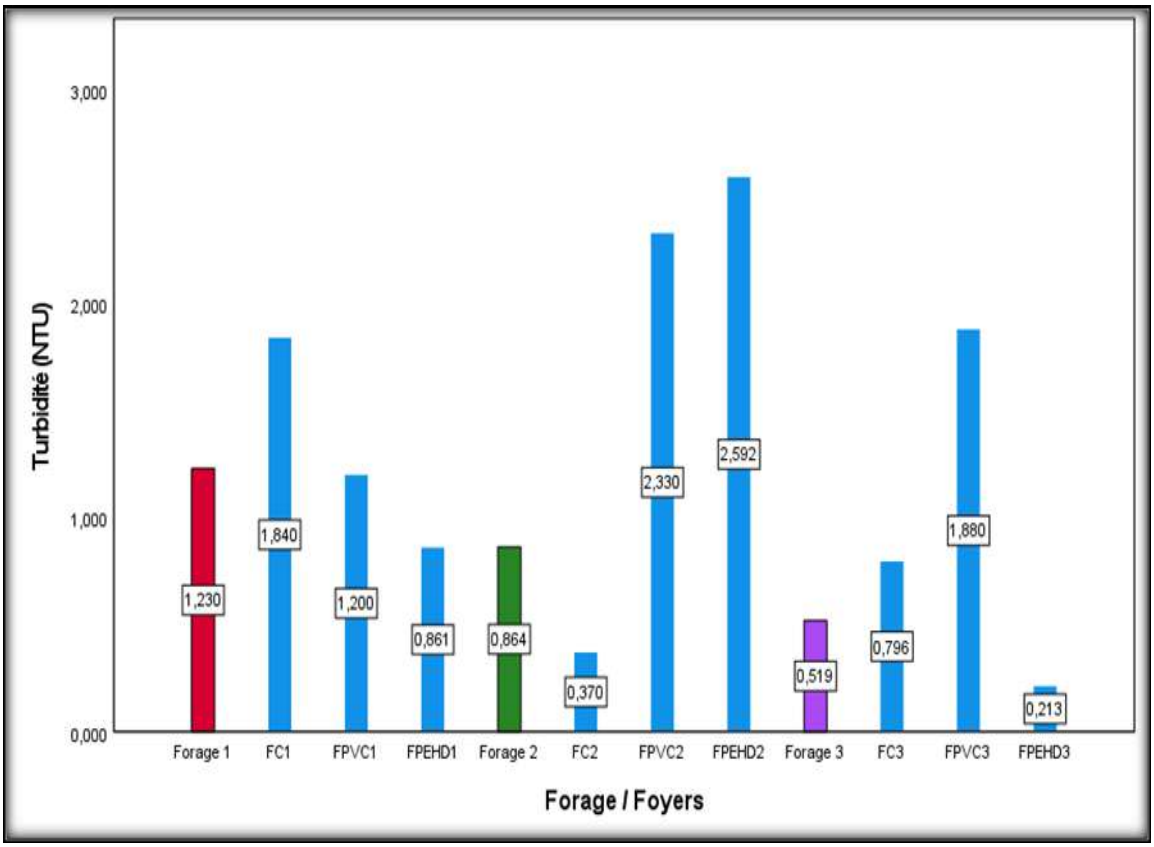


Figure 9B : Variation de la turbidité entre forages et foyers

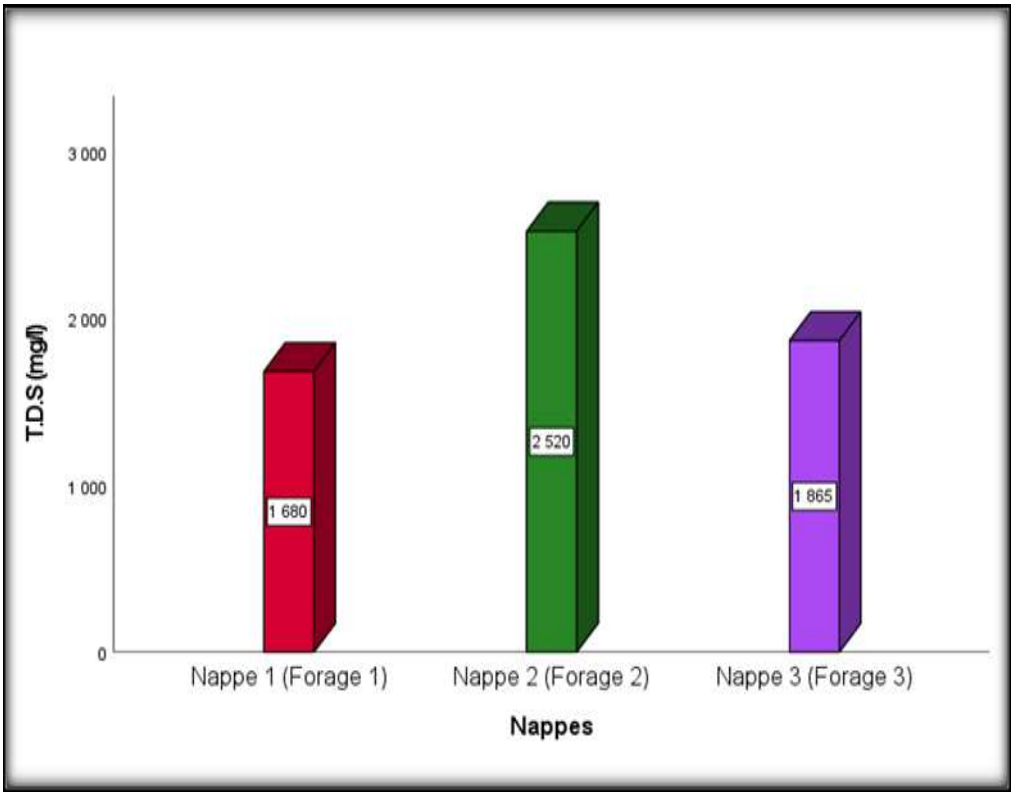
- **Taux des sels dissous (TDS) et salinité**

Selon les résultats obtenus (figure $10A_{1,\ 2}$) les concentrations en sels dissous et en salinité dans les échantillons étudiés, sont variables. Les plus grandes valeurs sont attribuées au forage 2 (nappe sénonienne) suivi par le forage 3 (nappe miopliocène) puis le forage1 (nappe albienne).

La zone de la présente étude est alimentée, par des eaux souterraines, ainsi elles sont fortement minéralisées avec des taux de sels dissous atteignant jusqu'à 2520 mg/l de sels dissous dépassant souvent les normes de (1500 mg/l).

Une diminution de concentration en sels dissous et de la salinité est enregistrée dans tous les échantillons des différentes sources (nappes et matériaux) (figure $10B_{1,\ 2}$). Cette diminution peut s'expliquer par une précipitation des ions au cours du trajet.

La salinité correspond à la quantité de sels dissous Elle se mesure directement à partir de la conductivité électrique des échantillons d'eau prélevés (FIGARELLA et LEYRAL, 2002; RODIER et *al.*, 2005). Les taux de sels dissous élevés (entre 2520 mg/l ; 1865 ; 1630mg/l) indiquent une minéralisation élevée au vu des conductivités obtenues (entre 5040 mg/l ; 3730 ; 3360 mg/l). La minéralisation est fonction de la géologie des terrains traversés. Elle est plus élevée dans les eaux souterraines (RODIER et *al*., 2005).



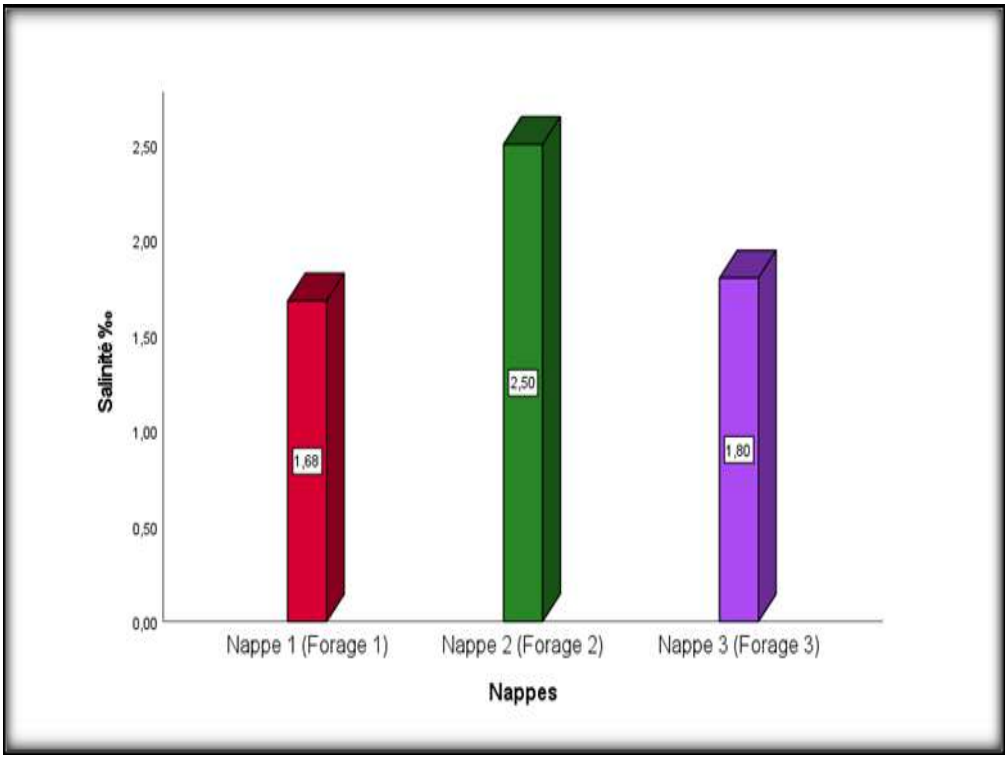
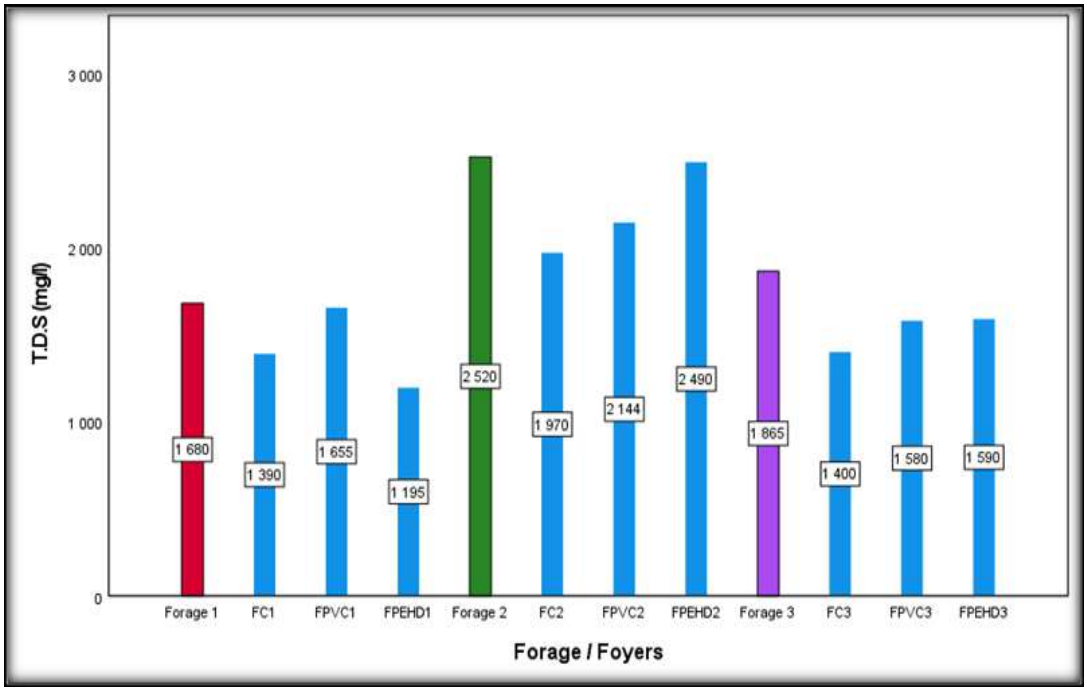


Figure 10A$_{1,2}$: Variation de taux des sels dissous et de la salinité entre les différentes nappes



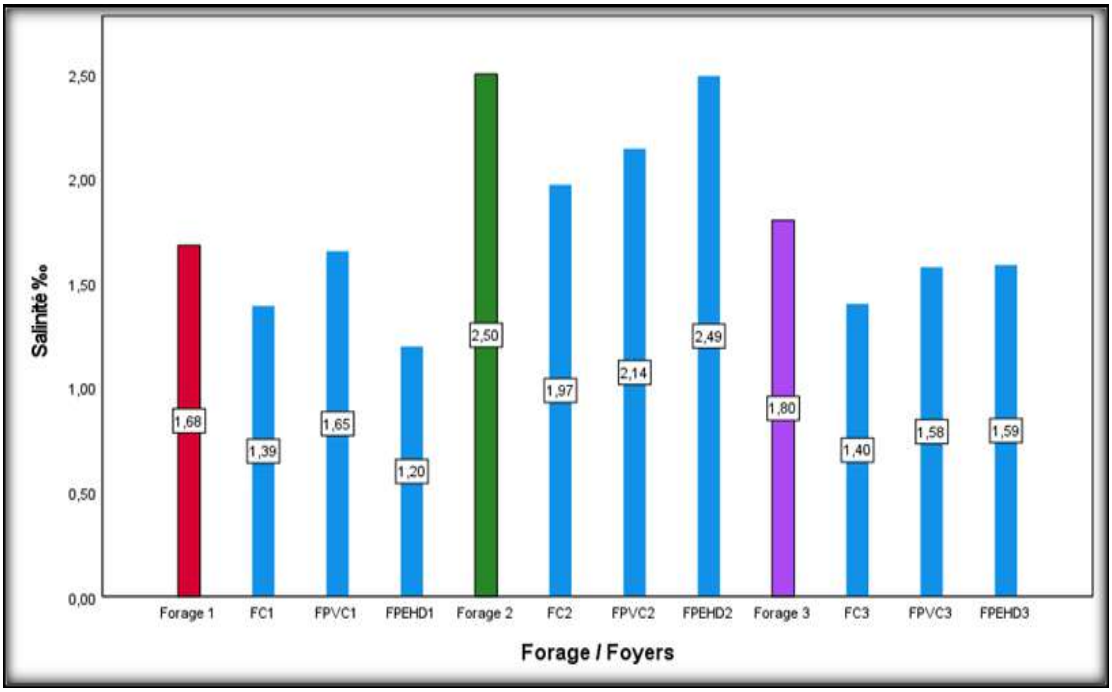


Figure 10B$_{1,2}$: Variation de taux des sels dissous et de la salinité entre forages et foyers

- **Résidu sec à 105°C**

Les résultats montrent des valeurs variables du résidu sec dans les échantillons d'eau étudiés (figure 11A). La plus grande valeur est attribuée au forage2 (nappe sénonienne), suivi par le forage3 (nappe miopliocène) puis le forage 1(nappe albienne) avec 1650, 2832 et 2400 mg/l respectivement. Une diminution des résidus secs est observée dans tous les échantillons prélevés à partir de la nappe miopliocène (FC3, FPVC3, FPEHD3), dans l'échantillon du PVC provenant de la nappe Albienne (FPVC1), ainsi que dans l'échantillon du cuivre provenant de la nappe Sénonienne (FC2). En revanche une augmentation des résidus secs est enregistrée dans les échantillons restants (figure11B).

Selon FIGARELLA et LEYRAL (2002); RODIER et *al.* (2005), la minéralisation déterminée par pesée de l'extrait sec, n'est pas rigoureusement identique à celle calculée à partir de la conductivité. En effet, l'évaporation de l'eau à 105°C peut entrainer des transformations de la structure de certains sels : hydrogénocarbonate dissociés donnant des carbonates ou par cristallisation des sulfates avec un certain nombre de molécules d'eau. Le poids de l'extrait sec ne représente pas toujours celui des sels dissous. A exception faite pour la source toutes les valeurs obtenues sont supérieures aux normes algériennes fixées à 2000 mg /l (JORA, 2000). SCHOELLER (1962) distingue une potabilité relative dépendant de la composition chimique minérale moyenne et maximale des eaux. Les eaux d'adduction de la cuvette Ouargla sont classées dans la catégorie d'une mauvaise potabilité. La corrélation positive entre la conductivité éclectique, le taux des sels dissous (TDS), la salinité, et le résidu sec semble s'expliquer par le faite que les sels solubles définissent la salinité, et augmentent la conductivité électrique et le résidu sec. Ces deux derniers donnent une lecture sur la minéralisation globale des eaux.

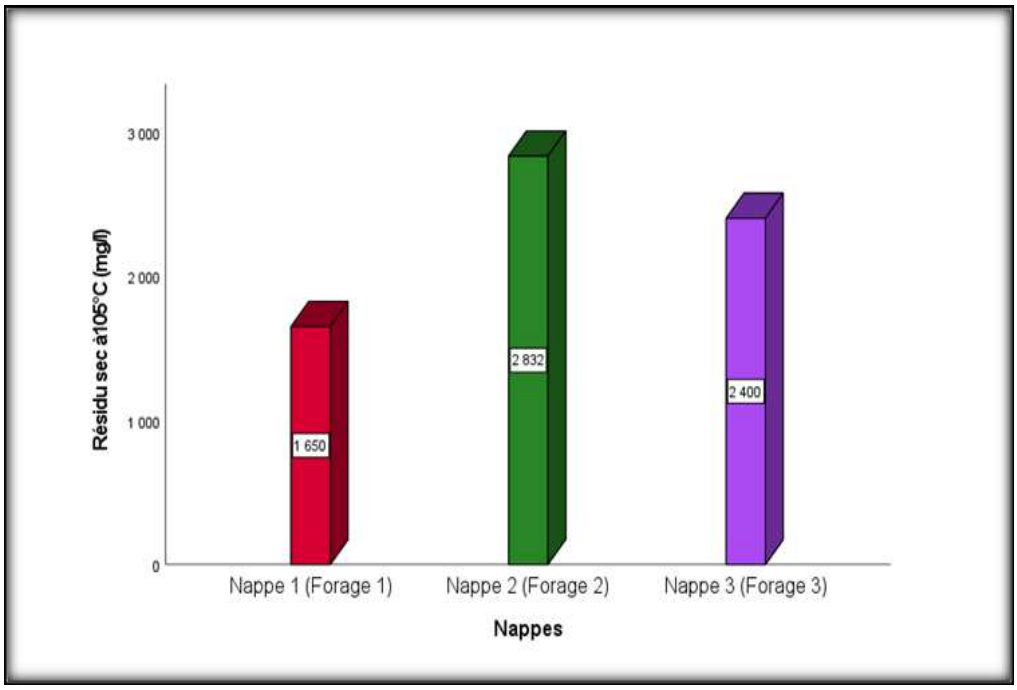


Figure 11A : Variation de taux des résidus sec entre les différentes nappes

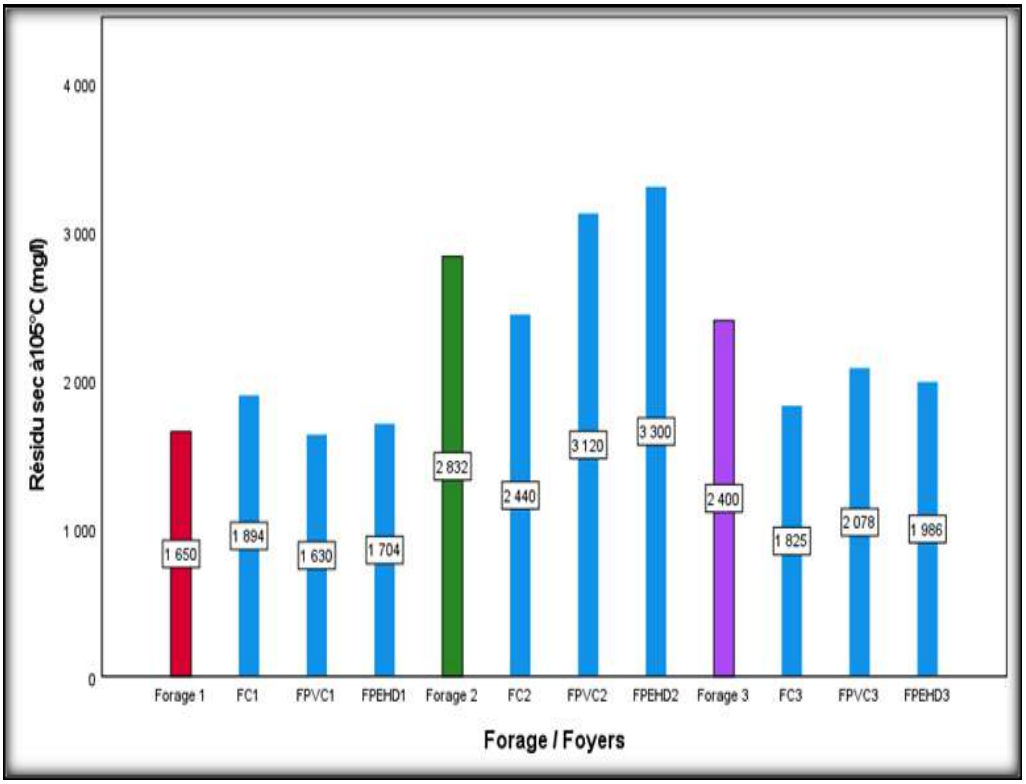


Figure 11B : Variation de taux des résidus sec entre forages et foyers

- **Ammonium NH_4^+ et le Nitrite NO_2^-**

Au vu de la (figure12A) les échantillons d'eaux analysés de la cuvette de Ouargla ne renferment pas d'ammonium et des nitrites, même s'ils existent, ce sont des taux qui ne dépassant pas 0.075 et 0,021 mg /l respectivement, soit le maximum obtenu au forage 1 (nappe albienne). Cela semble logique car en profondeur, les eaux peuvent se charger en ion ammonium par réduction des nitrates sous l'action des bactéries autotrophes ou par les ions ferreux (RODIER et *al*., 2005). GUERGAZI et ACHOUR (2005), ont aussi observé la présence de concentrations non négligeables en ammoniaque dans certains échantillons d'eau prélevés en réservoir et en réseau de distribution, atteignant 0.34 mg $NH4^+$/l, malgré une chloration. Si la chloration est faite d'une manière adéquate, la concentration en ammoniaque (ion ammonium) est nulle.

Les résultats de la figure 12B, montrent une diminution du taux d'ammonium et de nitrites remarquable dans tous les échantillons quelle que soit la nature de matériaux de distributions utilisés et quelle que soit la nappe exploitée excepté l'échantillon FPVC3 où le taux de nitrite n'a pas changé lors de distribution entre forage et foyer.

La mise en évidence, dans l'eau, de teneurs importantes en ammonium implique une contamination récente par les matières organiques en décomposition. Les normes admissibles sont de 0,5 mg NH_4^+/l (JORA, 2000; OMS, 1965, 1993, 2006; WHO, 2008).

Pour les nitrites GUERGAZI et ACHOUR (2005), rapportent la limite de consommation algérienne qui est fixée à 0,1 mg NO_2^-/l (JORA, 2000). Pour RODIER et *al.* (2005), en l'absence de pollution, il n'y pas ou très peu de nitrites dans les eaux. Les teneurs se maintiennent à des niveaux très faibles (0.01mg NO_2^-/l). Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, la nitrification n'étant pas conduite à son terme, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante des bactéries (phénomène de la dénitrification) (RODIER et *al*., 2005; DIB, 2009). Une eau qui renferme des nitrites, est considéré comme suspecte car lui est souvent associée une détérioration de la qualité microbiologique (RODIER et *al*., 2005). Cependant, les eaux en contact avec certains terrains ou conduites peuvent contenir des nitrites indépendamment de toute souillure (HAKMI, 2006). Pour interpréter les résultats, il sera nécessaire de tenir compte des teneurs en nitrates, en azote ammoniacal, en matière organique et l'examen bactériologique (RODIER et *al*., 2005). Pour ce qui est des nitrites, la dose journalière acceptable (DJA) établi par l'OMS (1995), est de 0,02 mg azote total/kg/jour (0,06 mg de NO2-/kg/jour), qui est basée sur la prévention d'un risque non cancérigène. Pour une personne de 70 kg, la DJA est

équivalente à la consommation de près de 6 litres d'eau ayant une concentration en nitrates de 10 mg azote total /l (CHAUSSE et *al*., 2003).

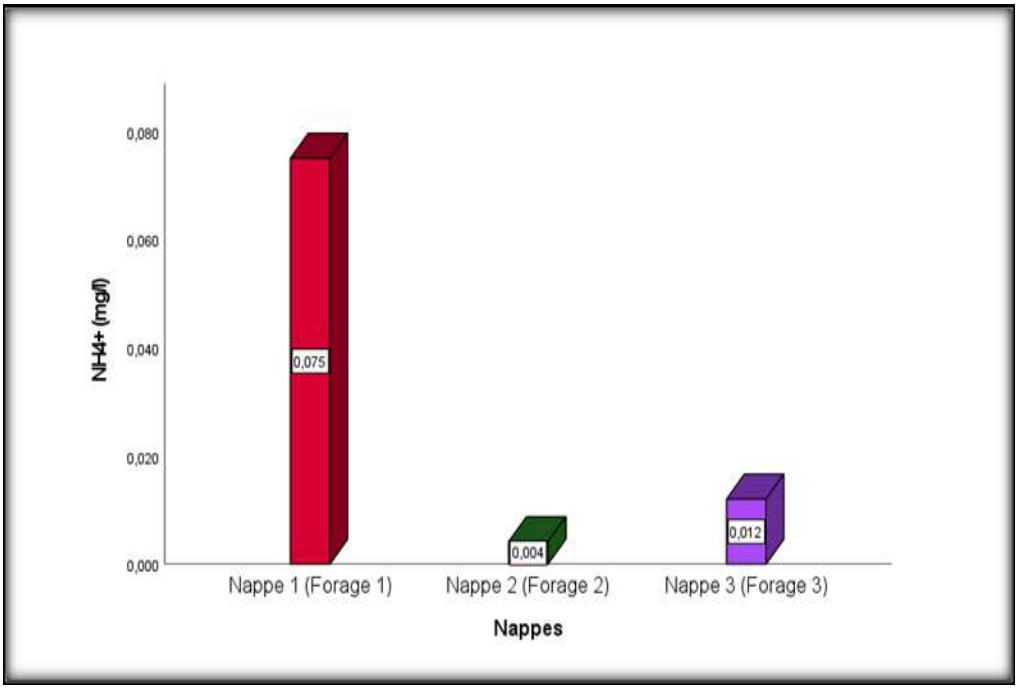


Figure 12A : Variation de taux d'ammonium entre les différentes nappes

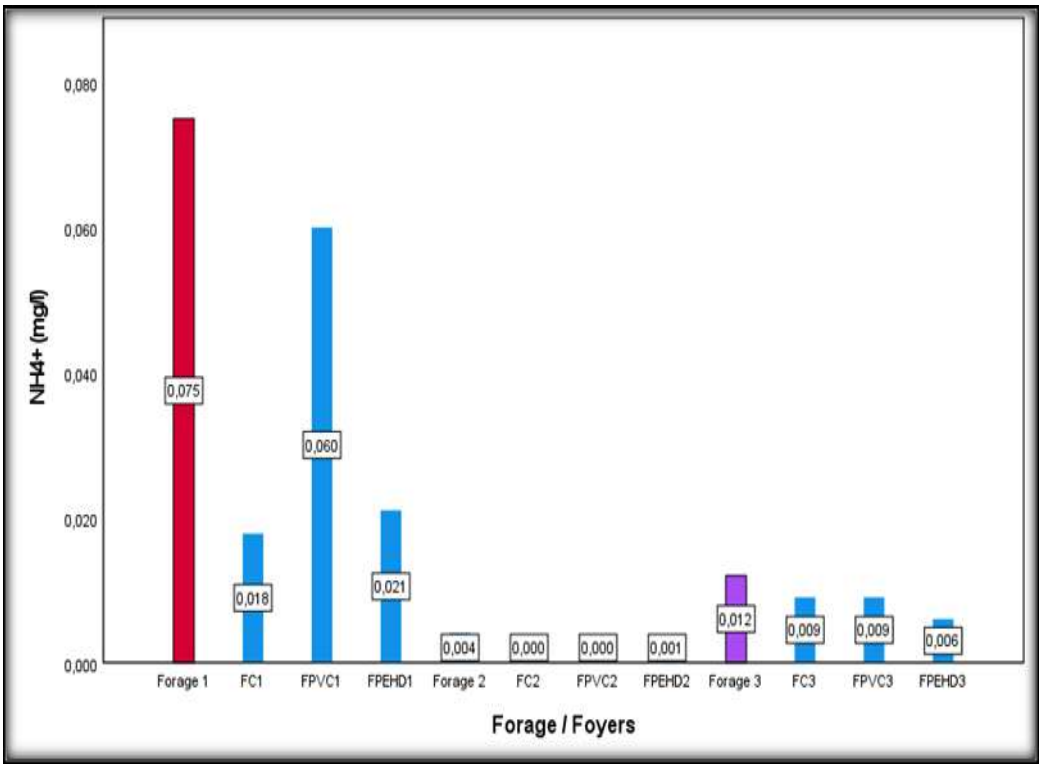


Figure 12B: Variation de taux d'ammonium entre forages et foyers

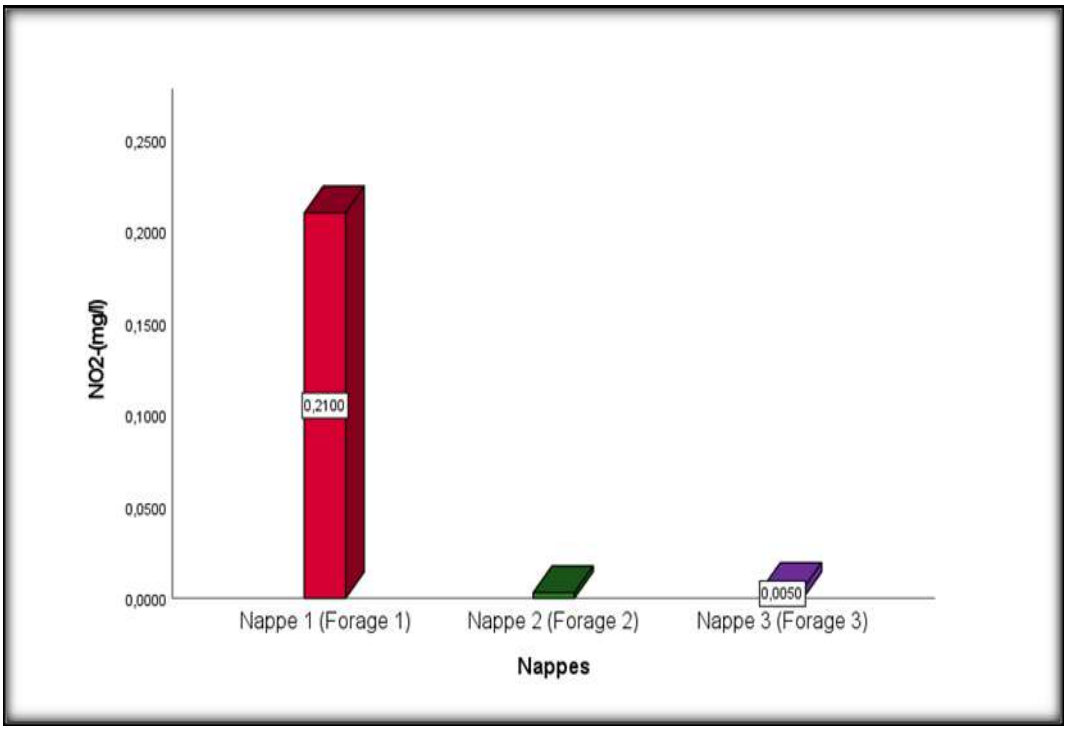


Figure 13A : Variation de taux des nitrites entre les différentes nappes

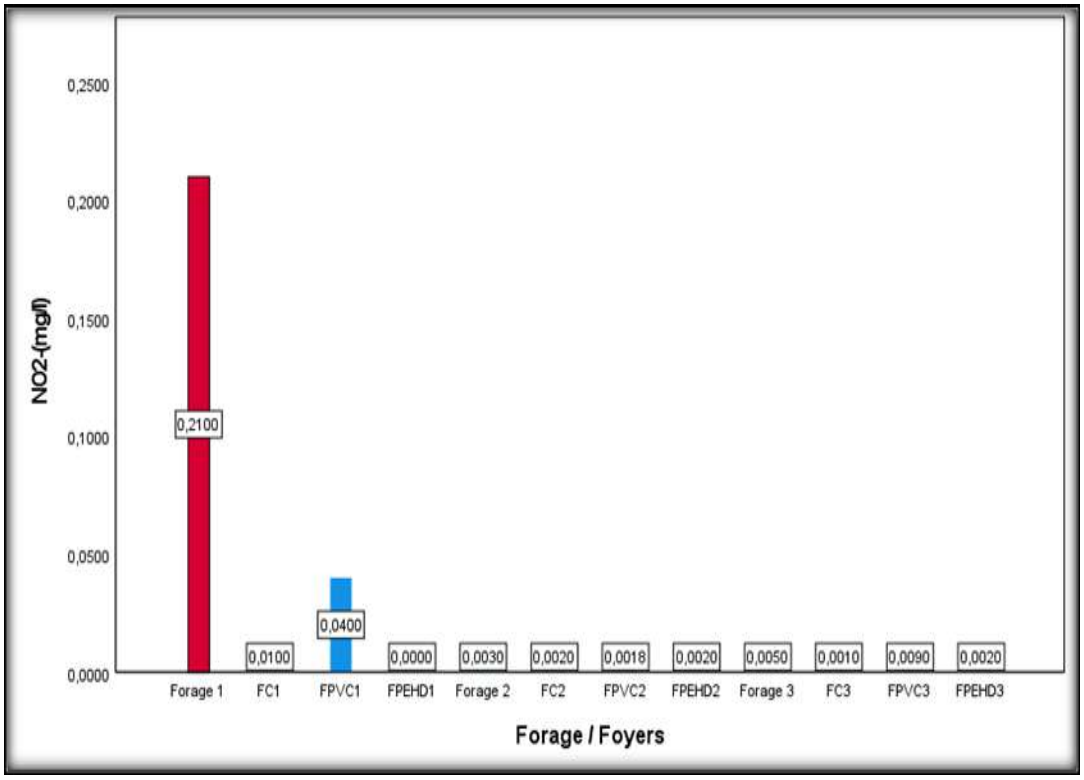


Figure 13A : Variation de taux des nitrites entre forages et foyers

- **Orthophosphate PO_4^{-3}**

Sur la figure 14A, on note l'absence totale de l'orthophosphate dans tous les échantillons issus des deux nappes Albienne et Sénonienne. Néanmoins une valeur de 0.200 mg de PO_4^{3-}/l était enregistrée dans l'échantillon provenant du forage de Bor-Elhaicha.

On note une diminution de l'orthophosphate dans tous nos échantillons issus de la nappe Moipliocène, entre le forage d'alimentation (Bor-Elhaicha) et les différents foyers (figure 14B).

Les normes algériennes fixent le taux de l'orthophosphate dans les eaux d'adduction à 0,5 mg de PO_4^{3-}/l (JORA, 2000).

Les phosphates font partie des anions facilement fixés par le sol. Leurs présences dans les eaux naturelles, sont liées à la nature des terrains traversés et à la décomposition de la matière organique (HAKMI, 2006; LADJEL, 2009). Il en résulte une véritable dégradation qui peut devenir irréversible (HAKMI, 2006). Le phosphore joue un rôle important dans le développement des algues (RICHARD, 1996; LADJEL, 2009). Il est susceptible de favoriser leur multiplication dans les réservoirs, les canalisations de grand diamètre où il contribue à l'eutrophisation (LADJEL, 2009).

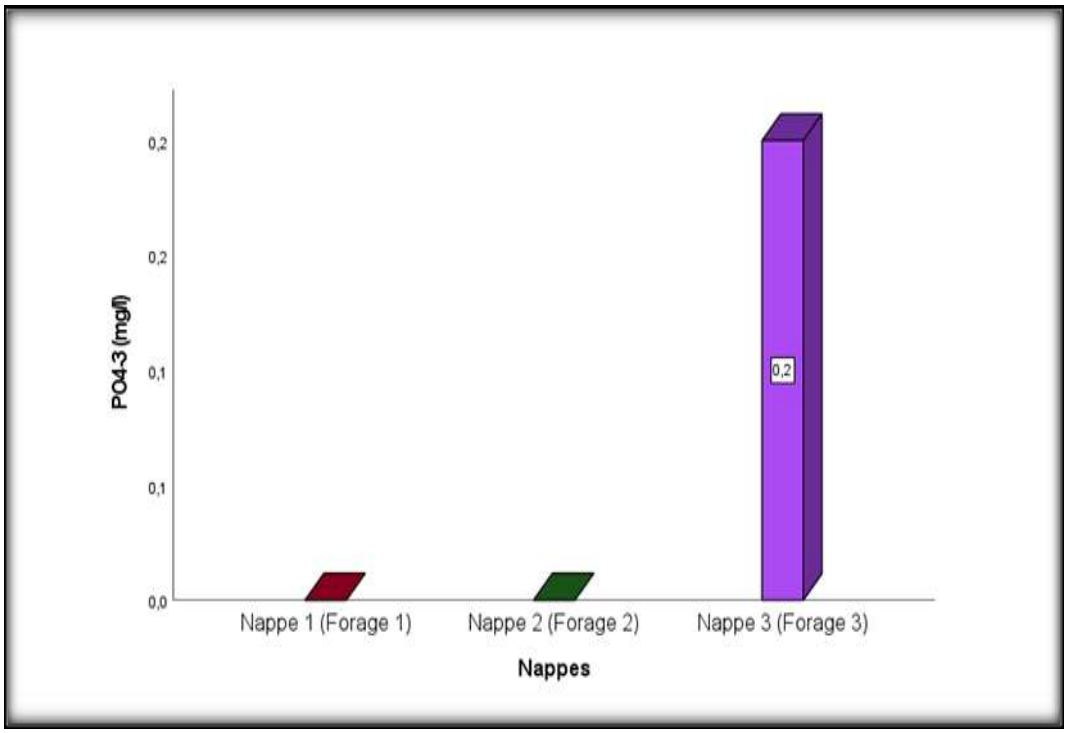


Figure 14A : Variation de taux d'orthophosphate entre les différentes nappes

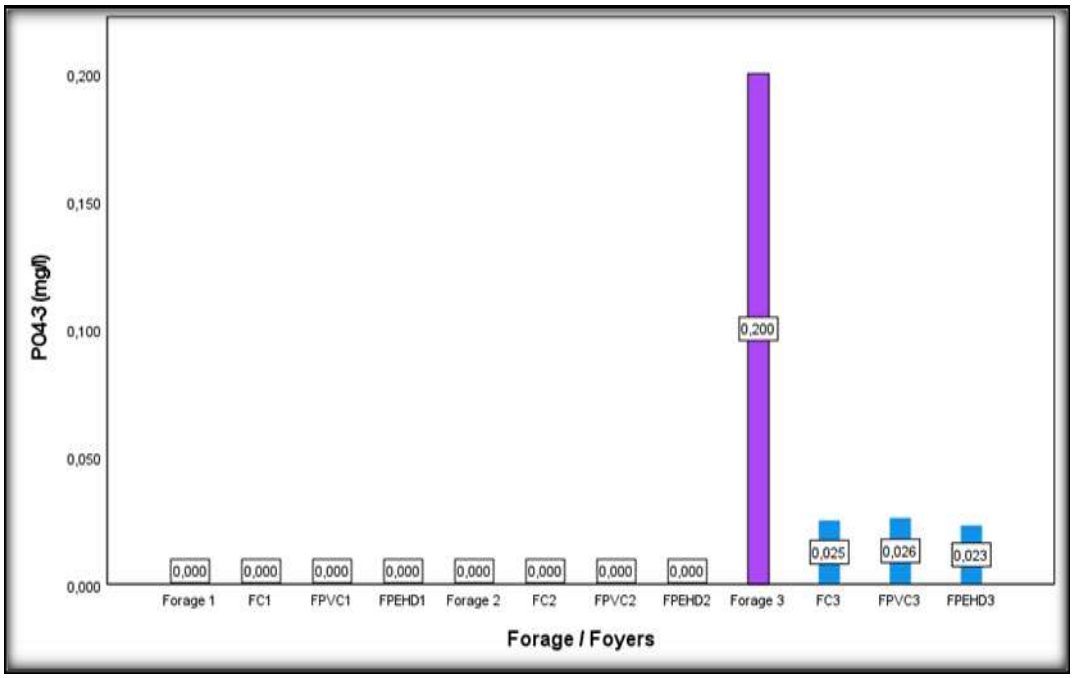


Figure 14B: Variation de taux d'orthophosphate entre forages et foyers

- **Calcium Ca^{+2}**

Le calcium est l'élément présent dans toutes les eaux naturelles (BENAMAR et *al*., 2011). C'est un métal alcalino-terreux extrêmement répandu dans la nature et en particulier dans les roches calcaires sous forme de carbonates. C'est un composant majeur de la dureté de l'eau. Les normes algériennes de potabilité pour le calcium sont fixées à 200 mg de Ca^{+2}/l (JORA, 2000). Les résultats (figure 15 A) de cette étude montrent que les valeurs de calcium mesurées varient d'une nappe à une autre, la plus grande valeur attribuée au forage de Sidi Khouiled, suivie par le forage de Elhdeb I, puis le forage de Bor-Elhaicha, la majorité des forages étudiés dépassent les normes en particulier ceux de la nappe sénonienne. Le calcium est généralement l'élément dominant des eaux potables. Sa teneur varie essentiellement suivant la nature de terrain traversé. Il existe surtout à l'état d'hydrogénocarbonates et en quantité moindre sous forme sulfate, chlorure, etc. (RODIER et *al*., 2005).Le calcium est fréquent dans les roches sédimentaires. Il provient essentiellement de la dissolution des roches carbonatées suite à la présence du gaz carbonique. Le calcium peut provenir également des formations gypsifères ($CaSO_4$, $2H_2O$) qui sont facilement solubles (DIB, 2009). L'influence du calcium de l'eau sur la santé humaine, a été souvent discutée. Des recherches et des études statistiques notent qu'il n'y aurait pas de relation dose-effet avec la teneur de cet élément dans l'eau.

Selon la figure 15 B, on note une diminution de taux de calcium dans tous nos échantillons de sources différentes (nappes et matériaux) entre forages et foyers. Cela pourrait s'expliquer par sa précipitation sous forme de tartre.

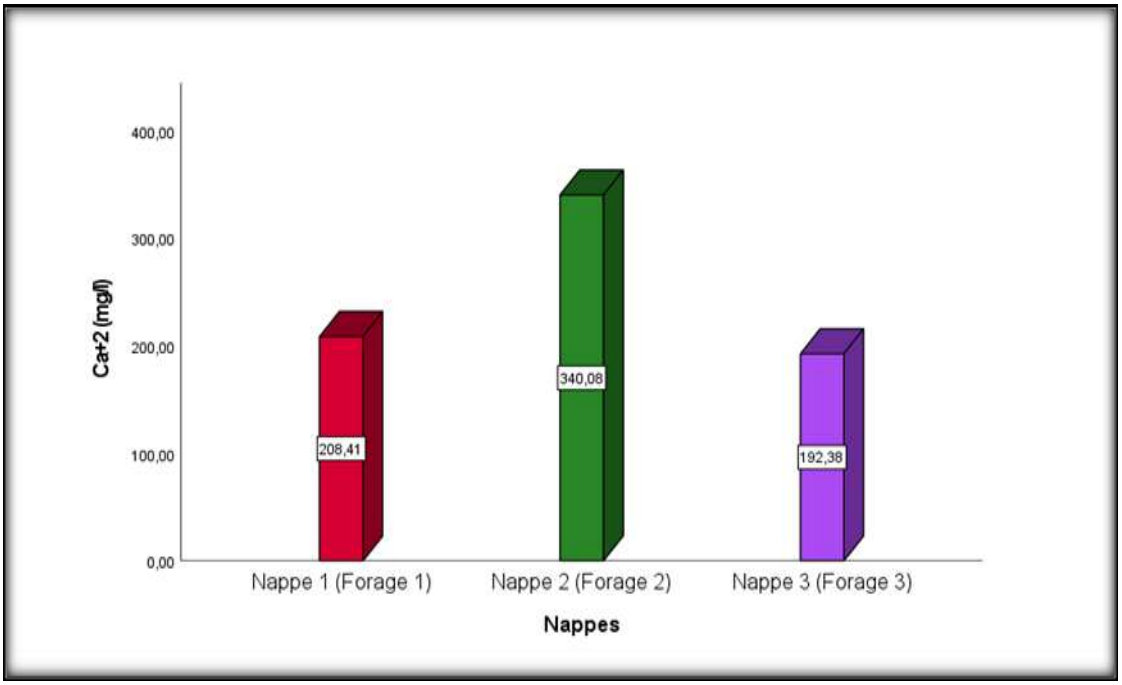


Figure 15A : Variation de taux de calcium entre les différentes nappes

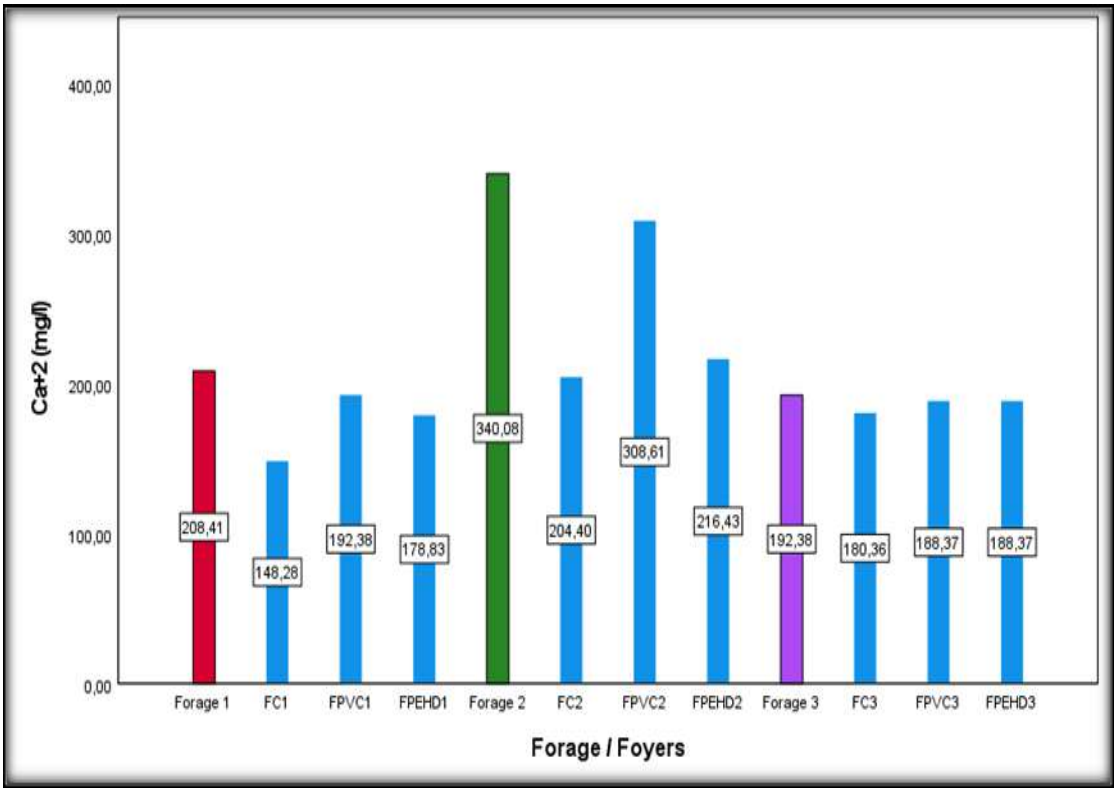


Figure 15B : Variation de taux de calcium entre forages et foyers

- **Magnésium Mg^{+2}et dureté totale TH**

Les résultats obtenus et illustrés dans la figure 16A montrent que le taux de magnésium et de la dureté totale diffère d'une nappe a une autre soit le maximum obtenu au forage de Sidi Khouiled (340.08 mg/l; 1540 mg/l $CaCo_3$), suivie par le forage de de Bor-Elhaicha (208.41 mg/l; 950 mg/l $CaCo_3$), puis le forage de Elhdeb I (192.38 mg/l; 620 mg/l $CaCo_3$) respectivement.

Une diminution du taux de magnésium est observé dans tous les échantillons (quel que soit la nature de conduit) prélevés à partir de la nappe Miopliocène et la nappe Sénonienne.

En revanche une augmentation est enregistrée dans les deux échantillons (FPVC1, FPEHD1) issus de la nappe Albienne, sauf dans l'échantillon FPVC1 où le taux de magnésium n'a pas changé lors de distribution entre forage et foyer (figure 16B)

Le magnésium (Mg^{+2}), un des éléments les plus répondus dans la nature, est présents dans les eaux étudiés à des teneurs relativement élevées. Cette présence s'explique par la grande solubilité de la plupart de ces sels dans l'eau et par son abondance géologique car il entre dans la composition des argiles qui constituent les formations imperméables et semi-perméables des toits et/ou des mures des horizons renfermant ces nappes. La variation du magnésium dans les eaux souterraines est due à l'influence des formations carbonatées telles que les calcaires, d'une part, et les formations salifères d'autre part comme les argiles et les marnes qui sont riche en Mg^{+2} (DIB, 2009). La plupart des sels de magnésium sont très solubles dans l'eau, même le carbonate peut être dissous jusqu'à 300 mg/l à 20°C. Le magnésium constitue un élément significatif de la dureté de l'eau. Il est présent sous forme de carbonates et d'hydrogénocarbonates. En zones arides, il a été constaté la consommation courante et sans problèmes majeurs pour les habitants, des eaux contenant 200 mg/l de magnésium avec des teneurs élevées en sulfates (RODIER et *al*., 2005).

Selon les normes de la dureté des eaux de boisson OMS (1972), pour un TH >54 °F l'eau est considéré comme très dure, ce qui nous laisse remarquer que tous les échantillons d'eau de la région de Ouargla, sont très durs. Ceci est confirmé par TABOUCH et ACHOUR (2004) qui déclarent que les eaux de la région orientale du Sahara septentrional, sont des eaux très dures, variant entre 59°F et 480°F pour la nappe Mio-pliocène, Sénonienne et Albienne.. La dureté totale a un caractère naturel lié au lessivage des terrains traversés et correspond à la teneur en calcium et en magnésium (HAKMI, 2006). Les eaux provenant de terrains calcaires ou surtout de terrain gypseux, peuvent avoir des duretés très élevées susceptibles d'atteindre 1g de $CaCO_3$/l (RODIER et *al*., 2005; FIGARELLA et LEYRAL, 2002).

La cinétique de l'eau durant son parcours, de sa source de production à la distribution, montre une variation et dans la plupart des cas tendant vers une diminution des valeurs de la dureté totale dans l'échantillon FC1 issus de la nappe Albienne et tous les échantillons provenant de la nappe Sénonienne et la nappe Mioplocène quelle que soit la nature de matériau de conduite. En revanche une augmentation de la dureté totale est enregistrée dans l'échantillon FPVC1 issus de la nappe Albienne. Quand à l'échantillon de PEHD relatif à la nappe albienne aucun changement de cette valeur observée entre forage et foyer (Figure 17B).

La dureté d'une eau, constitue un risque notable dans l'entartrage des canalisations. Pour une eau d'adduction, une dureté élevée contribue également à accroitre la consommation de savon (RODIER et *al*., 2005; HAKMI, 2006). Il a été démontré que les réservoirs, les réseaux et les points de puisage (robinet, pommes de douche) des conduites d'eau chaude sanitaire pouvaient, s'ils étaient entartrés, être favorables à l'accueil et à la prolifération des bactéries (MEGDOUD, 2003). Toutefois, certaines études, rapportent qu'il semble exister un pourcentage plus élevé de mortalité par affections cardio-vasculaires, dans les régions où sont distribuées des eaux douces. Les eaux dures peuvent limiter le transfert intestinal des ions métalliques toxiques comme le cadmium, le cuivre, le plomb, etc…, contrairement aux eaux douces (RODIER et *al*., 2005).

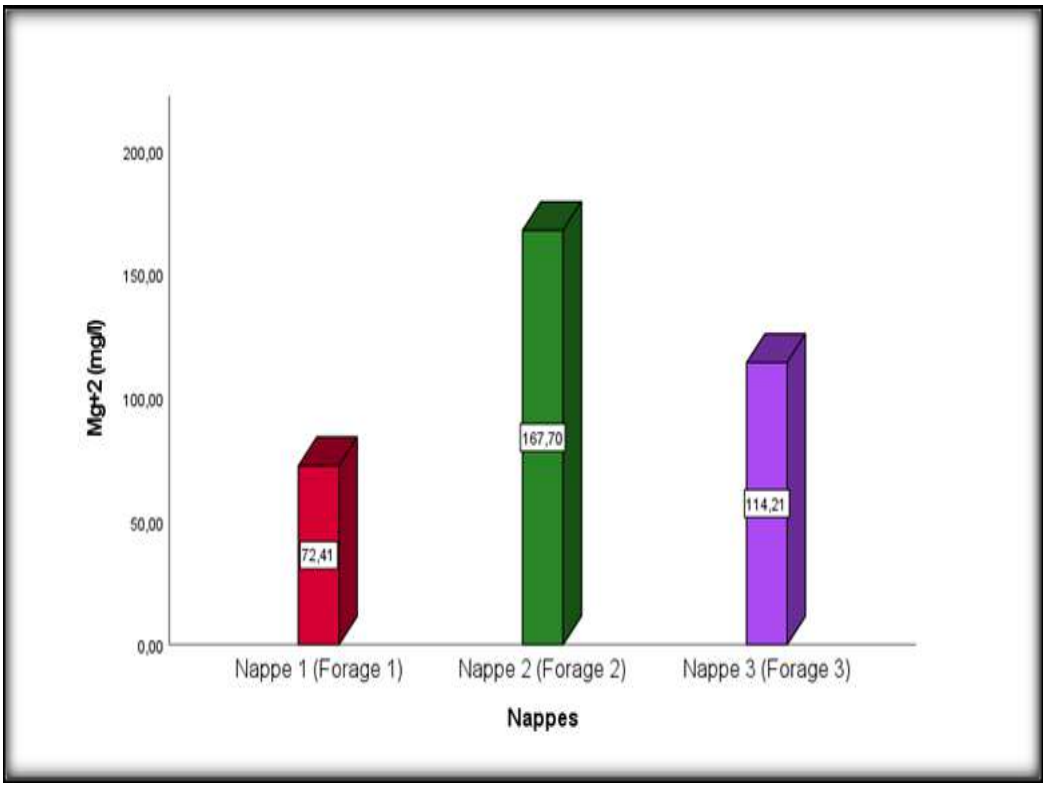


Figure 16A : Variation de taux de magnésium entre les différentes nappes

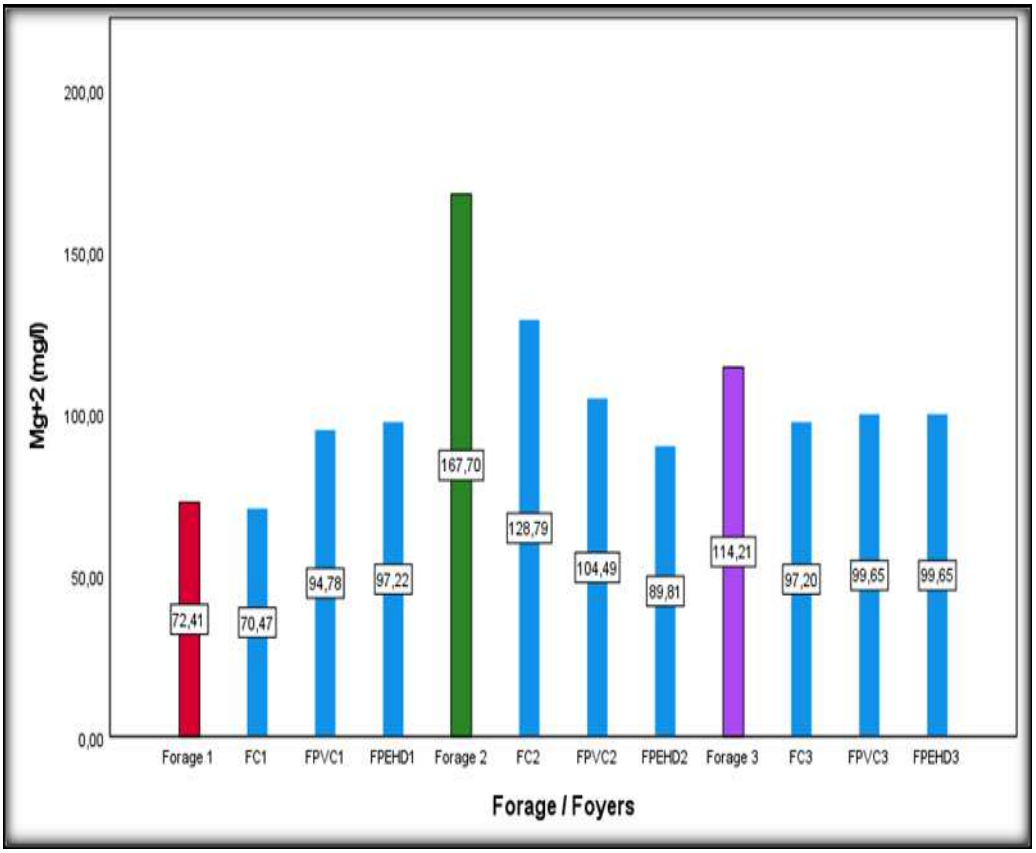


Figure 16B : Variation de taux de magnésium entre forages et foyers

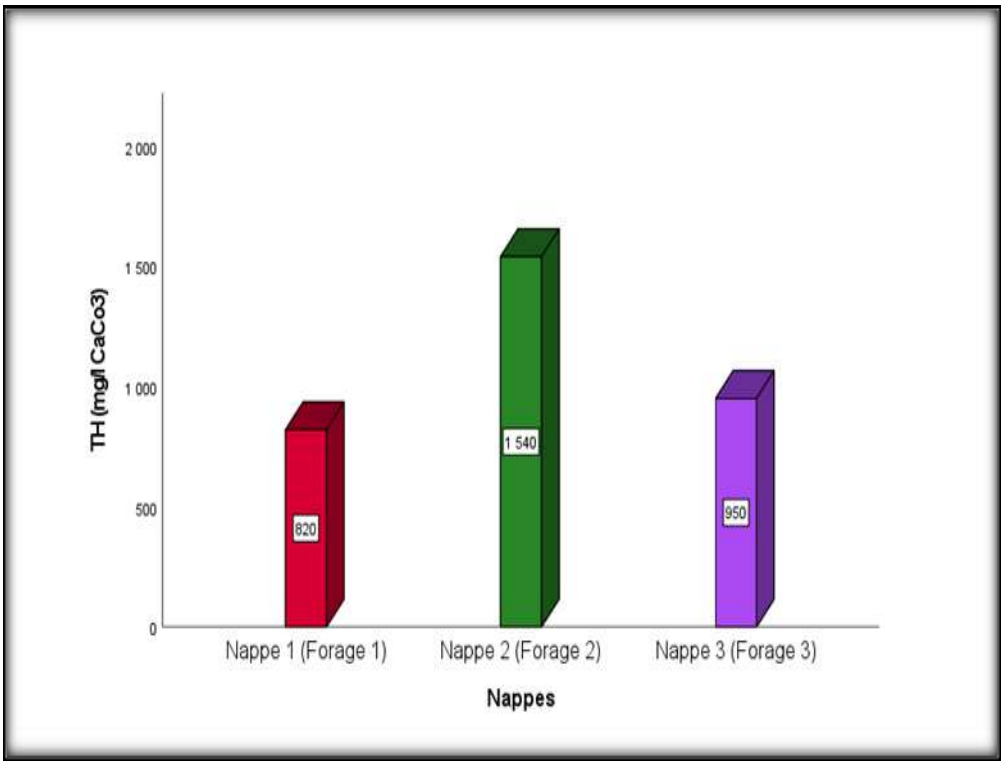


Figure 17A : Variation de la dureté d'eau entre les différentes nappes

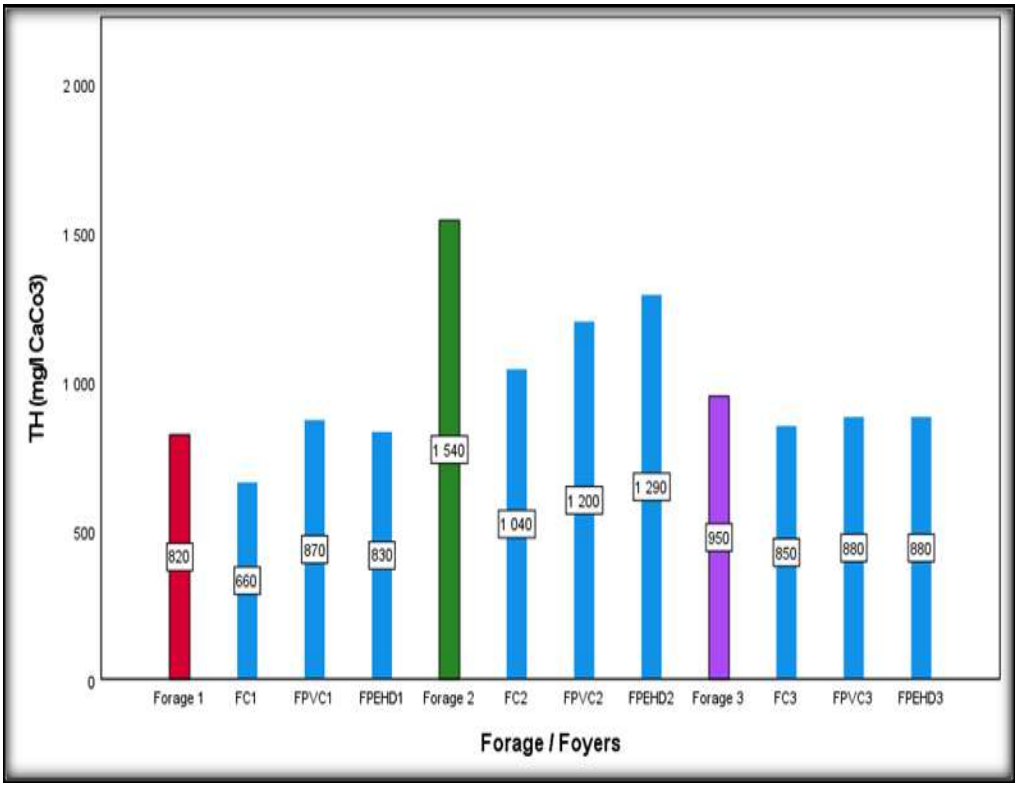


Figure 17B: Variation de la dureté d'eau entre forages et foyers

- **Sodium « Na^+ » et Potassium « K^+ »**

Les résultats montrent que le taux de Sodium et Potassium du forage sidi khouiled I, présente des valeurs plus élevées (500 et 35) mg/l respectivement par rapport aux deux autres forages de deux autres nappes qui ont des valeurs identique de 300 et 20 mg/l. Le potassium K^+ dépasse aussi les normes dans la plus part des forages étudiés (20 mg K^+/l) (JORA, 2000) (figures 18 A et 19A). Bien que dans les roches ignées, la teneur en potassium soit presque aussi importante que celle du sodium (RODIER et *al.*, 2005), avec la nature du terrain, c'est tout à fait le contraire, où le potassium est mineur par rapport au sodium (figure 18 A et 19A).
Le cation le plus dominant, dans les eaux des trois nappes, est le sodium (Na^+) dont la norme est de 200 mg/l. Le sodium est un élément constant de l'eau, toutefois, les concentrations peuvent être extrêmement variables, allant de quelques dizaines de milligrammes à 500 mg/l, mais son excès est plus remarquable dans la nappe sénonienne. Sa présence est liée, indépendamment de la lixiviation des formations géologiques contenant du chlorure de sodium, le sel peut provenir de la décomposition des sels minéraux comme les silicates de sodium et d'aluminium, des retombées d'origine marine, de la venue d'eaux salées dans les nappes aquifères, etc.. (RODIER et *al*., 2005).

Le potassium à faible dose ne représente pas de risques significatifs. Même des variations importantes de ces teneur de l'eau, n'auraient que des effets négligeables sur les concentrations de l'organisme (RODIER et *al*., 2005). Sa présence dans les eaux naturelles ne dépassent pas habituellement 10 à 15 mg/l. Le seuil de perception gustative du chlorure de potassium se situe à environ 20 fois cette valeur (FALL, 2008).

Concernant la nappe Albienne l'effet inverse de la variation du taux de Na^+ et celle de K^+ est noté dans tous les échantillons. Quant à la nappe sénonienne, une diminution des taux Na^+ et de K^+ est enregistrée dans tous les échantillons quel que soit la nature de matériaux.

Le cas de la nappe Miopliocène est différent. Nous avons noté une diminution de ces deux éléments dans l'échantillon FC3. Cependant une variation inverse est remarquée dans les échantillons FPVC3 et FPEHD3 (figure 18B et 19B).

Par ailleurs le traitement de l'eau peut ajouter du sodium en provenance du carbonate, de l'hydroxyde, du silicate et de l'hypochlorite de sodium. Dans l'état actuel des connaissances, il n'existe pas d'argument suffisant pour justifier la fixation d'une valeur indicative pour le sodium dans l'eau, pour la base d'un risque sanitaire (RODIER et *al*., 2005). Comme le corps possède des mécanismes très efficaces de régulation des teneurs en sodium du milieu interne, ce métal n'est pas fortement toxique aux concentrations où on le trouve normalement dans

l'environnement ou dans l'alimentation (FINBERG et *al*., 1963). Pour MONTIEL (1999), la présence exagérée de sodium dans les eaux peut affecter certaines populations (sujets souffrant d'hypertension par exemple), et peut aussi affecter certains sujets normaux (augmentation de la tension sanguine chez les adolescents).

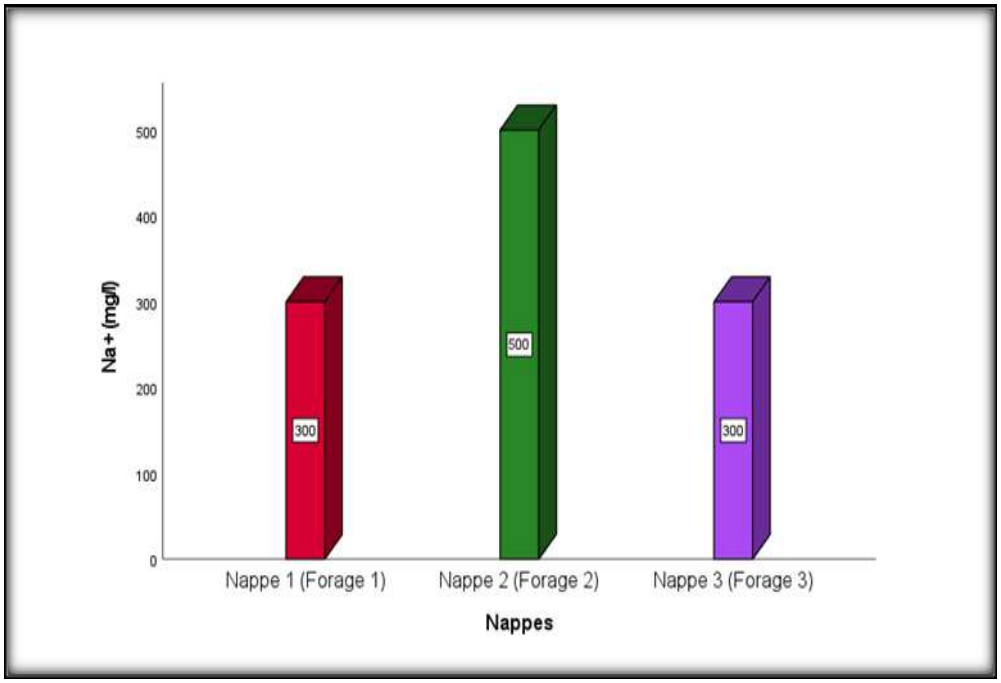


Figure 18A : Variation de taux de Sodium entre les différentes nappes

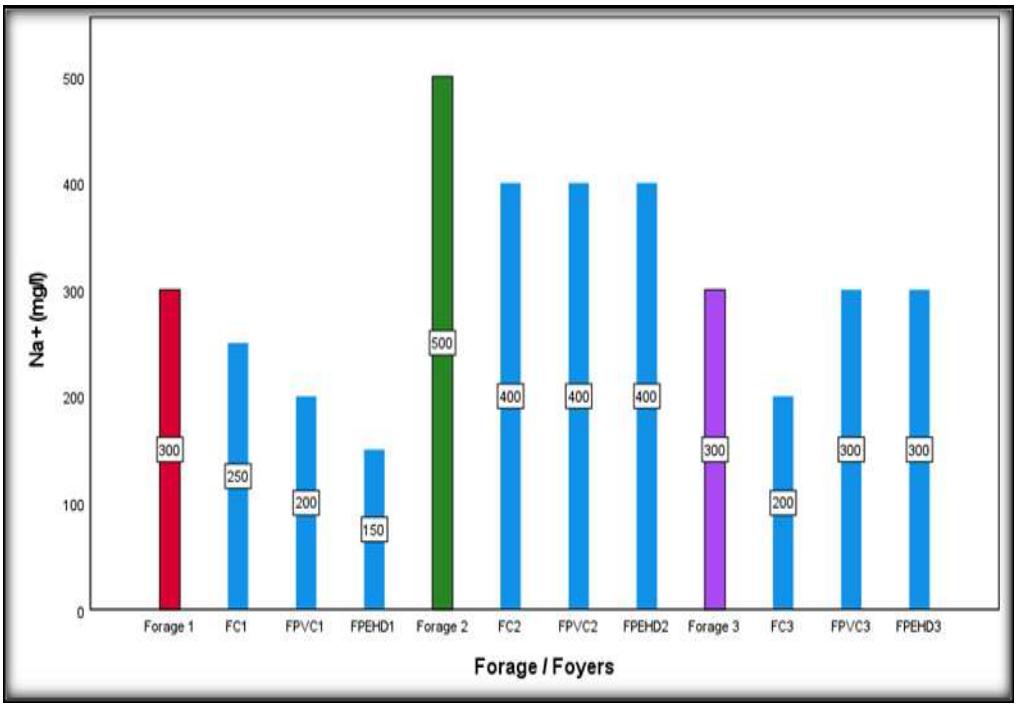


Figure 18B: Variation de taux de Sodium entre forages et foyers

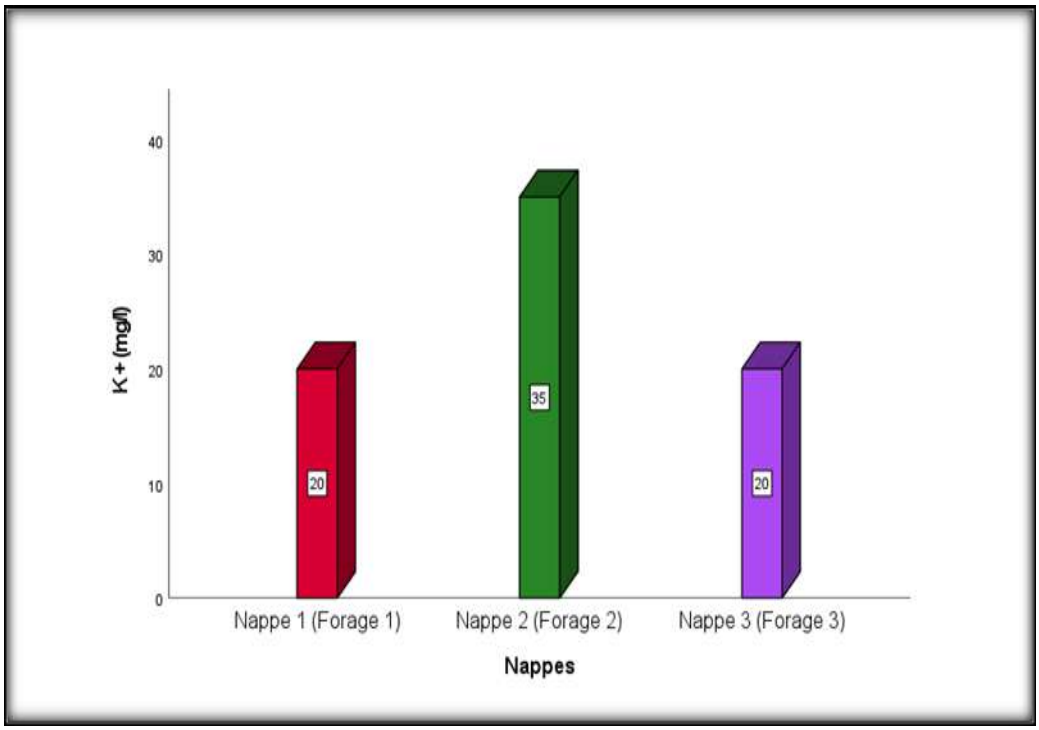


Figure 19A: Variation de taux de Potassium entre les différentes nappes

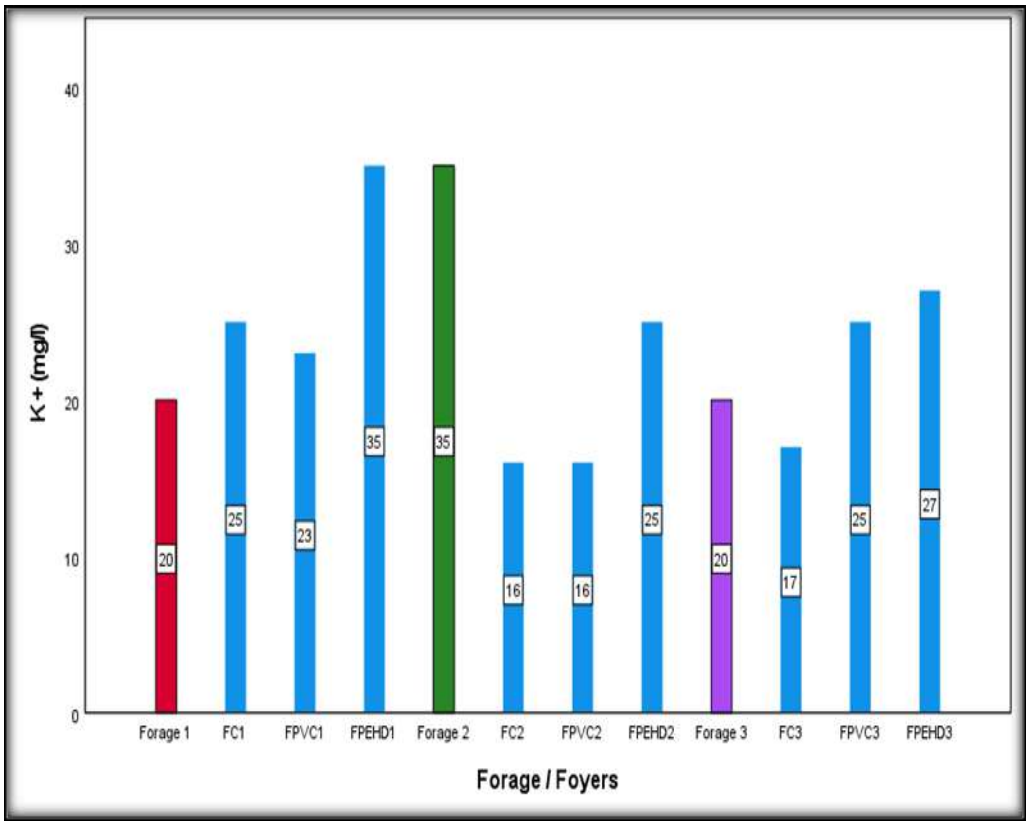


Figure 19B : Variation de taux de Potassium entre forages et foyers

- **Chlorures «Cl^-» et Sulfates « SO_4^{-2} »**

Selon les résultats obtenus le taux de chlorures et les sulfates dans les échantillons d'eau étudiés sont variables d'une nappe à une autre. Les plus grandes valeurs sont attribuées au forage de Sidi Khouiled, suivi par le forage de Bor-Elhaicha, puis le forage de Elhdeb I (figure 20B). Les chlorures Cl^- sont le plus souvent des anions dominants, est également en excès par rapport à la norme. Les normes de potabilité algériennes, fixent 200 mg/l et la concentration maximale admissible est de 500 mg/l ces ions ont comme origine la dissociation de la roche, mais certains peuvent s'introduire par intrusion à partir de l'extérieur. Pour TABOUCHE et ACHOUR (2004), les ions dominants dans les eaux souterraines de la région orientale du Sahara septentrional algérien sont le plus souvent les chlorures et les sulfates ainsi que le calcium et le magnésium. Pour RODIER et *al*. (2005), les teneurs en chlorures des eaux sont extrêmement variées et sont liées principalement à la nature des terrains traversés. Leurs teneurs dans les eaux naturelles sont susceptibles de subir des variations en zones arides suite au lessivage superficiel en cas de fortes pluies. Elles peuvent avoir comme origine, selon DIB (2009), une contamination par les eaux usées. L'inconvénient majeur des chlorures, est la saveur désagréable, qu'elles communiquent à l'eau à partir de 250 mg/l (OMS, 1993; WHO, 2008).GUERGAZI et ACHOUR (2005), ont observé une forte concentration en chlorures dans des eaux souterraines traitées, de réservoir et de réseau de distribution de la région de Biskra de 128 mg/l à 1391 mg/l. Cet élément provoque un goût désagréable dans les eaux de consommation et les rendent corrosives vis-à-vis des conduites et des réservoirs (GUERGAZI et ACHOUR, 2005; DIB, 2009). Elles sont aussi nocives pour les plantes. Cet élément provoque aussi l'augmentation du chlore résiduel lors de la chloration d'une eau chargée en matière organique selon GUERGAZI et ACHOUR (2005). Les teneurs en sulfates SO_4^{-2} dont la norme est de 500 mg/l (JORA, 2000) sont aussi en excès pour la plupart des forages échantillonnés (figure 21A). La concentration en ions sulfates des eaux naturelles, est très variable, peut être largement dépassée dans les zones contenant du gypse ou lorsque le temps de contact avec la roche est élevé (RODIER et *al*., 2005; DIB, 2009). Une diminution de taux de chlorures a été notée presque dans tous les échantillons relatifs aux nappes Albienne et Miopliocène.

Cependant pour la nappe sénonienne une diminution de taux Cl^- n'est remarquée que dans l'échantillon FC2, pendant que nous enregistrons une augmentation importante dans l'échantillon FPVC2 à cause probablement de la composition de ce matériau (figure20B)

Quand aux ions $SO4^{-2}$ leurs taux diminuent dans tous les échantillons de sources différentes (nappes et matériaux) du forage au foyer (figure21B).cette diminution semble être due à leur précipitation.

La présence de sulfate en quantité supérieure à 300 mg/l peut entrainer dans certaines conditions l'altération des matériaux de construction (corrosion des réservoirs de stockage) et accélérer la corrosion du fer (RODIER et *al.*, 2005).

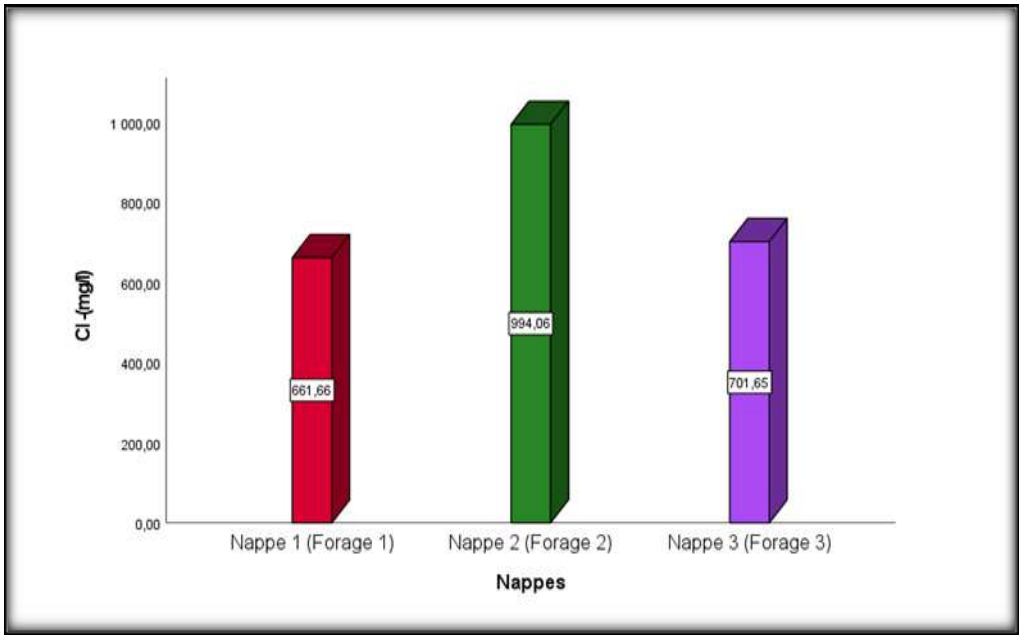


Figure 20A: Variation de taux de chlorures entre les nappes

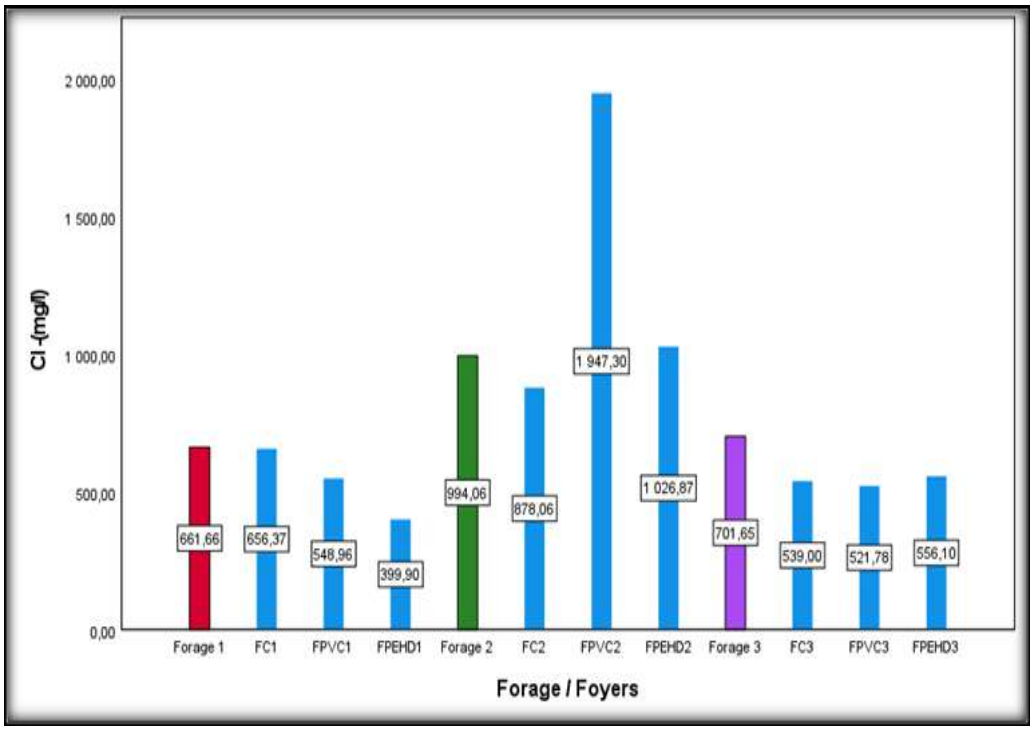


Figure 20B: Variation de taux de chlorures entre forages et foyers

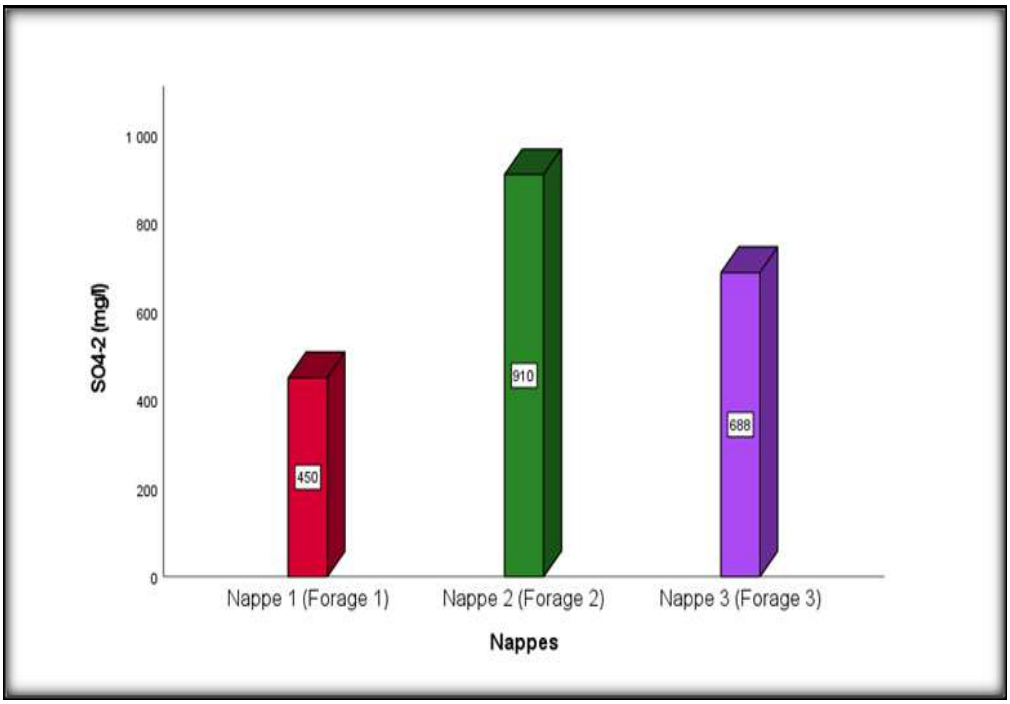


Figure 21A: Variation de taux des sulfates entre les différentes nappes

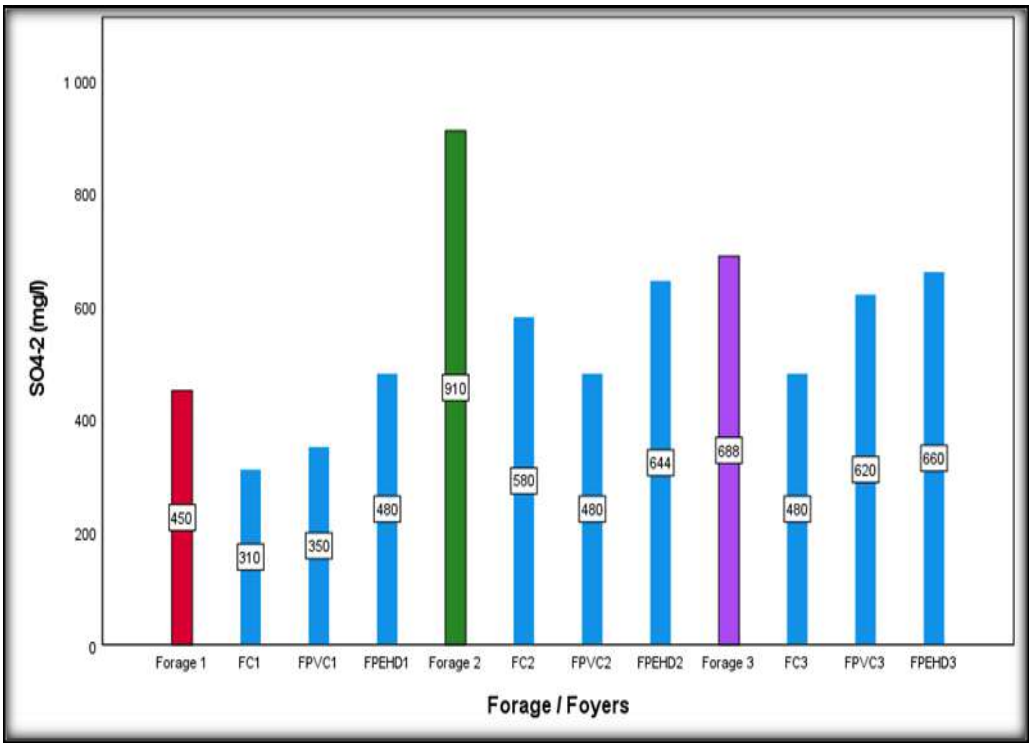


Figure 21B: Variation de taux des sulfates entre forages et foyers

- **Hydrogénocarbonates« HCO_3^-» et le Titre alcalin complet « TAC »**

Selon les résultats obtenus (figures 22A et 23A) les taux des hydrogénocarbonates et le Titre alcalin complet (TAC) sont variables d'une nappe à une autre. Les plus grandes valeurs sont attribuées au forage de Elhdeb I, suivi par le forage de Bor-Elhaicha, puis le forage de Sidi Khouiled.

L'évolution des hydrogénocarbonates est couplée à l'évolution de l'alcalinité, car ce sont les bicarbonates qui donnent le caractère alcalin aux eaux domestiques de la cuvette de Ouargla.

L'origine des bicarbonates, est la dissolution des roches carbonatées et gypsifères (DIB, 2009).

La variation des taux de HCO_3^- et de TAC entre forage est foyer est très fluctuante. Ces taux diminuent dans tous les échantillons issus de la nappe Sénonienne quel que soit la nature de matériau utilisé ainsi que dans les échantillons EPVC3 et EPEHD3 relatifs à la nappe Miopliocène. Par contre une augmentation de ces taux est constatée dans les échantillons FC1 et FPVC1 issus de la nappe Albienne. Pour les échantillons (FPEHD1, FC3) aucune variation n'est enregistrée (figures 22B et 23B).

les éléments Ca^{2+}, Mg^{2+} et HCO_3^- sont liés à la dissolution des carbonates (FEHDI et *al.*, 2009)

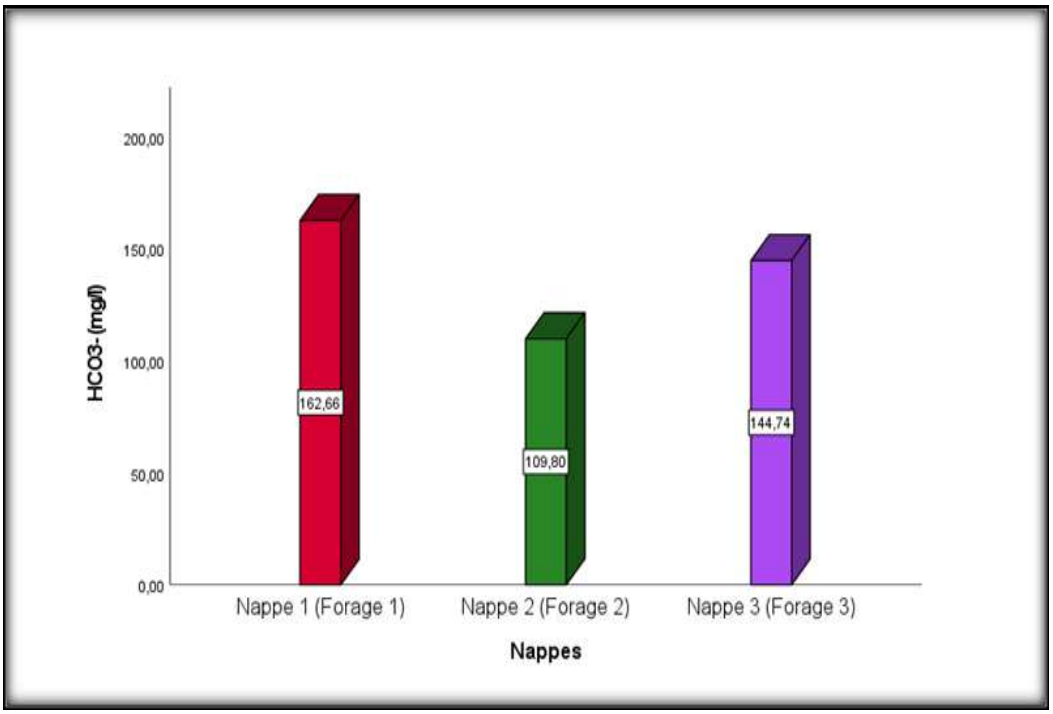


Figure 22A: Variation de taux des hydrogénocarbonates entre les différentes nappes

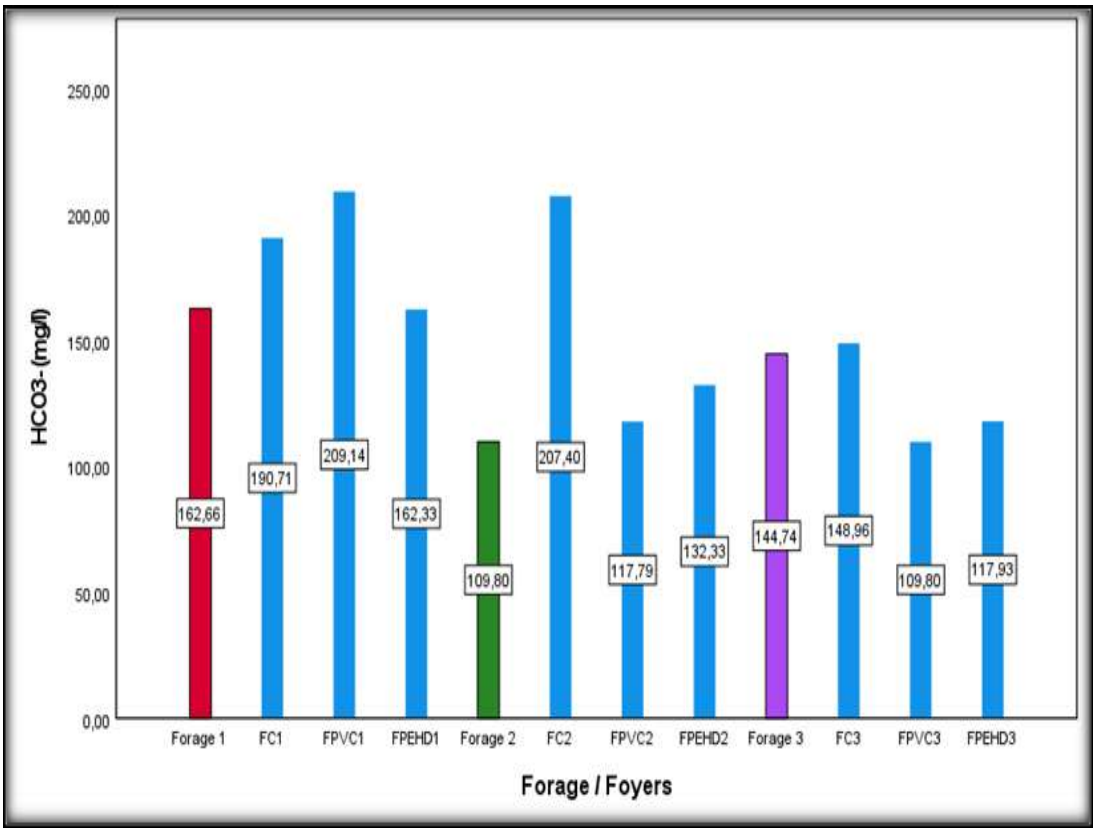


Figure 22B: Variation de taux des hydrogénocarbonates entre forages et foyers

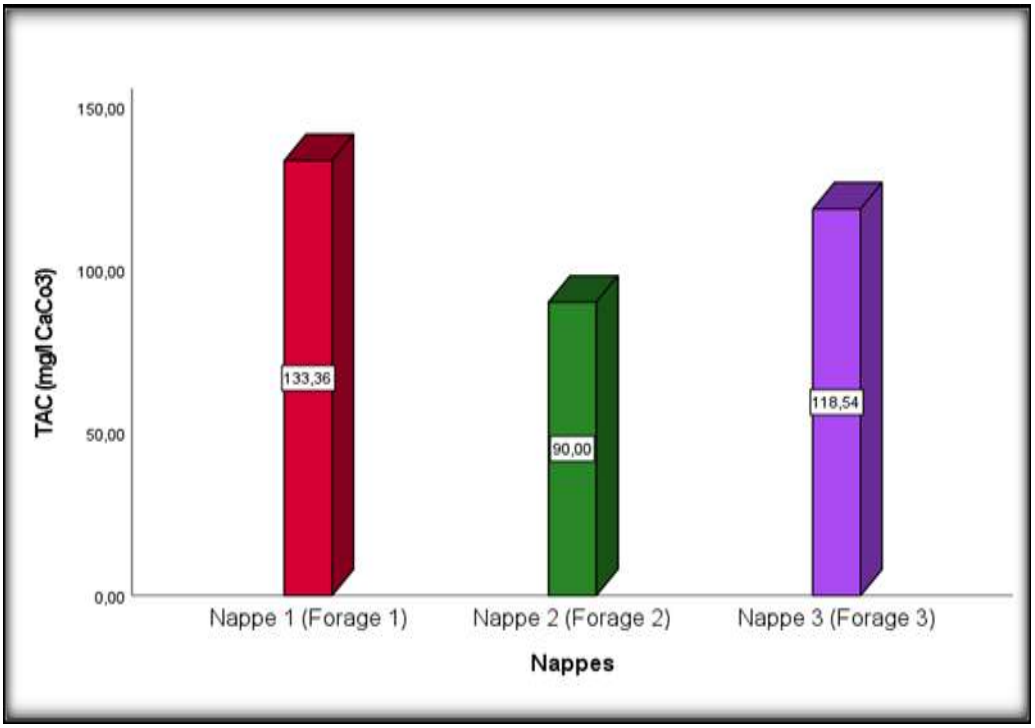


Figure 23A : Variation de titre alcalin complet entre les différentes nappes

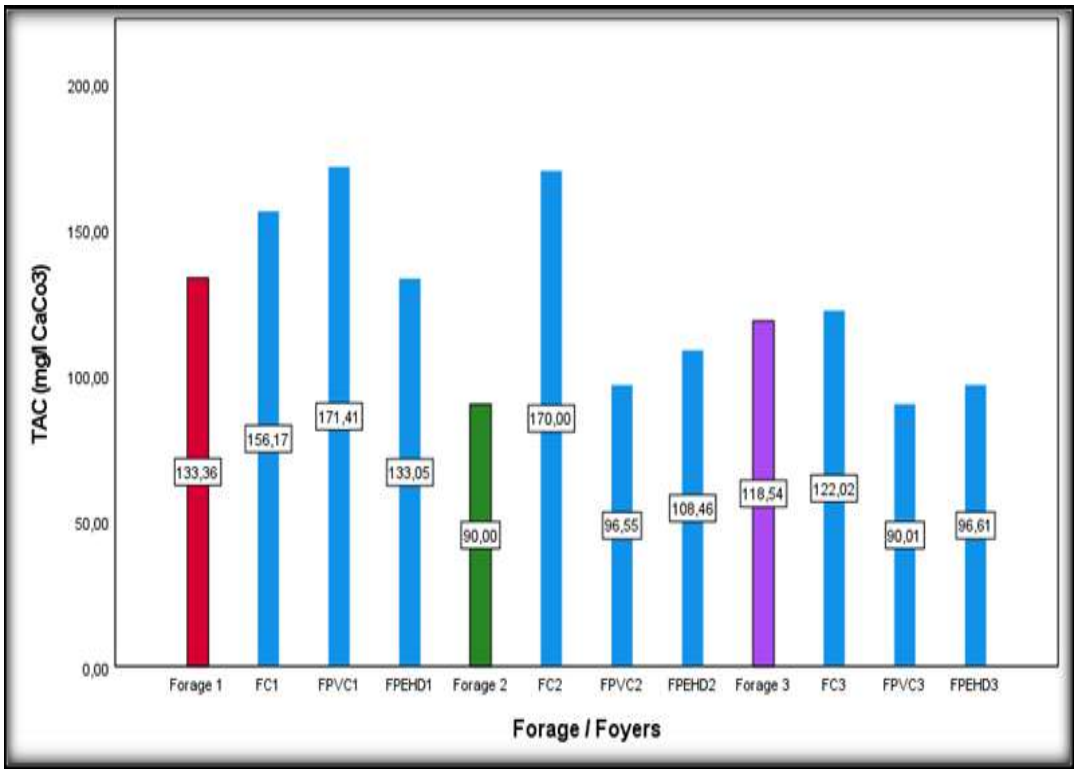


Figure 23B: Variation de titre alcalin complet entre forages et foyers

- **Minéralisation globale**

Les résultats obtenus montrent que la minéralisation globale dans nos échantillons est variable d'une nappe à une autre. Les plus grandes valeurs sont attribuées au forage de Sidi Khouiled, suivi par le forage de Bor-Elhaicha, puis le forage de Elhdeb I (figure 24A).

Nous remarquons une diminution de cette minéralisation au niveau des foyers excepté pour les deux échantillons FPVC1 et FPEHD2 où elle reste constante (figure 24 B).

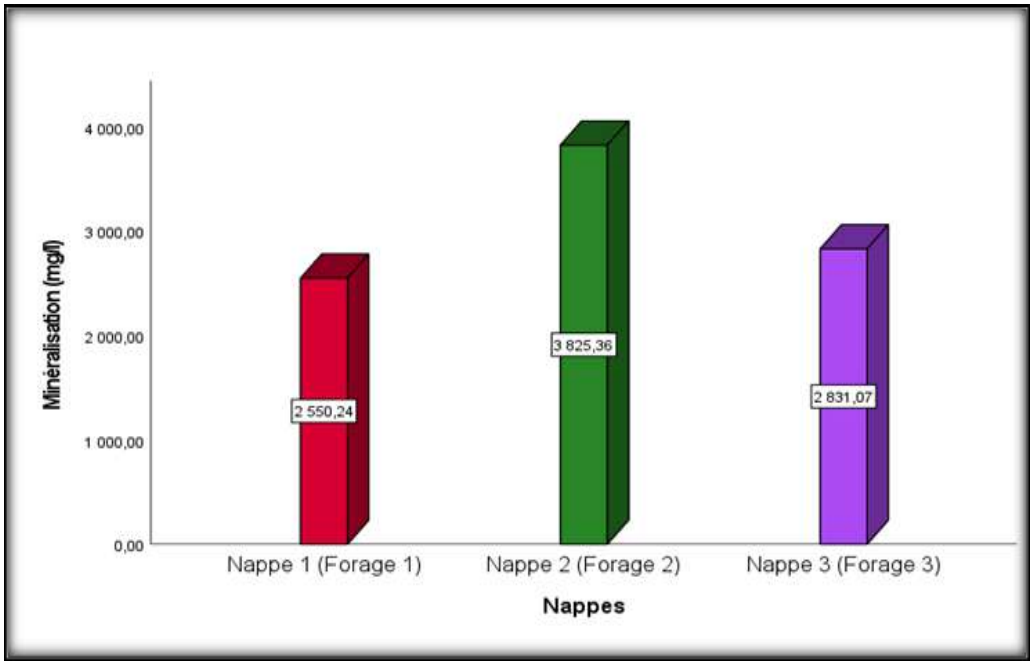


Figure 24A: Variation de la minéralisation globale entre les différentes nappes

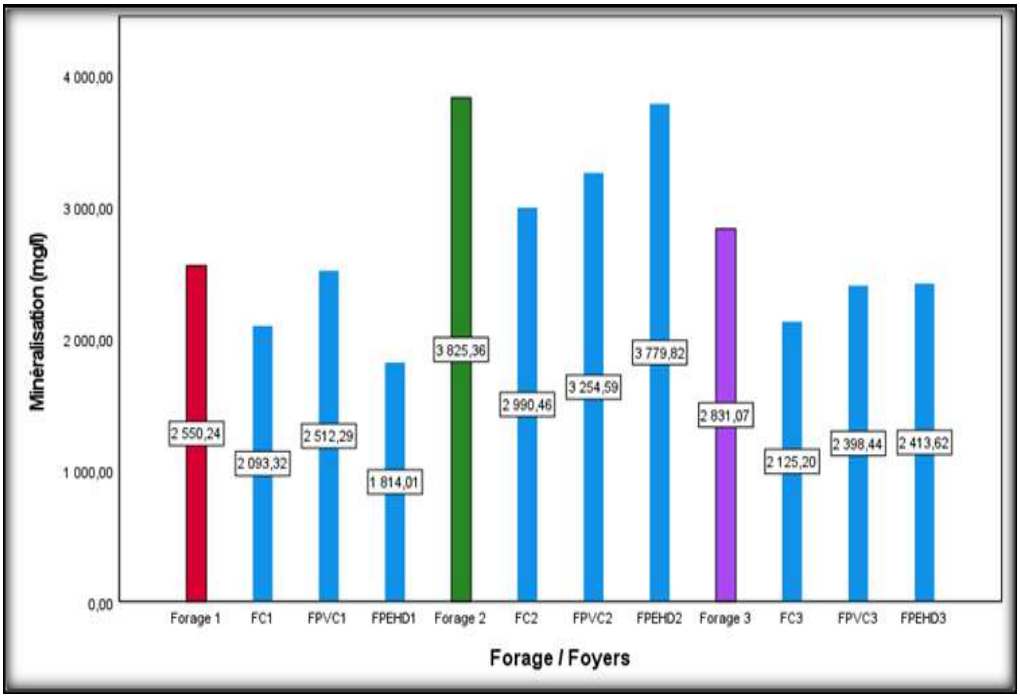


Figure 24B: Variation de la minéralisation globale entre forages et foyers

La température a un effet sur la qualité des eaux, elle peut provoquer une évaporation et une dissolution des sels et des gaz d'où l'augmentation de la minéralisation, de la conductivité électrique et du CO_2 pendant le stockage et la distribution (BOEGLIN, 2000). Elle accélère la plupart des réactions physico-chimiques et biologiques dans le réseau. Elle influence la croissance bactérienne et dissipe l'effet du désinfectant résiduel (CELERIER et FABY, 1998). En plus de la température, les paramètres hydrauliques du réseau, semble participer à la variation de la minéralisation, la dégradation ou le maintien de la qualité physico-chimique et hygiénique. La conservation de la qualité de l'eau, est facilitée par la réduction du temps de séjour dans le réseau (CELERIER et FABY, 1998). Pour SQUINAZI (2004), il faut éviter la stagnation et assurer une bonne circulation de l'eau, lutter contre l'entartrage et la corrosion, par une conception et un entretien adapté à la qualité de l'eau. Certains volumes d'eau peuvent stagner plus d'une dizaine de jours dans des zones du réseau où l'écoulement est faible ou bien la demande en eau quasiment nulle (en périodes de vacances par exemple) (CELERIER et FABY, 1998). Plusieurs facteurs participent à la dégradation de la qualité de l'eau dans les réseaux intérieurs de distribution ; eaux stagnantes ou vitesse de circulation insuffisante, bras morts ou boucles, température entre 25°C et 50°C, dépôts et concentrations de tartre, vieillissement des installations, entretien insuffisant... (SQUINAZI, 2004). Certaines études rapportent que les problèmes de stagnation favorisent la corrosion et les dépôts apparaissent dès que la vitesse de l'eau, est inférieure à 0.01 m/s et disparaissent au-delà de 0.1 m/s. Lors de la conception de réseaux, le diamètre de canalisation, est calculé à partir des débits de pointes horaires. Il est conseillé des valeurs guides d'écoulement entre 0,5 et 1,5 m/s.

III.1.2. Qualité microbiologique

L'eau est la source courante potentiellement la plus importante de maladies infectieuses, et sa purification est l'unique mesure permettant d'assurer la santé publique. Les méthodes les plus fréquemment employées pour déterminer la qualité de l'eau dépendent de techniques microbiologiques normalisées. Comment assurer, en routine, que l'eau potable est sans danger ? Même l'eau d'apparence limpide et propre peut être contaminée par les microorganismes pathogènes et se poser de sérieux risques pour la santé. Malheureusement, il est impossible de passer au crible d'eau pour détecter tous les organismes pathogènes susceptibles d'être présents, et d'ailleurs quelques microorganismes non pathogènes sont en général tolérables, et même inévitables, dans un circuit de distribution. Il est cependant possible d'analyser l'eau distribuée pour y rechercher la présence de certains groupes de microorganismes pouvant compter des pathogènes. (MADIGAN et *al*, 2007).

L'analyse bactériologique de ces eaux a révélé l'absence de germes pathogènes. On note l'absence totale de coliformes fécaux (représentés par l'espèce indicatrice *E.coli*), ainsi que l'absence d'anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) et de selmonelles et de vibrio, dans l'ensemble des échantillons prélevés, d'origines différentes, destinées à la consommation humaine. L'eau potable est le produit alimentaire faisant l'objet de la surveillance la plus fréquente et la plus complète. D'une façon idéale, l'eau potable ne doit contenir aucun microorganisme pathogène et doit être exempte de toutes bactéries indiquant une pollution par excrément. (FIGARELLA et LEYRAL, 2002).

L'absence des indicateurs de contamination, dans les eaux distribuées dans la cuvette de Ouargla implique l'absence des germes pathogènes. Certes, pour LADJEL (2009), quand il n'y est pas de protection, l'eau naturelle est sujette à la pollution. Elle peut être porteuse d'une masse importante de contamination fécale d'origine de rejets domestiques. Cette contamination est caractérisée par une charge microbienne importante.

D'après VAN DER KOOIJ (2003), l'absence des indicateurs de pollution ne garantit pas toujours la bonne qualité hygiénique. La méthode de recherche d'indicateurs, présente des limites, ce qui nécessite l'utilisation et le développement des méthodes de biologie moléculaire pour créer des méthodes spécifiques et rapides à la détection d'une large variété de bactéries, virus, et parasites (séquençage).

Au niveau des examens bactériologiques, il faut noter que la présence de microorganisme d'origine et d'appartenance taxonomique très variées n'entraine pas obligatoirement la manifestation clinique de maladies redoutées. Comme pour les substances chimiques, intervient la notion de dose. De nombreuses expériences ont montré qu'il faut en général absorber un grand nombre de microorganismes pour que la maladie se manifeste, mais il n'a pas été possible d'établir une dose minimale infectante précise (RODIER et *al*., 2005). Il est admissible qu'il y a une pollution non spécifiée dans le réseau. Car l'eau sortant des forages en bonne qualité bactériologique d'où l'absence de genres (bactérie) de contamination, peut être interprétée soit comme une multiplication interne de bactéries existant à l'entrée du réseau, soit comme une intrusion de l'extérieur dans celles-ci, au niveau des réservoirs ou des canalisations. Les bactéries mésophiles par augmentation de leur nombre, peuvent être indicatrices de pollution (ROBERT, 1999). Le développement d'un biofilm sur la paroi des canalisations est un phénomène inévitable. DJELLOULI et TALEB (2005), notent que l'entartrage des conduites d'eau, est la cause de la qualité d'eau dure, comme les eaux distribuées dans la cuvette de Ouargla. Il est un support favorable à la réception et à la prolifération des micro-organismes pathogènes. Ces derniers peuvent être la cause de

maladies d'origine hydrique pouvant conduire à des épidémies telles que le choléra, la fièvre typhoïde, et la dysenterie pouvant entraîner la mort. En milieu entartrant, l'action des désinfectants peut être inefficace, car les microorganismes peuvent être protégés par les dépôts présents (RICHARD, 1996; DJELLOULI et TALEB, 2005). La très grande majorité des germes aérobies mésophiles totaux qui a été retrouve dans l'eau potable par LEVALLOIS (2003), sont non pathogènes. Cependant, certaines espèces peuvent être des pathogènes opportunistes. C'est-à-dire qu'elles peuvent causer des infections chez des individus dont le système immunitaire, est affaibli. Les études épidémiologiques qui ont tenté de démontrer un lien entre les concentrations en bactéries aérobies mésophiles totaux dans l'eau de consommation et les effets sur la santé, n'ont pas permis d'obtenir des conclusions probantes. Certains auteurs ont émis des inquiétudes en rapport le risque pour la santé publique associé à la présence éventuelle dans l'eau potable, de bactéries potentiellement pathogènes. Il est à citer à titre d'exemple *Pseudomonas aeruginosa* qui cause d'importantes infections nosocomiales (LEVALLOIS, 2003) et produit certains goûts de sulfure (OIEAU, 1999a et b). *Aeromonas sp.*, un genre susceptible de causer de la diarrhée, ou encore *Legionella pneumophila* est responsable de la légionellose et de la fièvre de Pontiac. À la lumière de la littérature actuelle, il semble que le risque en lien direct avec l'exposition aux germes aérobies mésophiles dans l'eau potable, que ce soit par ingestion ou par inhalation, est probablement faible ou inexistant pour les personnes en bonne santé. Par ailleurs, le risque est potentiel, mais non démontré, pour les personnes immunodéprimées, ainsi que pour les très jeunes enfants et les personnes âgées (LEVALLOIS, 2003).

Il est admis que l'écoulement de l'eau limite la croissance bactérienne par un effet d'arrachage du biofilm. Ainsi, la qualité microbiologique de l'eau peut se dégrader avec une augmentation de la vitesse d'écoulement, surtout lorsque celle-ci est brusque. Une demande élevée de l'eau en été (arrosage, piscines, etc.) peut aussi entraîner une dégradation de la qualité de l'eau pour la même raison (CELERIER et FABY, 1998).La stagnation de l'eau dans les réservoirs du réseau de distribution, peut entrainer une augmentation spectaculaire de bactéries totales, pouvant aller de 10 à 10000 fois le chiffre initial. Ce phénomène se produit, en particulier, lorsque le résiduel de chlore libre disparait de l'eau stockée (HASLAY et LECLERC, 1993; FIGARELLA et LEYRAL, 2002).

Selon MAUL et *al.* (1989) et GAUTHIER (2002), à côté des germes hétérotrophes banaux isolés du genre *Pseudomonas, Aeromonas, Flavobacterium* ..., des coliformes potentiellement pathogènes comme les *Legionella,* des bactéries de la corrosion comme des *Ferrobacteries,* sont aussi mises en évidence. Les interventions sur le réseau, peuvent contribuer aussi à la

contamination plus ou moins importante du système de distribution (MAUL et *al.*,1989). Les paramètres contrôlant la prolifération bactérienne des réseaux, sont nombreux et la température apparait comme l'un des paramètres clés, pour l'explication d'une prolifération estivale des bactéries du réseau (MAUL et *al*., 1989). Toutefois, c'est la matière organique biodégradable qui a fait l'objet de la plupart des recherches récentes, car la croissance des bactéries hétérotrophes ne peut avoir lieu qu'en présence de matières organiques (VAN DER KOOIJ, 1982; MAUL et *al.*, 1989). La croissance des bactéries à partir de concentrations de matières organiques aussi faibles que le milligramme par litre, est tout à fait possible, et a été démontrée pour de très nombreux microorganismes comme *Escherichia coli*, *Legionnella pneumophila*, etc. (MAUL et *al*., 1989).

De même le maintien d'un résiduel de chlore dans un réseau de distribution, est souvent souhaité pour limiter la prolifération bactérienne de bactéries hétérotrophes et pour limiter les risques de post contamination dus à des accidents de distribution (MAUL et *al*., 1989). MAUL et *al*. (1989), signalent une relation négative entre la concentration en chlore résiduel et le nombre de bactéries capables de se multiplier sur gélose. Selon DESJARDIN (1990), SINGLETON (2005) et ELLIOUA (2010). Les bactéries fixées à la paroi des tuyaux de distribution, apparaissent très protégées de l'action du chlore. A des doses de chlore égales, les bactéries en suspension dans l'eau, sont plus sensibles que les bactéries de biofilm (MAUL et *al*., 1989).

Le taux de désinfectant nécessaire pour le contrôle de l'activité microbienne, peut dépendre de l'instabilité biologique microbienne. De même les conditions locales (composition de l'eau, le volume du réseau de distribution, la température de l'eau), ont aussi une grande influence. La température de l'eau, suivie d'autres variations et le temps de séjour, a un impact sur l'activité microbienne. Elle augmente à 100% quand la température augmente de 10°C. Des études réalisées sur des réseaux de distribution d'eau potable d'assez grande étendue, ont permis l'observation de variations de la qualité microbiologique des eaux transportées le long du système de distribution (MATHIEU et *al.*, 1998; SERVAIS et *al*., 1995). Ces variations sont dues à l'augmentation du temps de séjour de l'eau dans le réseau qui s'accompagne de celle de la densité bactérienne (sauf quand présence de postes de rechloration sur le réseau).

III.2. Diversité des bactéries cultivables dans les biofilms étudiés

III.2.1. Isolement de souches bactériennes des biofilms :

Le tableau 6 regroupe toutes les souches que nous avons pu isoler des biofilms contenus dans les différents réseaux de distributions échantillonnés.

Tableau 6 : Souches bactériennes isolées des biofilms

Echantillon / N° de colonie	Milieux de culture		
	TS	**R2A**	**Drygalski**
SC6M	∅	∅	∅
SPV6M			
SPE6M			
SC12M			
SPV12M			
SPE12M			
SC20A	S_1	∅	
SPV20A	S_2 ; S_3 ; S_4	S_2` ; $S_3$`	
SPE20A	S_5 ; S_6 ; S_7 ; S_8	S_5` ; $S_6$`	
MC6M	∅	∅	
MPV6M			
MPE6M			
MC12M			
MPV12M	S_9 ; S_{10} ; S_{11}	S_9` ; $S_{10}$`	
MPE12M	S_{12} ; S_{13} ; S_{14}	S_{12}` ; $S_{13}$`	
MC20A	∅	∅	
MPV20A	S_{15} ; S_{16} ; S_{17}	S_{15}` ; $S_{16}$`	
MPE20A	S_{18} ; S_{19} ; S_{20} ; S_{21} ; S_{22}	S_{18}` ; $S_{19}$`	
AC6M	∅	∅	
APV6M			
APE6M			
AC12M			
APV12M	S_{23}	S_{23}`	
APE12M	∅	∅	
AC20A			
APV20A	S_{24} ; S_{25} ; S_{26} ; S_{27} ; S_{28}	S_{24}` ; $S_{25}$` ; S_{26}`	
APE20A	S_{29} ; S_{30} ; S_{31} ; S_{32} ; S_{33}	S_{29}` ; $S_{30}$`	

∅*=aucune souche n'a poussé dans ce milieu*

EX. S_1 et S_1` *des souches identifiées par deux milieux différents mais qui ont les mêmes caractéristiques morphologiques*

Un réseau de distribution n'est malheureusement pas un simple outil de transport de l'eau potable (CELERIER et FABY, 1998; GAUTHIER, 2002). Il se comporte comme un réacteur biologique dans lequel toutes les conditions sont réunies (LEVI, 1995; SIBILLE, 1998). Dans le réseau, se forme également un biofilm, le problème majeur avec cette forme de vie, est qu'elle confère une résistance importante à différents stress: UV, toxicité de métaux, dessiccation, déplétion en nutriments et surtout aux antibiotiques (COSTERTON et *al.*, 1999b). Le biofilm constitue une source inépuisable de bactéries qui peuvent être relarguées périodiquement dans le réseau, ce qui explique que la concentration en microorganismes puisse être plus élevée qu'au départ de la station de traitement (MAUL et *al.*, 1989;

FIGARELLA et LEYRAL, 2002).La numération des microorganismes revivifiables à l'intérieur des nids microbiens, peut atteindre 108 à 1010 UFC/ml. Lors d'une turbulence dans le réseau, la remise en suspension des nids microbiens peut entrainer une augmentation du nombre de microorganismes revivifiables dans l'eau distribuée (FIGARLLA et LEYRAL, 2002). Le biofilm peut provoquer une contamination plus générale du réseau du fait de sa mise en suspension, et ceci jusqu'au robinet de l'usager. La mise en suspension est peut être la conséquence de comportement hydraulique du réseau par les phénomènes de coupure et de retour d'eau qui peut arracher le biofilm (CELERIER et FABY, 1998).

Dans une population de bactéries, se retrouvent des bactéries blessées ou dormantes après un traitement de potabilisation, qui sont toujours vivantes mais incapables de se développer sur les milieux de culture habituellement utilisés (MAUL et *al*., 1989).

III.2.2. Pré identification des souches bactériennes isolées :

D'après les résultats présentés dans le tableau 7, 51 souches ont été isolées. La majorité sont des bactéries Gram+ (**46** sur **51)**, oxydases négatives (**46** sur **51**) et catalases positives (**32** sur **51**).

Tableau 7. Pré identification des souches bactériennes isolées

Colonies	**Caractéristiques macroscopiques**	**Coloration de Gram**	**Test biochimiques**	
			Oxydase	**Catalase**
S_1 ; S_{26} ; S_{26}`	Petites colonies non pigmentées, cocci, groupés par deux ou en chaînettes, immobiles.	**G+**	-	-
S_2 ; S_2` ; $S_5$ ; $S_5$` ; S_9 ; S_9` ; $S_{12}$ ; $S_{12}$` ; S_{15} ; S_{15}` ; $S_{18}$ ; $S_{18}$` ; S_{23};S_{23}` ; $S_{24}$; $S_{24}$` ; S_{29}; S_{29}`.	Bacilles trapus, mobiles, en courtes chaînes, colonies grisâtres, larges, arrondies, aplaties, à contours irréguliers.	**G+**	-	+
S_3 ; S_3` ; $S_6$ ; $S_6$` ; S_{10} ; S_{10}` ; $S_{13}$ ; $S_{13}$` ; S_{16} ; S_{16}` ; $S_{19}$ ; $S_{19}$` ; S_{25} ; S_{25}` ; $S_{30}$; $S_{30}$`	Cocci, sphériques ou ovoïdes, groupés par deux ou en courte chaînette de quatre à six éléments. colonies opaques, blanchâtres, immobiles.	**G+**	-	-
S_4 ; S_7 ; S_{17}	Cellules sphériques, en paires et en groupes de trois cellules, occasionnellement en tétrades. Colonies de couleur jaune-orange	**G+**	-	+
S_8	Cocci, colonies de couleur orange, groupés par deux ou en courte chaînette de quatre.	**G+**	-	+
S_{11}	Bâtonnets, colonie circulaire, convexe de couleur jaune pâle.	**G+**	+	+
S_{14}	Colonies rondes de taille moyenne et de couleur orange brillant.	**G+**	+	+
S_{20}	Colonies circulaires, lisses, translucides, bacilles court, réguliers, associés en diplobacilles et quelquefois en courtes chaînes.	**G+**	-	+
S_{21} ; S_{33}	Grandes colonies isolées, bombées à contour irrégulier, à aspect métallique.	**G-**	+	+
S_{22}	Bacilles mobiles, colonies arrondies, lisses, à bords réguliers.	**G-**	-	+
S_{27}	Bacilles, des colonies muqueuses groupées en paires, de couleur blanche ou crémeuse.	**G-**	-	+
S_{28}	Coccobacilles, groupées en paires mais aussi en chaînes de longueur variable, colonies opaques, de couleur blanche.	**G-**	-	+
S_{31}	Forme sphérique, se présentent soit en amas ou isolées, les colonies paraissent jaunes ou blanches, opaques et lisses.	**G+**	-	+
S_{32}	Bâtonnets, mobiles avec une morphologie coccoïde ou sphérique.	**G+**	+	+

Ex. S_5 et S_5` des souches identifiées par deux milieux différents mais qui ont les mêmes caractéristiques morphologiques

Les résultats obtenus par l'utilisation des API tests n'étaient pas concluants .De ce fait nous avons opté pour une méthode d'identification plus performante.

III.2.3. Identification des souches bactériennes cultivables par la technologie MALDI-TOF et séquençage de l'ADNr 16S

Les résultats de l'identification bactérienne grâce au MALDI-TOF et au séquençage ADNr 16S démontrent la présence d'une grande variété microbienne (Tableau 8). Une majorité de bactéries Gram+ a été observée (28 sur les 33 souches isolées). Parmi les bactéries isolées, *Bacillus cereus* et *Enterococcus durans*, sont présentes dans la majorité des biofilms échantillonnés. Nos résultats démontrent l'absence de bactéries sur tous les échantillons âgés de six mois et issus des trois différentes nappes. Aucune bactérie cultivable, isolée à partir des matériaux en cuivre et issus des deux nappes Miopliocène et Albienne, n'a pu être retrouvée. Seule *Streptococcus oralis* a été identifiée sur l'échantillon de biofilm issu de la nappe Sénonienne âgé de 20 ans.

À partir de la source Miopliocène, les échantillons en PVC et en PEHD âgés de 12 mois sont les seuls à avoir révélé la présence d'un développement bactérien. Les matériaux âgés de plus de 20 ans en PVC et PEHD, issus des trois nappes, sont ceux qui présentent le plus de diversité bactérienne. Des agents pathogènes tels que *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* ont même été retrouvés au niveau de ces échantillons.

Tableau 8. Identification des souches bactériennes isolées par la technologie MALDI-TOF

Les nappes	Échantillons	Les souches	Identification des souches du biofilms	GRAM
Sénonienne	SC6M	∅	∅	∅
	SPV6M			
	SPE6M			
	SC12M			
	SPV12M			
	SPE12M			
	SC20A	S_1	*Streptococcus oralis*	G+
	SPV20A	S_2 ; S_2`	*Bacillus cereus*	G+
		S_3 ; S_3`	*Enterococcus durans*	
		S_4	*Planococcus sp**	
	SPE20A	S_5 ; S_5`	*Bacillus cereus*	
		S_6 ; S_6`	*Enterococcus durans*	
		S_7	*Planococcus sp**	
		S_8	*Planococcus maitriensis**	
Miopliocène	MC6M	∅	∅	∅
	MPV6M			
	MPE6M			
	MC12M			
	MPV12M	S_9 ; S_9`	*Bacillus cereus*	G+
		S_{10} ; S_{10}`	*Enterococcus durans*	
		S_{11}	*Terribacillus sp**	
	MPE12M	S_{12} ; S_{12}`	*Bacillus cereus*	
		S_{13} ; S_{13}`	*Enterococcus durans*	
		S_{14}	*Planococcus rifietoensis**	
	MC20A	∅	∅	∅
	MPV20A	S_{15} ; S_{15}`	*Bacillus cereus*	G+
		S_{16} ; S_{16}`	*Enterococcus durans*	
		S_{17}	*Planococcus sp**	
	MPE20A	S_{18} ; S_{18}`	*Bacillus cereus*	
		S_{19} ; S_{19}`	*Enterococcus durans*	
		S_{20}	*Listeria monocytogenes*	
		S_{21}	*Pseudomonas koreensis*	G-
		S_{22}	*Escherichia coli*	
Albienne	AC6M	∅	∅	∅
	APV6M			
	APE6M			
	AC12M			
	APV12M	S_{23}; S_{23}`	*Bacillus cereus*	G+
	APE12M	∅	∅	∅
	AC20A			
	APV20A	S_{24} ; S_{24}`	*Bacillus cereus*	G+
		S_{25} ; S_{25}`	*Enterococcus durans*	
		S_{26} ; S_{26}`	*Streptococcus oralis*	
		S_{27}	*Acinetobacter lwoffii*	G-
		S_{28}	*Acinetobacter sp**	
	APE20A	S_{29}; S_{29}`	*Bacillus cereus*	G+
		S_{30}; S_{30}`	*Enterococcus durans*	
		S_{31}	*Zhiengliuella alba**	
		S_{32}	*Psychrobacillus psychrodurans*	
		S_{33}	*Pseudomonas koreensis*	G-

***** souches identifiées à l'aide de l'ADNr16S

III.3.Caractérisation des biofilms microbiens

III.3.1. Etude de la capacité des bactéries à former des biofilms en conditions statiques (Biofilms simples)

Dans le but d'identifier les bactéries capables de former des biofilms, toute la collection bactérienne, composée de 33 souches, a été criblée grâce à une méthode colorimétrique rapide en microplaque 96 puits. Les résultats illustrés dans la figure 25 démontrent que dans ces conditions expérimentales, toutes les souches isolées sont capables de former des biofilms simples (densité optique ≥0,5 considérée comme une référence de potentiel à former un biofilm). Ce criblage a révélé que cette capacité était très variable selon la nappe, la souche, son origine ainsi que l'âge du biofilm.

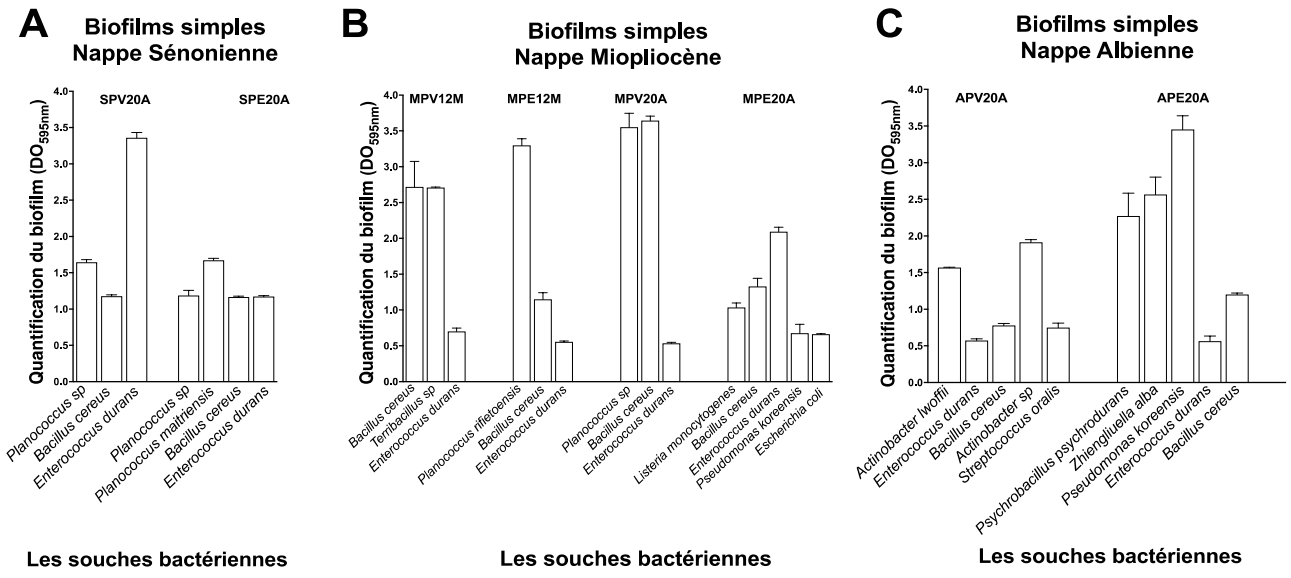


Figure 25. Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms simples en conditions statiques. A : bactéries isolées de la nappe Sénonienne, B : bactéries isolées de la nappe Miopliocène, C : bactéries isolées de la nappe Albienne.

En effet, pour la nappe Sénonienne sept souches ont montré une capacité à former un biofilm. La capacité des deux souches *Enterococcus durans et Planococcus sp,* issues de l'échantillon SPV20A est supérieure à celle de ces mêmes souches issues de l'échantillon SPE20A.

Quant à la nappe Miopliocène, 14 souches sont capables de développer un biofilm. La plus grande capacité est attribuée aux souches *Bacillus cereus* et *Planococcus sp.*, isolées de l'échantillon MPV20A. Notons que la souche *Bacillus cereus* isolée du PVC a démontré une meilleure capacité à former un biofilm que celle isolée de PEHD et cela quel que soit l'âge. Par ailleurs, la souche *Enterococcus durans* isolée de l'échantillon MPE20A est celle qui a démontré, dans ces conditions, une meilleure capacité à développer un biofilm comparé à cette même espèce issue des autres échantillons.

Enfin pour la nappe albienne, parmi les dix souches détectées, *Pseudomonas koreensis* issue de l'échantillon APE20A est celle qui forme le meilleur biofilm.

III.3.2.Criblage et étude par microscopie confocale de la capacité des bactéries à former des biofilms mixtes

Afin de mimer les conditions originelles retrouvées dans les conduits de circulation d'eau, nous avons cultivé en biofilms mixtes les bactéries isolées d'un même microenvironnement. Les résultats de la quantification au cristal violet sont illustrés dans la figure 26. En 24 h d'incubation, des biofilms épais ont pu être observés avec des quantifications de DO entre 0,5 et 2.

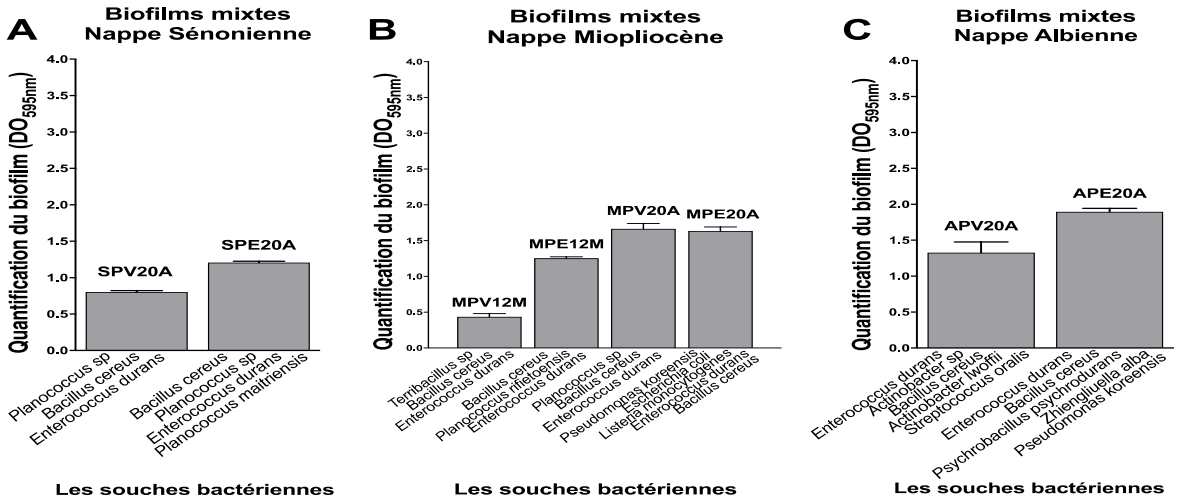


Figure 26. Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms mixtes en conditions statiques. A : bactéries isolées de la nappe Sénonienne, B : bactéries isolées de la nappe Miopliocène, C : bactéries isolées de la nappe Albienne.

Dans nos conditions expérimentales, toutes les bactéries issues des échantillons de PEHD ont montré une meilleure capacité à former des biofilms, notamment l'échantillon de la nappe

albienne APE20A. Pour les bactéries isolées des échantillons de PVC, nous avons noté que les échantillons âgés plus de 20 ans (SPV20A, MPV20A et APV20A) ont formé efficacement des biofilms. Cependant, pour l'échantillon MPV12, aucun biofilm n'a été formé.

La méthode de criblage colorimétrique ne fournit aucune information structurelle sur les biofilms étudiés. Pour obtenir ces informations, ces derniers ont été étudiés par microscopie confocale et quantifiés grâce au logiciel Image Pro.

Selon les résultats illustrés dans la figure 27, toutes les souches isolées ont formé des biofilms *in vitro*. Toutefois, cette capacité (*i.e.* épaisseur et biovolume) varie en fonction des souches qui le constituent et qui proviennent de sources différentes (nappes et matériaux).

	Échantillons	Souches isolées		Image 3D	Biovolumes (µm³ /µm²)	Épaisseurs (µm)
Nappe Sénonienne	PVC 20 ans	*Planococcus sp* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			521,03	12,12
	PEHD 20 ans	*Planococcus sp* *Planococcus maitriensis* *Bacillus cereus*	*Enterococcus durans*		745,32	21,36
Nappe Miopliocène	PVC 12 mois	*Bacillus cereus* *Terribacillus sp* *Enterococcus durans*			145,67	9,21
	PEHD 12 mois	*Planococcus rifietoensis* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			829,97	21,49
	PVC 20 ans	*Planococcus sp* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			1154,13	29,37
	PEHD 20 ans	*Listeria monocytogenes* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*	*Pseudomonas koreensis* *Escherichia coli*		1367,87	31,45
Nappe Albienne	PVC 20 ans	*Enterococcus durans* *Bacillus cereus* *Streptococcus oralis*	*Acinetobacter lwoffii* *Acinetobacter sp*		1010,83	26,67
	PEHD 20 ans	*Psychrobacillus psychrodurans* *Zhiengliuella alba* *Enterococcus durans*	*Bacillus cereus* *Pseudomonas koreensis*		1480,35	33,87

Figure 27. Représentations 3D et quantifications des biofilms mixtes des isolats bactériens.

Les souches isolées des échantillons de PEHD (APE20A, MPE20A, MPE12M et SPE20A) ont formé des biofilms très épais. Les plus grandes valeurs de l'épaisseur (33,87 µm) et de

biovolume (1 480,35 $\mu m^3 \cdot \mu m^{-2}$) sont enregistrées pour l'échantillon APE20A constitué de cinq souches : *Enterococcus durans, Bacillus cereus, Psychrobacillus psychrodurans, Zhiengliuella alba* et *Pseudomonas koreensis.*

Pour les deux nappes, Miopliocène et Albienne, les souches isolées des biofilms des échantillons du PVC âgés de 20 ans, ont formé des biofilms épais (29,37 et 26,67 µm). Les biofilms de la nappe Miopliocène, âgés de 12 mois (MPV12M) et de la nappe Sénonienne âgés plus de 20 ans (SPV20A), sont d'une épaisseur moyenne (9,21 et 12,12 µm).

Bien que l'eau en circulation dans la région d'Ouargla présente des propriétés physicochimiques dépassant les normes, elle est tout de même considérée comme propre à la consommation, car ses caractéristiques microbiologiques sont conformes aux normes algériennes. Notre étude s'est focalisée principalement sur l'étude de la colonisation bactérienne au niveau des parois internes des conduits de distribution d'eau potable. Ces dernières peuvent être composées de cuivre, de PVC ou de PEHD et sont reliées à différentes nappes (Albienne, Sénonienne et Miopliocène). Les communautés bactériennes des biofilms dans les canalisations d'eaux potables sont très peu étudiées. Il y a eu de nombreux rapports précédents sur les biofilms et les diversités bactériennes dans les modèles pilotes (LEE et *al*., 2005; TENG et *al*., 2008; KRISHNA et *al*., 2013; GOMEZ-ALVAREZ et *al*., 2014; WANG et *al*., 2014). Environ 95 % des bactéries dans le système d'eau potable sont situées sur les surfaces alors que seulement 5 % se trouvent dans l'eau en circulation (FLEMMING et *al*., 2002).

Les observations effectuées sur les différents biofilms nous ont indiqué qu'à court terme (observations à six mois) les conduites en cuivre, en PVC et en PEHD reliées aux trois nappes n'ont pas montré la présence de bactéries cultivables. La présence des biofilms bactériens a été détectée au niveau des conduites en fonctionnement depuis 12 mois et plus (moyen et long terme) et cela malgré les différences de température, de débit d'écoulement, de source de forage et de traitement de désinfection. La nappe Miopliocène présente un débit d'écoulement faible et une température de 25 °C, cela peut expliquer la formation du biofilm sur les échantillons de 12 mois et pas sur les autres. En effet, la température de l'eau, sa composition physicochimique et le régime hydraulique du système et ses variations (temps de séjour de l'eau, absence de variation du débit) sont susceptibles de favoriser la formation des biofilms et de modifier la composition de son microbiome (LÉ 2008; PAN et *al*., 2017). LEHTOLA et *al*. (2004) ont étudié l'influence de la vitesse d'écoulement sur les biofilms. Les auteurs montrent que l'accélération de la vitesse d'écoulement augmente la croissance des biofilms aussi bien dans les tubes en cuivre qu'en matériau plastique. Cela entraîne une augmentation

du nombre de bactéries du fait du détachement des sédiments des canalisations. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que la stagnation ou les faibles vitesses d'écoulement favorisent la corrosion et les dépôts de biofilms (TRICARD et BUFFAUT, 1995). Toutefois, pour un biofilm formé, un écoulement turbulent est également bénéfique en favorisant le transport des éléments nutritifs et des microorganismes (CHARACKLIS, 1984). Ceci permet le renouvellement du milieu et l'amélioration de la stabilité du biofilm (CARPENTIER et CERF, 1993). Donc, il faut plus de temps pour qu'un biofilm se forme, mais une fois sur place, ce mode de vie va protéger les bactéries de ces conditions stressantes.

Parmi les trois matériaux étudiés, le cuivre ne semble pas favoriser la formation de biofilms. En effet, et d'après nos résultats, une seule bactérie (*Streptococcus oralis*) a été retrouvée sur SC20A. Ces résultats sont en accord avec l'étude de LÉ (2008) qui a démontré dans un système expérimental à petite échelle, l'existence d'une corrélation entre l'utilisation du matériau en cuivre et le ralentissement de la cinétique de formation des biofilms. La réduction de la production de produits extracellulaires de la matrice est la principale cause induisant cette inhibition. En effet, le cuivre induit directement ou indirectement des changements structuraux et physiologiques dans la communauté bactérienne des biofilms (BARRANGUET et *al*., 2003; MASSIEUX et *al.*, 2004; BOIVIN et *al.*, 2005). L'effet antibactérien, et de façon plus générale, l'effet biocide du cuivre est connu et exploité depuis plusieurs décennies. Il est attribué aux ions cuivriques Cu (II) formés par oxydation du cuivre métallique (SPEAR et PIERCE, 1980). Cependant, ce matériau présente certains inconvénients comme une mauvaise résistance aux traitements chlorés et une sensibilité à l'érosion qui génère des surfaces propices à l'entartage. Selon SQUINAZI (2013), l'adsorption des bactéries à la surface s'effectue le plus souvent au niveau des dépôts minéraux et organiques ou à la surface de tubercules de corrosion. LEHTOLA et *al.* (2004) et LÉ (2008) ont étudié la formation des biofilms sur la surface interne des canalisations en cuivre et en PEHD dans différentes parties du réseau de distribution pilote. Les résultats montrent que la formation de biofilm sur le cuivre requiert plus de temps que sur du plastique. Le polyéthylène PEHD est considéré comme un matériau chimiquement et biologiquement inerte. De nombreuses études montrent que l'oxydation du PEHD à forte température génère des composés carbonylés favorisant ainsi sa colonisation par des microorganismes (ALBERTSSON et *al*., 1995; CHIELLINI et al., 2007). L'utilisation de ces polymères comme source de carbone par les microorganismes est facilitée par la formation d'un biofilm (HADAD et *al.*, 2005). Initialement, la nature hydrophobe du PEHD ne permet pas la fixation des microorganismes à sa surface. Après un vieillissement oxydatif, le caractère hydrophile de la surface du PEHD augmente favorisant

ainsi la formation de biofilm (PONS et *al*., 2012). Nos résultats sont en accord avec les données de cette étude. En effet, un plus grand nombre de bactéries cultivables a été retrouvé sur les matériaux PEHD âgés de 20 ans reliant les trois nappes. Aucune bactérie n'a été retrouvée sur le SPE12M et APE12M. Le troisième matériau étudié est le PVC. Dans cette étude, une grande diversité bactérienne a été retrouvée sur ce matériau âgé de 12 mois et plus pour la nappe Miopliocène et principalement à 20 ans et plus pour les nappes Albienne et Sénonienne. Selon CHOWDHURY (2012) et LIN et *al.* (2013), les tuyauteries ayant des surfaces rugueuses comme le PVC ont tendance à favoriser la formation de biofilm. Il présente une meilleure résistance chimique, notamment au chlore (EL OMARI, 2018).

Les systèmes de distribution d'eau potable sont des environnements extrêmes avec des conditions oligotrophes où les désinfectants résiduels sont couramment entretenus. Malgré cela, les microorganismes sont capables de survivre et s'attacher aux surfaces internes des tuyaux formant des biofilms qui peuvent altérer la qualité de l'eau. Cependant, l'effet de la désinfection sur la communauté microbienne de l'eau potable reste mal compris (SIMOES et *al.*, 2007; MI et *al.*, 2015). Dans cette étude, nous avons identifié un nombre total de 33 souches bactériennes cultivables, majoritairement à Gram positif. Contrairement à nos résultats, FRANK (2001) a montré qu'au niveau des biofilms présents sur les canalisations d'eau potable, les bactéries à Gram négatif semblent prédominer. Des études ont montré que les propriétés de surface des cellules microbiennes varient en fonction des conditions environnementales dans lesquelles elles se trouvent (VAN OSS et *al.*, 1986; BELLON-FONTAINE et *al*., 1990; BOS et *al*., 1999; GALLARDO-MORENO et *al*., 2002; HAMADI et *al.*, 2004; BAYOUDH et *al.*,2006). L'origine de ces microorganismes est souvent inconnue. Elles peuvent à la fois être d'origine interne (microorganismes qui ont pu échapper au traitement de désinfection) ou d'origine externe (par retour d'eau lors de travaux et intervention sur le réseau, à travers des fissurations dues au vieillissement des conduites, à travers des orifices mal protégés) (BOUTALEB, 2007).

Afin d'étudier les biofilms en conditions expérimentales, nous avons criblé en microplaque la capacité des bactéries isolées à former des biofilms simples et mixtes. Les résultats démontrent que toutes les bactéries isolées, indépendamment de leurs origines, sont capables de former des biofilms simples. En effet, dans les systèmes de distribution d'eau potable, les biofilms sont le mode de vie prédominant de la croissance microbienne, en leur conférant de nombreux avantages : coopération dans certains systèmes cataboliques, acquisition d'avantages évolutifs, synergies entre microorganismes, expressions phénotypiques de facteurs de résistance lors de situations de stress (COSTERTON, 1999a, COSTERTON et *al*.,

1999b; TOMLIN et *al.*, 2005; CLUTTERBUCK et *al*., 2007; JOUENNE, 2008; GOLLER et ROMEO, 2008; PAN et *al.*, 2009; LIU et *al.*, 2016). Afin d'étudier le biofilm mixte des bactéries cultivables isolées du même environnement, nous avons visualisé et quantifié *in vitro* ces structures. Nos expérimentations ont démontré qu'en l'espace de 48 h, un biofilm est formé. Ceci démontre l'existence d'une interaction bactérienne. La communication entre les différentes espèces de microorganismes est favorisée par des systèmes complexes comme le *quorum sensing* (QS). Ces modes de communication contrôlent, en partie, la formation des biofilms (BJARNSHOLT et *al*., 2005; FAZLI et *al.*, 2014). En effet, il a été démontré que les systèmes QS régulent et synchronisent des activités telles que la production d'exopolysaccharides et les matériaux cellulaires (ADN, lipides, protéines) qui façonnent la structure matrice extracellulaire et contrôlent ses propriétés physicochimiques (PARSEK et GREENBERG, 2005; DICKSCHAT, 2010; WEI et MA, 2013).

Bien que les rapports actuels indiquent l'absence de microbes dans l'eau potable en circulation, la présence de biofilms bactériens sur les parois internes, représente, sur le long terme, un risque de contamination entraînant un risque potentiel pour la santé humaine (LIU et *al.*, 2016; ABBERTON et *al.*, 2016). Plusieurs études ont montré que, comparés aux organismes planctoniques, les agents pathogènes opportunistes fécaux en biofilm peuvent survivre plus longtemps et avoir une plus grande résistance au chlore. Les microorganismes restent encapsulés dans ce biofilm. Ainsi, aux concentrations habituelles de 0,1 à 0,4 $mg \cdot L^{-1}$, près de 80 % des bactéries restent actives (BUSWELL et *al*., 1998; PERCIVAl et WALKER, 1999; LUNEAU, 2014).

Bacillus cereus et *Enterococcus durans* sont les pathogènes les plus fréquemment retrouvés au niveau de notre collection bactérienne. La présence d'*Escherichia coli* et *Enterococcus durans* est un indicateur de contamination fécale (CABELLI et *al*., 1982; JUHNA et *al.*, 2007). NIEUWENHUIJSEN et *al.* (2000) ont démontré l'inefficacité des traitements chlorés classiques contre *Bacillus cereus*. Cette résistance peut s'expliquer par leur capacité à former des spores (MISTY-MARTIN et *al*., 2017; HUSSAIN et *al.*, 2018). Les résultats de notre étude indiquent aussi la présence de *Listeria monocytogenes* qui est un agent pathogène d'origine alimentaire qui provoque la listériose (FARBER et PETERKIN, 1991; GANDHI et CHIKINDAS, 2007). VARMA et LYER (1993) ont démontré que cet agent pathogène peut survivre plusieurs jours dans l'eau.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Cette étude vise à améliorer les connaissances sur l'influence de la source des forages et la nature des canalisations en (Cuivre, PVC et PEHD), sur le changement de la qualité d'eau potable distribuée ainsi que sur le développement des biofilms bactériens.

D'après les résultats bactériologiques, on note l'absence totale de coliformes fécaux (représentés par l'espèce indicatrice *E. coli*), ainsi que l'absence d'anaérobies sulfitoréducteurs (ASR) et de salmonelles, dans l'ensemble des échantillons prélevés, d'origines différentes, destinées à la consommation humaine. Les résultats écartent une contamination bactériologique de ces eaux.

- Les eaux souterraines et les eaux de foyer de la région de Ouargla sont bactériologiquement potables.

-Le test de chloration appui ces données, car l'eau de forage et de foyer ressortent avec un taux de Chlore qui témoigne d'un traitement de désinfection appliquée à une eau de distribution.

-Par ailleurs, la majorité des paramètres physicochimiques dosés dépassent les normes préconisées par l'OMS.

- La minéralisation de ces eaux varie de 2550 à 3825 mg/l, de ce fait, elles sont classées comme eaux légèrement saumâtres.

- D'après leur dureté variant de 820 à 1540 mg/l (82 à 154 °F), ces eaux sont classées très dures.

- Les chlorures et les sulfates sont les anions les plus dominants et pour les cations, ce sont le calcium et le sodium qui le sont.

- Les résultats analytiques montrent que la nappe albienne est relativement meilleure à cause sa salinité et de sa dureté moins élevées. Les analyses physicochimiques des trois nappes alimentant la cuvette de Ouargla en eaux potables ont révélé que la majorité des paramètres dosés dépassent les normes préconisées par l'OMS. De ce fait elles sont classées comme eaux très dures et légèrement saumâtres.

Par ailleurs, l'absence des indicateurs de contamination, dans les eaux distribuées implique l'absence des germes pathogènes, et écarte toute contamination bactériologique de ces eaux.

En se basant sur la diversité bactérienne, ce travail a indiqué que les matériaux des tuyaux (Cuivre, PVC et PEHD) peuvent remarquablement influencer la communauté microbienne développée à long terme. Le cuivre se positionne très bien par rapport aux deux autres matériaux étudiés en présentant à chaque fois une formation de biofilm et une présence

bactérienne la plus faible. Par contre, une prolifération bactérienne assez importante a été notée dans les biofilms les plus âgés isolés des canalisations à base de PVC et de PEHD de toutes les nappes.

Ce travail a permis de mettre en évidence la présence de biofilms bactériens dans les conduites de distribution d'eau potable et donc de l'inefficacité sur le long terme des méthodes de désinfection. Ce constat concerne principalement les conduits en PVC et en PEHD et cela pour les trois nappes étudiées. Les tuyaux en cuivre semblent défavoriser la colonisation bactérienne, mais, celui-ci associé aux traitements chlorés, pose un problème d'usure rapide engendrant des coûts de maintenance élevés. Il est donc intéressant d'étudier de nouvelles stratégies d'assainissement de l'eau plus efficaces et moins agressives.

Les résultats de cette première étude ont révélé qu'à priori, les matériaux étudiés sont quasiment tous potentiellement porteurs d'un développement bactérien, lequel est plus ou moins développé selon la nature et l'âge des conduits, le débit et la qualité d'eau. Le cuivre se caractérise par une formation de biofilm et une diversité bactérienne la plus faible. Pour cela, nous pourrons suggérer d'opter pour les installations de conduites à base de cuivre, tout en établissant un programme régulier de renouvellement, une fois ces conduits se fragilisent ou se dégradent au cours du temps.

Cette synthèse nous permet de suggérer les éléments globaux suivants :

-Une faible littérature publiée : Malgré l'intérêt du sujet, il existe très peu d'articles récents présentant des résultats sur les effets des canalisations sur les proliférations bactériennes dans les réseaux d'eau

-Les nuisances liées à la prolifération et à l'arrachage des biofilms dans les canalisations d'eau potable sont toutefois souvent potentielles et leur ampleur réelle en réseau de distribution est difficile à évaluer.

-Les résultats montrent que les canalisations en cuivre induisent un effet réducteur sur le développement du biofilm par comparaison avec d'autres matériaux dans les mêmes conditions opératoires. Tout en se gardant de généraliser, il apparaît que les canalisations en cuivre montrent une colonisation moindre que le PVC et PEHD.

Perspectives

L'usage des conduites à base de cuivre semble être intéressant dans l'inhibition de la prolifération bactérienne et le développement des biofilms. Il apparaît ainsi clairement que, même si les résultats obtenus montrent un avantage à l'emploi des canalisations en cuivre pour limiter la formation des biofilms dans les réseaux, les données scientifiques sur un sujet

aussi important ne sont pas assez nombreuses et pas assez affirmées ce qui est à regretter compte tenu de l'importance des enjeux.

Pour une caractérisation complète des eaux potables de la région de Ouargla, des études complémentaires, portant sur certains paramètres de pollution chimique comme les métaux lourds et hygiéniques tel que les parasites et les virus, doivent être étudiés.

Les enjeux de l'eau d'ordre social, économique, écologique et sécuritaire, sont considérables et prendront plus d'ampleur et d'intensité au fil des ans. Il est impératif d'accorder toute l'attention aux infrastructures qui abritent et véhiculent cette ressource fragile. Sa préservation des atteintes et menaces diverses, pour lui assurer sa valeur économique réelle, doit être une préoccupation majeure de l'état.

Références bibliographiques

- ABBERTON C.L., L. BERESCHENKO, P.W.J. VAN DER WIELEN et C.J. SMITH (2016). Survival, biofilm formation, and growth potential of environmental and enteric *Escherichia coli* strains in drinking water microcosms. *Appl. Environ. Microbiol*., 82, 5320-5331.
- ABE Y., P. POLYAKOV, S. SKALI-LAMI, et G. FRANCIUS (2011). Elasticity and physic chemical properties during drinking water biofilm formation. *Biofouling*., 27(7), 739-750.
- ABE Y., S. SKALI-LAMI, J.C. Block, et G. FRANCIUS (2012). Cohesiveness and hydrodynamic properties of young drinking water biofilms. *Water Research* 46(4), 1155-1166.
- ALBERTSSON A.C., C. BARENSTEDT, S. KARLSSON et T. LINDBERG (1995). Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene. *Polymer*, 36, 3075-3083.
- ALLEN M.J. et E.E. GELDREICH (1977). Distribution line sediments and bacterial regrowth. Water quality technical conference, Kansas City, MO, American Water Works Association.
- ALLION A., S. LASSIAZ, L. PEGUET, P. BOILLOT et S. JACQUES (2011). A long-term study on biofilm development in drinking water distribution system: *Biofilms bactériens des conduits d'eau potable du Sud-Est algérien* 458 comparison of stainless steel grades with commonly used materials. *Rev. Métall.*, 108, 259-268.
- ALLWOOD A.C., R. MALCOLM WALTER, S. BALZ KAMBER, P. MARSHALL CRAIG, et W. BURCH IAN (2006). Stromatolite reef from the Early Archaean era of Australia. *Nature*, 441(June 8), 714-718.
- AMMOUR F. et Y. TOUIL (2007). *Etudes des possibilités de la réutilisation des eaux de drainage dans la cuvette d`Ouargla*. Journées Scientifiques de Traitement et Réutilisation des Eaux. 3 avril 2007, MVRE/ENSH, 35 p.
- BALEBONA M.C., M.A. MORIÑIGO, A. FARIS, K. KROVACEK, I. MANSSON, M.A. BORDAS, et J.J. BORREGO (1995). Influence of salinity and pH on the adhesion of pathogenic *Vibrio* strains to *Sparus auratask* in mucus. *Aquat*, 132,113-120.
- BARRANGUET C., F.P. VAN DEN ENDE, M. RUTGERS, A.M. BREURE, M. GREIJDANUS, J.J. SINKE et W. ADMIRAAL (2003). Copper-induced modifications

of the trophic relations in riverine algal-bacterial biofilms. *Environ. Toxicol. Chem.*, 22, 1340-976.

- BATTÉ M., B.M.R. APPENZELLER, D. GRANDJEAN, S. FASS, V. GAUTHIER, F. JORAND, L. MATHIEU, M. BOUALAM, S. SABY et J.C. BLOCK (2003). Biofilms in drinking water distribution systems. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2(2), 147-168.
- BAYOUDH S., A. OTHMANE, F. BETTAIEB, A. BAKHROUF, H. BEN OUADA et L. PONSONNET (2006). Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Mater.Sci. Eng. C*, 26, 300-305.
- BEAUDEAU P., P. PAYMENT, D. BOURDERONT, F. MANSOTTE, O. BOUDHABAY, B. LAUBIES, et J. Verdière (1999). A time series study of anti-diarrheal drug sales and tap-water quality. *International Journal of Environmental Health Research*, 9, 293-311.
- BELLON-FONTAINE M.N., et O. CERF (1991). Mechanisms of microorganism adhesion to surfaces: factors influencing the adhesion. J. *Industries alimentaires et agricoles*., 108,13-17.
- BELLON-FONTAINE M.N., N. MOZES, H.C. VAN DER MEI, O.S. JOLLEMA, P.G. CERF-ROUXHET et H.J. BUSSCHER (1990). A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell Biophys.*, 17, 93-106.
- BELOIN C., S. DA RE et J.M GHIGO (2005) Colonization of abiotic surfaces. *In:* CURTISS III R, BÖCK A, INGRAHAM JL, KAPER JB, NEIDHARDT FC, RILEY M, SQUIRES CL, editors. *Escherichia coli* and *Salmonella*. Cellular and Molecular Biology. Washington, D.C.: ASM Press, chapter 8.3.1.3.
- BENAMAR N., N. MOUADIH, et A. BENAMAR. (2011). Étude de la biodiversité et de la pollution dans les canaux de l'Ouest algérien : le cas de l'oued Cheliff. Colloque international. Usages écologiques, économiques et sociaux de l'eau agricole en méditerranée: quels enjeux pour quels services ? Université de Provence, Marseille, 20-21 janvier 2011, 6 p.
- BESNER M. C., BARBEAU. B, GAUTHIER. V, PREVOST. M, CHAPLEAU. R, TREPANIER. M, AUBE. M et SOLY. C. 1999. Mise au point d'un outil de gestion intégrée d'un réseau de distribution d'eau potable: application à un secteur pilote de la ville de Montréal. *Américana.*

- BESNER M.C. (1999). Influence des paramètres structurels et opérationnels sur la qualité de l'eau dans un réseau de distribution. Thèse de l'Université de Montréal.
- BJARNSHOLT T., P. JENSEN, M. BURMOLLE, M. HENTZER, J.A. HAAGENSEN, H.P HOUGEN, H. CALUM, K.G. MADSEN, C. MOSER, S. MOLIN, N. HOIBY et M. GIVSKOV (2005). *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxide and polymorpho nuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. *Microbiology*, 151, 373-383.
- BLACKBURN B.G., G.F. CRAUN, J.D. YODER, V. HILL, R.L. CALDERON, N. CHEN, S.H. LEE, D.A. LEVY et M.J. BEACH (2004). Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with drinking water--United States, 2001-2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report, Surveillance Summaries*, 53(8), 23-45.
- BLATT H. et R. J. TRACY. (1996). Petrology Igneous, Sedimentary, and Metamorphic. 2nd Edition, Basingstoke: W. H. Freeman & Co, New York, 529 p.
- BLOCK J.C. et B.M.R. APPENZELLER (2001). Biofilms et distribution d'eau potable. *Bulletin de la société Française de Microbiologie*, 16(1), 7-12.
- BLOCK J.C., K. Haudidier, J.L. Paquin, J. Miazga, et Y. Levi (1993). Biofilm accumulation in drinking water distribution systems. *Biofouling*, 6(4), 333-343.
- BOEGLIN J.C (2000). Contrôle des eaux douces et de consommation humaine. *Ed. Techniques de l'ingénieur*, 24 p.
- BOEGLIN J.C (2000). Contrôle des eaux douces et de consommation humaine. Ed. Techniques de l'ingénieur, 24 p.
- BOE-HANSEN R., H.J. ALBRECHTSEN, E. ARVIN et C. JORGENSEN (2002). Bulk water phase and biofilm growth in drinking water at low nutrient conditions. *Water Research*, 36(18), 4477-4486.
- BOIVIN M.E., B. MASSIEUX, A.M. BREURE, F.P. VAN DEN ENDE, G.D. GREVE, M. RUTGERS et W. ADMIRAAL (2005). Effects of copper and temperature on aquatic bacterial communities. *Aquat. Toxicol. Mar*., 71, 345-56.
- BORING J.R., W.T. MARTIN et L.M. ELLIOTT. (1971) Isolation of Salmonella typhimurium from municipal water, Riverside, California, 1965. *American Journal of Epidemiololy*, 93(1), 49-54.
- BORNERT H. (1989). Contribution à l'étude des biofilms dans réseaux de distribution d'eau d'alimentation. Thèse de doctorat de l'Université de Nancy.

- BOS R., H.C. VAN DER MEI et H.J. BUSSCHER (1999). Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions - its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol. Rev.*, 23,179-230.
- BOURION F (1995). Etude de la formation et de la désinfection de biofilms mono- et bimicrobiens de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Listeria innocua,* thèse de doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire, Massy, France.
- BOUTALEB N. (2007). *Étude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable.* Thèse de doctorat, Univ. Bretagne-Sud, France, 194 p. BUSE H.Y., M.E. SCHOEN et N.J. ASHBOLT (2012).*Legionellae* in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predict exposure. *Water. Res.*,46, 921-933.
- BRANDA S.S., S. VIK, L. FRIEDMAN, R. KOLTER (2005). Biofilms: the matrix revisited. *Trends in Microbiology*, 13, pp. 20-26.
- BRIANDET R., P. LACROIX-GUEU, M. RENAULT, S. LECART, T. MEYLHEUC, E. BIDNENKO, K. STEENKESTE, M.N. BELLON-FONTAINE, et M.P. FONTAINE-AUPART (2008). Fluorescence correlation spectroscopy to study diffusion and reaction of bacteriophages inside biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 2135-2143.
- BRIANDET R., T. MEYLHEUC, C. MAHER, et M.N. BELLON-FONTAINE. 1999b. *Listeria monocytogenes* Scott A: Cell Surface Charge, Hydrophobicity, and Electron Donor and Acceptor Characteristics under Different Environmental Growth Conditions. *J. Appl. Environ. Microbiol* 65:5328-5333.
- BRYERS, J.D. et W.G. CHARACKLIS (1982). Processes governing primary biofilm formation. *Biotech*. *Bioing*., 24, 2451-2476.
- BUSALMEN J.P., et S.R. DE SANCHEZ (2001). Adhesion of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) to No polarized and Polarized Thin Films of Gold. 67, 3188-3194.
- BUSSCHER H.J. et A.H. WEERKAMP (1987). Specific and nonspecific adhesion to solid substrata. *FEMS Microbiology Reviews.*, 46, 165-173.
- BUSWELL C.M., Y.M. HERLIHY, L.M. LAWRENCE, J.T. MCGUIGGAN M, P.D. MARSH, C.W. KEEVIL et S.A. LEACH (1998). Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by

immunofluorescent-antibody and –rRNA staining. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 733-741.

- CABELLI V., A.P. DUFOUR, L.J. MCCABE et M.A. LEVIN (1982). Swimming-associated gastroenteritis and water quality. *Am. J. Epidemiol.*, 115, 606-616.
- CAMERON M., H.W. BARKEMA, J. DE BUCK, S. DE VLIEGHER, M. CHAFFER, J. LEWIS et G. KEEFE (2016). Identification of bovine-associated coagulase negative staphylococci by matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry using a direct transfer protocol. *J. Dairy Sci.*, 100, 2137-2147.
- CAPPELLO S et P. P. GUGLIELMINO. 2006. Effects of growth temperature on polystyrene adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*ATCC27853. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37:205-207.
- CARPENTIER B. et O. CERF (1993). Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 499-511.
- CELERIER J.L. et J.A. FABY. (1998). La dégradation de la qualité de l'eau potable dans les réseaux. Document technique FNDAE, Office International de l'Eau SNIDE, Paris, 98 p.
- CHAMBERLAIN N. R. (1992). Another Easy Method of Extruding Polyacrylamide Gels from isoelectric Focusing Tubes of 1.5-mm Inside Diameter. Bio Techniques. 13:532.
- CHAMPAGNE C.P., C. LACROIX et I.SODINI-GALLOT (1994). Immobilized cell technology for the dairy industry. *Crit. Rev. Biotechnol.*14: 109-134.
- CHANDRA J., D.M. KUHN, P.K. MUKHERJEE, L.L. HOYER, T. MCCORMICK, et M.A. GHANNOUM. 2001. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol*. 183:5385-5394.
- CHANDY J.P., et M.L. ANGLES (2001). Determination of nutrients limiting biofilm formation and the subsequent impact on disinfectant decay. *Water*. *Res*., 25, 2677-2682.
- CHARACKLIS W. G. (1981). Fouling biofilm development: a process analysis, Biotech. Bioing., 23, 1923-1960.
- CHARACKLIS W.G. (1984). Biofilm development: A process analysis. Dans : *Microbial adhesion and aggregation*.

- CHAUSSE K., D. PHANEUF, P. LEVALLOIS, et S. GSSE. (2003). Nitrates/Nitrites-Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. Groupe scientifique sur l'eau, Institut national de santé publique du Québec, 12 p.
- CHEN F., J.R. LU, B.J. BINDER, Y.C. LIU, et R.E. HODSON (2001). Application of digital image analysis and flow cytometry to enumerate marine viruses stained with SYBR gold. Applied and Environmental Microbiology, 67(2), 539-545.
- CHIELLINI E., A. CORTI et S. D'ANTONE (2007). Oxo-biodegradable full carbon backbone polymers -biodegradation behaviour of thermally oxidized polyethylene in an aqueous medioum. *Polym. Degrad. Stabil.*, 92, 1378-1383.
- CHOWDHURY S. (2012). Heterotrophic bacteria in drinking water distribution: A review. *Environ. Monit. Assess.*, 184, 6087-6137.
- CLARK R.M., M. SIVAGANESAN, E.W. RICE et J. CHEN (2003). Development of a Ct equation for the inactivation of Cryptosporidium ocysts with chlorine dioxide. *Water. Res.*, 37(11), 2773-2783.
- CLUTTERBUCK A.L., E.J. WOODS, D.C. KNOTTENBELT, P.D. CLEGG, C.A. COCHRANE and S.L. PERCIVAL (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet. Microbiol.*, 121, 1-17.
- COSTERTON J.W. (1999a). Introduction to biofilm. *Int. J. Anti microb. Agents*, 11, 217-221.
- COSTERTON J.W., P.S. STEWART, E.P. GREENBERG (1999b). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284, 1318-1322.
- CURRIERO F.C., J.A. PATZ, J.B. ROSE et S. LELE (2001). The association between extreme precipitation and waterborne disease outbreaks in the United States, 1948-1994. *American Journal of Public Health* 91(8), 1194-1199.
- CWAE. (2016). Facteurs qui limitent le biofilm dans le biofilm. Fiche technique. Centre de walkerston pour l'assainissement de l'eau. Num2. Vol2, p0479.
- DAKOURE D. (2003). Etude hydrogéologique et géochimique de la bordure Sud-Est du bassin sédimentaire de Taoudéni (Burkina Faso - Mali)- Essai de modélisation. Thèse de doctorat, sciences de la Terre, Géosciences et Ressources Naturelles, Université Paris VI - Pierre et Marie Curie, 255 p.
- DESERRE G., T.L. CROMEANS, B. LEVESQUE, N. BRASSARD, C. BARTHE, M. DIONNE, H. PRUD'HOMME, D. PARADIS, C.N. SHAPIRO, O.V. NAINAN et H.S. MARGOLIS (1999). Molecular confirmation of hepatitis A virus from well water:

epidemiology and public health implications. *Journal of Infectious Diseases*., 179(1), 37-43.

- DESHAYES, F. et M. SCHMITT (2001). Pollution du réseau d'eau potable à Strasbourg et survenue concomitante de gastro-entérites, mai 2000. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 5-7.
- DESJARDIN R. (1990). Le traitement des eaux. 2ème édition revue, Ed. Ecole polytechnique de Montréal, Canada, 304 p.
- DIB I. (2009). L'impact de l'activité agricole et urbaine sur la qualité des eaux souterraines de la plaine de Gadaine- Ain Yaghout (Est Algérien). Mémoire de magister en hydraulique, construction hydro-technique et environnement, faculté des sciences de l'ingénieur, département d'hydraulique, Université Hadj Lakhdar Batna, 127 p.
- DICKSCHAT J.S. (2010). Quorum sensing and bacterial biofilms. *Nat. Prod. Rep. Mar.*, 27, 343-369.
- DIRECTION NATIONALE DE L'EAU POTABLE ET DE L'ASSAINISSEMENT (DINEPA) (2013). G*uide technique. Réhabilitation/remplacement des réseaux d'eau potable.* -DINEPA, UNICEF, République d'Haïti, 58 p.
- DJELLOULI H. M et S. TALEB. (2005). Qualité chimique et bactériologique des eaux de consommation du Sud Algérien. Colloque International sur les Ressources en Eau Souterraines dans le Sahara (CIRESS), 12 et 13 décembre 2005, Ouargla, Algérie, 26 p.
- DONLAN R.M et JW. COSTERTON 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical Microbiology Reviews 15: 167–193.
- DONLAN R.M. et W.O. PIPES (1988). Selected drinking water characteristics and microbial population density. J *Am Water Works Assoc*., 80,70-76.
- DOUTERELO I., J.B. BOXALL, P. DEINES, R. SEKAR et K.E. FISH (2014a). Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water. Res.*, 65, 134-156.
- DOUTERELO I., R.L. SHARPE et J.B. BOXALL (2013). Influence of hydraulic regimes on bacterial community structure and composition in an experimental drinking water distribution system. *Water. Res.*, 47, 503-516.

- DOUTERELO I., S. HUSBAND et J.B. BOXALL (2014b). The bacteriological composition of biomass recovered by flushing an operational drinking water distribution system. *Water. Res.*, 54, 100-114.
- DPAT (2006). Annuaire statistique de la wilaya de Ouargla. Direction de la planification et de l'aménagement du territoire, 8-12.
- EDEN K.V., M.L. ROSENBURG, M. STOOPLER, B.T. WOOD, A.K. HIGHSMITH, P. SKALIY, J.G. WELLS et J.C. FEELEY (1977). Waterborne gastrointestinal illness at a ski resort. *Public Health Report*., 92(3), 245-250.
- EL OMARI H., N. BOUTALEBE, M. MEKOUAR, S. LAZAR, S. EL ANTRI et B. BAHLAOUAN (2018). Canalisations d'eau potable : une nouvelle formulation de tubes PVC anti-biofilm. *L'Eau, L'Industrie, Les Nuisances,* 405, 90-95.
- ELLIOUA M. (2010). Etude de l'évolution spatio-temporelle de certains paramètres de qualité dans le réseau d'eau potable de la RADEEMA., Spécialité: AEP ressource/besoin, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, 78 p.
- FALL C., 2008. Etude de la qualité de l'eau de robinet et de celle de la nappe phréatique dans les différentes Communes d'Arrondissement du département de Guédiawaye, Dakar, Sénégal. Mémoire de magister, Université Cheikh Anta Diop Dakar**,** Faculté des lettres et sciences humaines, Département de Géographie, 81 p.
- FARBER J.M. et P.I. PETERKIN (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, 55, 476-511.
- FAZLI M., H. ALMBLAD, M.L. RYBTKE, M. GIVSKOV, L. EBERL et T. TOLKER-NIELSEN (2014). Regulation of biofilm formation in *Pseudomonas* and *Burkholderia* species. *Environ. Microbiol.*, 16, 1961-1981.
- FEHDI C., A. BOUDOUKHA, A. ROUABHIA, et E. SALAMEH. (2009). Caractérisation hydrogéochimique des eaux souterraines du complexe aquifère Morsott-Laouinet (Région Nord de Tébessa, Sud-Est algérien). *Afrique Sciences* 05 (2) (2009) : 5-12.
- FIGARELLA J., et G. LEYRAL (2002). Analyse des eaux : Aspects réglementaires et techniques. Ed. Scérén CRDP d'Aquitaine, Paris, 360 p.
- FIGARELLA. J et G.LEYRAL. (2002). Analyse des eaux, aspects réglementaires et techniques. France, 360 p.
- FILLOUX A et I. VALLET (2003). Biofilm: positioning and organisation of bacterial communities. *Medecine Sciences*., 19-1, pp 77-83.

- FINBERG L., J. KILEY, et C.N LUTTREL. (1963). Mass accidental poisoning in infancy. *Journal of American Medicine Association*: 184-187.
- FLEMMING C.A., R.J. PALMER, A.A. ARRAGE, H.C. VAN DER MEI, D.C. White (1999). Cell surface physico chemistry alters biofilm development of *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide mutants. *Biofouling*., 13,3, pp 213-231.
- FLEMMING H.C., S.L. PERCIVAL et J.T. WALKER (2002). Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water Sci. Tech*., 2, 271-280.
- FLORENTZ M., P. HARTEMANN, J. T'SEYEN (1987). Métabolisme du phosphore dans la cellule bactérienne. In point sur l'épuration et le traitement des effluents, technique et documentation. Paris., 3,223-241.
- FNDAE. 2003. La dégradation de l'eau potable dans les réseaux. Ministère de l'agriculture et de la pêche. HS n°12.
- FRANK J.F. (2001). Microbial attachment to food and food contact surfaces. *Adv. Food. Nutr. Res.*, 43, 319-369.
- FRENCH ACF. 1. QUALITE DE L'EAU. DOC. *[En ligne]*. Disponible sur :<www.watersanitationhygiene.org/.../Water%20Quality/Water%20Quality>consulté le 27mars2018.
- GABORIAUD F., E. DAGUE, S. BAILET, F. JORAND, J. DUVAL et F. THOMAS (2006). Multiscale dynamics of the cell envelope of *Shewanella putrifaciens*as response to pH change, Colloids and surfaces B., 52,108-116.
- GALLARDO-MORENO A.M., M.L. GONZALEZMARTIN, C. PÉREZ-GIRALDO, E. GARDUNO, J.M. BRUQUE et A.C. GOMEZ-GARCIA (2002). Thermodynamic analysis of growth temperature dependence in the adhesion of *Candida parapsilosis*to polystyrene. *App. Environ. Microbiol.*, 68, 2610-2613.
- GANDHI M. et M.L. CHIKINDAS (2007). *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. *Int. J. Food. Microbiol.*, 113, 1-15.
- GAUTHIER Y. et P. ISOARD (1989). L'adhésion des bactéries sur les surfaces. *Industries Alimentaires et Agricoles*., 106 (1-2), 31-33.
- GAUTHIER.F. (2002). Qualité et Gestion de l'Eau. Mémoire d'étude supérieur spécialisé. l'Université de Picardie – Amiens. France.69p.
- GENEVAUX P., S. MULLER et P. BAUDA (1996) A rapid screening procedure to identify mini-Tn10 insertion mutants of *Escherichia coli* K-12 with altered adhesion properties. *FEMS Microbiol. Lett.* 142, 27-30.

- GILLES-PASCAL HUSSON., M. LECSO, F. HUI et J. L´EDION. (2010). Étude des charges inorganique et bactériologique de biofilms formés en eau potable. *www.water-quality-journal.org*.14p.
- GOETZ C., Y.D.N. TREMBLAY, D. LAMARCHE, A. BLONDEAU, A.M. GAUDREAU, J. LABRIE, F. MALOUIN et M. JACQUES (2017). Coagulase negative staphylococci species affect biofilm formation of other coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci. *J. Dairy Sci.*, 100, 6454-6464.
- GOLLER C.C. et T. ROMEO (2008). Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 322, 37-66.
- GOMEZ-ALVAREZ V., K.A. SCHRANTZ, J.G. PRESSMAN et D.G. WAHMAN (2014). Biofilm community dynamics in bench-scale annular reactors simulating arrestment of chloraminated drinking water nitrification. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 5448-5457.
- GRAVES N. (2004). Economics and preventing hospital-acquired infection. Emerg Infect. *Dis*., 10, 561-566.
- GROBOILLOT A., D.K. BOADI, D. PONCELET et R.J. NEUFELD (1994). Immobilization of cells for application in the food industry. *Crit. Rev. Biotechnol*. 14: 75-107.
- GUERGAZI S. et S. ACHOUR. (2005). Caractéristiques physico-chimiques des eaux d'alimentation de la ville de Biskra, pratique de la chloration. *Lahryss Journal*: 119-127.
- GUILLEMOT G. (2006). Compréhension des mécanismes à l'origine de l'adhésion de *Saccharomyces cerevisiae* sur acier inoxydable - Implications pour l'hygiène des surfaces en industrie agroa Jana imentaire. Thèse de l'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
- HADAD D.S., A. GERESH et J. SIVAN (2005). Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis. Appl. Microbiol.*, 98, 1093-1100.
- HAKMI A. (2006). Traitement de l'eau de source Bousfer Oran. Mémoire de licence traitement des eaux, Université des Sciences et de la Technologie Oran, 48 p.
- HALL-STOODLEY L., J.W. COSTERTON et P. STOODLEY (2004). Bacterial biofilms: *From the natural environment to infectious diseases. Nature Reviews Microbiology*., 2-2, pp 95-108.

- HAMADI F., H. LATRACHE, A. EL GHMARI, M. ELLOUALI, M. MABRROUKI et N. KOUIDER (2004). Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Ann. Microbiol.*, 54, 213-225.
- HARKABUS N. (2006). Etude de la mise à l'équilibre de l'eau avec diminution du potentiel de dissolution du plomb et Choix d'une décarbonation pour la ville de Dijon. Mémoire Spécialisé EPA, Ecole Nationale du Génie de l'Eau et de l'Environnement de Strasbourg, 95 p.
- HASLAY C., H. LECLERC. (1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Ed. Technique et documentation-Lavoisier, Paris: 70-72.
- HAUDIDIER K., J.L. PAQUIN, T. FRANCAIS, P. HARTEMANN, G. GRAPIN, F. COLIN, M.J. JOURDAIN, J.C. BLOCK, J. CHERON, O. PASCAL, Y. LEVI et J. MIAZGA (1988). Biofilm growth in a drinking water network: a preliminary industrial pilot-plant experiment. *Wat. Sci. Tech.*, 20,109-115.
- HERSON D.S., et B. MCGONIGLE, M.A. PAYER, K.H. BAKER (1987). Attachment as a factor in the protection of *Enterobacter cloacae* from chlorination, *Applied and environmental microbiology*., 53,1178-1180.
- HRUDEY S.E., P. PAYMENT, P.M. HUCK, R.W. GILLHAM et E.J. HRUDEY (2003). A fatal waterborne disease epidemic in Walkerton, Ontario: comparison with other water borne out breaks in the developed world. *Wat. Sci. Tech.*, 47(3), 7-14.
- HUANGJ., C. LACROIX, H. DABA et R. Simard (1996). Pediocin 5 production and plasmid stability during continuous free and immobilized cell cultures of *Pediococcus acidilactici* UL5.*J. Appl. Bacteriol.*, 80**,** 635-644.
- HUSSAIN M.S., M. KWON et D.H. OH (2018). Impact of manganese and heme on biofilm formation of *Bacillus cereus* food isolates. PLOS ONE, 13, Art. e0200958. DOI: 10.1371/journal.pone.0200958.
- ISO (1989). Qualité de l'eau. Dosage de la somme du Calcium et du magnésium. Méthode titrimétrique à la l'EDTA. NA752, ISO 6059. Ed. INAPI. Edition et diffusion, Alger, 5 p.
- ISO (1990). Qualité de l'eau. Dénombrement des micro-organismes revivifiables. Comptage des colonies par inoculation dans ou sur un milieu de culture nutritif gélosé. NA 763, ISO 6222. Ed. INAPI. Edition et diffusion, Alger, 4 p.

- ISO (1990). Qualité de l'eau. Dosage de l'ammonium. Méthode par distillation et titrimétrie. NA 1848, ISO 5664. Ed. INAPI. Edition et diffusion, Alger, 3 p.
- ISO (1990). Qualité de l'eau. Dosage du sodium et du potassium. Méthode par spectromètre d'émission à flamme. NA 1653, ISO 9964/3. Ed. INAPI. Edition et diffusion, Alger, 4 p.
- ISO (1994). Qualité de l'eau. Dosage des nitrites. Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire. NA 1657, ISO 6777. Ed. INAPI. Edition et diffusion, Alger, 4 p.
- ISO (1994). Qualité de l'eau. Dosage du phosphore. Dosage par méthode spectrométrique à l'aide du molybdate d'ammonium. NA 2364, ISO 6878/1. Ed. INAPI. Edition et diffusion, Alger, 20 p.
- JORA (2009). Le décret exécutif n° 09-414. Journal Officiel de la République Algérienne N°75, 20 décembre 2009, Alger., 10-15.
- JORA 2005. Loi nº 05-12 relative à l'eau. Journal officiel de la République Algérienne Nº 60, 4 septembre 2005, Alger : 3-8.
- 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.
- JORET J.C. et Y. LEVI (1986). Méthode rapide d'évaluation du carbone éliminable des eaux par voie biologique, Trib. CEBEDEAU, 39, 3-9.
- JORET J.C., Y. LEVI et C. Volk (1991). Biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) content of drinking water and potential regrowth of bacteria. *Wat. Sci. Technol*., 2**,** 95-101.
- JOUENNE T. (2008). *Biofilms bactériens.* Techniques de l'Ingénieur, Bioprocédés, base documentaire, Réf. : BIO600 v1.
- JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE (JORADP) (2011). *Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine.* JORADP No 18, 23 mars 2011, pp. 7-9.
- JUERY C. (2004). Définition des caractéristiques techniques de fonctionnement et domaine d'emploi des appareils de désinfection. Document technique FNDAE n°2, office internationale de l'eau, SNIDE., 7-14.
- JUHNA T., D. BIRZNIECE, S. LARSSON, D. ZULENKOVS, A. SHARIPO, N.F. AZEVEDO, F.MENARDSZCZEBARA, S. CASTAGNET, C. FELIERS et C.W. KEEVIL (2007). Detection of *Escherichia coli* in *Biofilms bactériens des conduites*

d'eau potable du Sud-Est algérien 460 biofilms from pipe samples and coupons in drinking water distribution networks. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73:7456- 7464.

- KAPLAN L. A, et T. BOTT. 1993. Evaluation and simplication of the assimilable organic carbon nutrient bioassay for bacterial growth in drinking water, Applied and Environmental Microbiology. 59:1532–1539.
- KAREL S.F., B. LIBICKI et C.R. Robertson (1985). The immobilization of whole cells: Engineering principles. *Chem. Eng. Sci.*, 40, 1321-1354.
- KARIM M., M. ABBASZADEGAN et M.W. LECHEVALIER (2003). Potential for pathogen intrusion during pressure transients. *Journal of American. Water .Works Association.*, 95(5), 134-146.
- KETTAB A. (1992). Traitement des eaux, les eaux potables. Ed. Office des publications universitaires, Alger : 7-29.
- KOLTER R et E.P. GREENBERG (2006). Microbial sciences, the superficial life of microbes. *Nature*, 441, 7091, pp 300-302.
- KRISHNA K.C.B., A. SATHASIVAN et M.P. GINIGE (2013). Microbial community changes with decaying chloramine residuals in a lab-scale system. *Water. Res.*, 47, 4666-4679.
- KUHN D.M., J. CHANDRA, P.K. MUKHERJEE, et M.A. GHANNOUM (2002). Comparison of Biofilms Formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on Bioprosthetic Surfaces. Infection and Immunity., 70,878-888.
- LADJEL S., (2009). Contrôle des paramètres physico-chimiques et bactériologiques d'une eau de consommation. Les cahiers techniques du stage T 7. Centre de formation en métiers de l'eau, Tizi-Ouzou, 101 p.
- LARPENT J.P. (1997). Microbiologie alimentaire: Technique de laboratoire. Ed. Technique et documentation-Lavoisier, Paris, 1073 p.
- LATRACHE H. (1993). Les propriétés de la surface d'*Escherichia coli* uropathogènes et leur variation après culture en présence de concentration subinhibitrice de nitroxoline. Thèse de L'Université Paris Sud.
- LE CHEVALLIER M.W., SHAW N.J., SMITH D.E., 1994, Factors related to regrowth of coliform bacteria, *Proceedings of American Water Works Association WQTC meeting*, San Francisco, p. 657-661.

- LE CLOIREC C., P. LE CLOIREC, M. ELMGHARI, J. MORVAN et G. MARTIN (1983). Concentration and analysis of numerous nitrogenous organic substances in natural waters. Int. j. *Environ. Anal. Chem.*, 14,127-145.
- LÉ V. (2008). *Influence du cuivre sur les biomasses microbiennes dans les canalisations d'eau.* Thèse de doctorat, Univ. Paris-Sud 11, France, 80 p.
- LEBRES E.A et F. MOUFFOK (2008). Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Laboratoires bactériologiques alimentaires et des eaux. Institut Pasteur d'Algérie, Alger, 53 p.
- LECHEVALLIER M.W., C.D. CAWTHON, R.G. LEE (1988). Inactivation of biofilm bacteria. Applied and Environnemental. *Microbiology*., 54, 2492-2499.
- LECLERC H. (1975). Microbiologie générale. Doined. Paris. 279p.
- LEE D.G., J.H. LEE et S.J. KIM (2005). Diversity and dynamics of bacterial species in a biofilm at the end of the Seoul water distribution system. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 21, 155-162.
- LEHTOLA M.J., I.T. MIETTINEN, M.M. KEINANEN, T.K. KEKKI, O. LAINE, A. HIRVONEN, T. VARTIAINEN et P.J. MARTIKAINEN (2004). Microbiology, chemistry and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes. *Water. Res.*, 38, 3769-79.
- LEJEUNE P. (2003). Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. *Trends in Microbiology*., 11,4, 179-184.
- LEVALLOIS P. (2003). Bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives. Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. Groupe scientifique sur l'eau, Institut national de santé publique du Québec, 3 p.
- LEVI Y. (1995). Les paramètres influençant le développement des germes dans les réseaux d'eau potable. Ed. Technique Science et Méthode, N°3 : 240-245.
- LIN W., Z. YU, X. CHEN, R. LIU et H. ZHANG (2013). Molecular characterization of natural biofilms from household taps with different materials: PVC, stainless steel, and cast iron in drinking water distribution system. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 8393-8401.
- LITTLE B.J., P. WAGNER, J.S. MAKI, M. WALCH, R. MITCHELL (1986). Factors influencing the adhesion of microorganisms to surfaces. *The Journal of adhesion*., 20,187-210.

- LIU G., J.Q.J.C VERBERK et J.C. VAN DIJK (2013).Bacteriology of drinking water distribution systems: an integral and multidimensional review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*97:9265-9276.
- LIU G., Y. ZHANG, W.J. KNIBBE, C. FENG, W. LIU, G.MEDEMA et W. VAN DER MEER (2017). Potential impacts of changing supply-water quality on drinking water distribution: A review. *J. Water Res.*, 116, 135-148.
- LIU S., C. GUNAWAN, N. BARRAUD, S.A. RICE, E.J. HARRY et R. AMAL (2016). Understanding, monitoring and controlling biofilm growth in drinking water distribution systems. *Environ. Sci. Technol.*, 50, 8954-8976.
- LUNEAU S. (2014). Réseaux d'eau potable : surveiller les biofilms pour mieux les maîtriser. https://www.lagazettedescommunes.com/234658/reseaux-deaupotable-surveiller-les-biofilms-pour-mieux-les-maitriser/ (consultation le 13 février 2019).
- MAC KENZIE W.R., N.J. HOXIE, M.E. PROCTOR, M.S. GRADUS, K.A. BLAIR, D.E. PETERSON, J.J. KAZMIERCZAK, D.G. ADDISS, K.R. FOX, J.B. ROSE, et J.P. DAVIS (1994). Massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. *New England Journal of Medicine*., 331, 161-167.
- MADIGAN T., C. MICHAEL et M. MARTINKO. (2007). Biologie des micro-organismes. Ed. Pearson Education, France(onzième édition), 917-933p.
- MANSOTTE F. et P. BEAUDEAU (1999). Impact sanitaire d'une coupure d'eau accidentelle au Havre et d'une panne de désinfection à Fécamp (Seine-Maritime). Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, institut de veille sanitaire., 167-169.
- MANUEL C.M., O.C. NUNES, L.F. MELO (2007). Dynamics of drinking water biofilm in flow/non-flow conditions. Water. Res., 41, 551-562.
- MARCIANO-CABRAL F., M. JAMERSON et E.S. KANESHIRO (2010). Free-living amoebae, *Legionella* and *Mycobacterium* in tap water supplied by a municipal drinking water utility in the USA. *J. Water Health*, 8, 71- 82.
- MARSH P. D et M. V. MARTIN (1992). Dental plaque. In: Oral microbiology. 3rd edn. London: Chapman and Hall, 98-132.
- MARSHALL K.C. (éd.), Dahlem Konferenzen 1984, Heidelberg, Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 137-157.
- MARTINY A.C., H.J. ALBRECHTSEN, E. ARVIN et S. MOLIN (2005) Identification of bacteria in biofilm and bulk water samples from a non chlorinated

model drinking water distribution system: detection of a large nitrate-oxidizing population associated with *Nitrospira spp*. *Applied and Environmental Microbioloy*., 71(12), 8611-8617.

- MARTINY A.C., T.M. JØRGENSEN, H.J. ALBRECHTSEN, E. ARVIN et S. Molin (2003). Long-term succession of structure and diversity of a biofilm formed in a model drinking water distribution system. *Applied and Environmental Microbiology*., 69(11), 6899-6907.
- MASSIEUX B., M.E. BOIVIN, F.P. VAN DEN ENDER, J. LANGENSKIOLD, P. MARVAN, C. BARRANGUET, W. ADMIRAAL, H.J. LAANBROEK et G. ZWART (2004). Analysis of structural and physiological profiles to assess the effects of Cu on biofilm microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 4512-4521.
- MATHIEU L., C. BOUTELEUX, S. FASS, E. Angel et J.C. Block (2009). Reversible shift in the alpha-beta and gamma-proteobacteria populations of drinking water biofilms during discontinuous chlorination. *Water. Res*., 43(14), 3375-3386.
- MATHIEU L., M. L. OGER, et J. C. BLOCK (1998). Stabilité biologique des eaux distribuées dans un réseau soumis à des variations saisonnières de consommation. Ed. Techniques, sciences et méthodes, N° 2 : 46-54.
- MAUL A., A.H. EL-SHAARAWI et J.C. BLOCK (1985). Heterotrophic bacteria in water distribution systems. I. Spatial and temporal variation. *Sci*. *Total Environ*., 44, 01-214.
- MAUL A., D. VAGOST, J.C. BLOCK. (1989). Stratégie d'échantillonnage pour analyse microbiologique sur réseau de distribution d'eau, méthodes et programmes informatiques, Ed. Technique et documentation-Lavoisier, Paris : 1-9.
- MAULE A., J.T. WALKER et C.W. KEEVIL (1999). *The survival of Escherichia coli O157 in biofilms on copper, stainless steel and plastic plumbing materials and as dried deposits on copper, stainless steel and brass.* Rapport final CAMR (Center for Applied Microbiology and Research),International Copper Association, Project 483, Royaume-Uni, 91 p.
- MAUNULA L I.T. MIETTINEN et C.H. VON BONSDORFF (2009). Norovirus outbreaks from drinking water. *Emerging Infectious Diseases*., 11(11), 1716-1721.
- MCFETERS G.A. (1984). Biofilm development and its consequences. In: Marshall KC, editor. Microbial adhesion and aggregation. Berlin: Springer., 109-124.

- MEDDOURE. F. (2012). Bioadhésion sur supports inertes : Influence de certains paramètres physico-chimiques sur la formation du biofilm *d'Enterococcus faecalis*. Mémoire de magister Université De Souk-Ahras. Institut des Sciences et de technologie. 102p.
- MEGDOUD D. (2003). Qualité des eaux du Sahara Septentrional. Journées Techniques et Scientifiques sur la qualité des eaux du Sud : Un combat pour la qualité, 19 et 20 mai 2003, El Oued, 45.
- MENTZING L.O. (1981). Water borne outbreaks of *Campylobacter enteritis* in central Swenden. The Lancet., 318, 352-354.
- MI Z., Y. DAI, S. XIE, C. CHEN et X. ZHANG (2015). Impact of disinfection on drinking water biofilm bacterial community. *J. Environ. Sci.*, 37, 200-205.
- MISTY-MARTIN S., C. INÊS-SANTOS, D. DOUGCARLTON Jr, P. STIGLER-GRANADOS, L. ZACARIAH HILDENBRAND et A. KEVINSCHUG (2017). Characterization of bacterial diversity in contaminated groundwater using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Sci. Total. Environ*., 622–623, 1562-1571.
- MONTIEL A. (1999). Contrôle de la pollution de l'eau. Ed. Techniques de l'ingénieur, 12 p.
- MOZES N., F. MARCHAL, H.P. HERMESSE, J.L. VAN HAECHT, L. REULIAUX et A.J. LEONARD (1987). Immobilization of microorganisms by adhesion: interplay of electrostatic and non-electro static interactions. *Biotechnol Bioeng*., 30,433-450.
- NAWROCKI J., U. RACZYK-STANISLAWIAK, J. SWIETLIK, A. OLEJNIK et M.J. SROKA (2010). Corrosion in a distribution system: steady water and its composition. *Water. Res.*, 44, 1863-1872.
- NDIONGUE S., P.M. HUCK et R.M. SLAWSON (2005). Effects of temperature and biodegradable organic matter on control of biofilms by free chlorine in a model drinking water distribution system. *Water Res.*, 39:953-964.
- NEZLI I. D., S.ACHOUR et B. HAMDI-AISSA. (2009). Approche hydrogéochimique à l'étude de la fluoration des eaux de la nappe du complexe terminal de la basse vallée de l'Oued M'ya (Ouargla). Courrier de savoir, 9 : 57-62.
- NIEUWENHUIJSEN M.J., M.B. TOLEDANO, N.E. EATON, J. FAWELL et P. ELLIOTT (2000). Chlorination disinfection by products in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review. *Occup. Environ. Med.*, 57, 73-85.

- NYGARD K., M. TORVEN, C. ANCKER, S.B. KNAUTH, K.O. HEDLUND, J. GIESECKE., Y., ANDERSSON et L., SVENSSON (2003) Emerging genotype (GGIIb) of norovirus in drinking water, Sweden. *Emerging Infectious Diseases* 9(12), 1548-1552.
- O'TOOLE G.A. et R. KOLTER (1998) Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol. Microbiol.*, 30, 295-304.
- OIEAU. (1999a). Les causes de dégradation de la qualité de l'eau pendant son transport. Office international de l'eau, centre national de formation aux métiers de l'eau, 8 p.
- OIEAU. (1999b). Le maintien de la qualité de l'eau lors de sa distribution. Office international de l'eau, centre national de formation aux métiers de l'eau, 9 p.
- OMS. (1965). Normes internationales pour l'eau de boisson. 2ème édition. Ed. Organisation mondiale de la santé, Genève, 31 p.
- OMS. (1972). Normes internationales applicables à l'eau de boisson. 3ème édition. Ed. Organisation mondiale de la santé, Genève, 74 p.
- OMS. (1993). Directives de l'OMS pour la qualité de l'eau de boisson. Recommandations. Organisation mondiale de la Santé, Genève : 49-50.
- OMS. (1995). Évaluation de certains additifs alimentaires et contaminants : quarante quatrième rapport du comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires. Organisation mondiale de la Santé, Genève: 32-46.
- OMS. (2004). Directives de qualité pour l'eau de boisson. 3ème édition, Vol. 1. Directives. Ed. Organisation mondiale de la sante, Genève, 110 p.
- OMS. (2006). Directives de qualité pour l'eau de boisson, troisième édition. Recommandations. Organisation mondiale de la Santé, Genève, 78 p.
- ONA (2003). Données de l'office national d'assainissement. Ouargla., 51 p.
- OULD BABA SY M. (2005). Recharge et paléo-recharge du système aquifère du Sahara Septentrional, Thèse Doctorat, Université El Manar de Tunis, 261 p.
- PAN J., J.R. WILLIAM, A.E. MARC et P. AMY (2017). Impact of water heater temperature setting and water use frequency on the building plumbing microbiome. *ISME J.*, 11, 1318-1330.
- PAN Y., F. BREIDT et S. KATHARIOU (2009). Competition of *Listeria monocytogenes* serotype 1/2a and 4b strains in mixed-culture biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75, 5846-5852.

- PARENT A. (1996). Control of Coliform Growth in Drinking Water Distribution Systems. Journal. Chart. Inst. *Water. Environ. Manag*., 10,442.
- PARIS T., S. SKALI-LAMI et J.C. BLOCK (2009). Probing young drinking water biofilms with hard and soft particles. *Water. Res*., 43(1), 117-126.
- PARK S.K. et J.Y. HU (2010). Interaction between phosphorus and biodegradable organic carbon on drinking water biofilm subject to chlorination. *J. Appl. Microbiol.*, 108, 2077-2087.
- PARSEK M.R. et E.P. GREENBERG (2005). Socio microbiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol.*, 13, 27-33.
- PELLEÏEUX S. (2013). Interaction de bactériophages avec des surfaces colonisées par des biofilms d'eau potable et évaluation de protocoles de nettoyage. Ecole Doctorale Bio SE (Biologie-Santé-Environnement). Université de Lorraine .189p.
- PERCIVAL S.L. et J.T. WALKER (1999). Potable water and biofilms: A review of the public health implications. *Biofouling*, 14, 99-115.
- PERCIVAL S.L., J.S. KNAPP, D.S. WALES et R.G.J. EDYVEAN (1999). The effect of turbulent flow and surface roughness on biofilm formation in drinking water. *Journal of Industrial Microbiolo gyand Biotechnology*., 22(3), 152-159.
- POITELON J.B., M. JOYEUX, B.WELTE, DUGUET, J.P et M. SCOTT DUBOW (2011) Le réseau de distribution d'eau potable : un écosystème complexe lié à des enjeux de santé publique. *Journal of Water Science* 24(4), 383-418.
- PONS C., F. FARCAS, E. RICHAUD, B. FAYOLLE, T. BOUCHEZ et L. MAZEAS (2012). Influence de la préoxydation d'un PEHD sur l'extraction des carbonyles et la croissance d'un bioflm. *Mat. Tech.*, 100, 211-220.
- PRATT L.A et R. KOLTER (1998). Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol. Microbiol.*, 30,285-293.
- PRATT L.A., et R. KOLTER (1998) Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol. Microbiol*., 30, 285-293.
- QAQISH A., D.E. GUASTELLA, J.H. DILLINGHAM et D.V. CHASE (1995). Control of hydraulic transient in large water transmission mains, p 507-526, AWWA, Annual Conference Proceedings – Engineering and Operations, Anaheim, CA, American Water Works Association, Denver, CO.

- REISNER A., J.A HAAGENSEN, M.A. SCHEMBRI, E.L. ZECHNER et S. MOLIN (2003) Development and maturation of *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Mol. Microbiol.*, 48, 933-946.
- REYNOLDS T et G.R. FINK (2001). Bakers' yeast, a model for fungal biofilm formation. *Science*., 291,878-881.
- RICHARD C. (1996). Les eaux, les bactéries, les hommes et les animaux. Ed. Edition Scientifiques et Médicales Elservier, Paris, 115 p.
- RIDGWAY H.F. et B.H. OLSON (1981). Scanning microscope evidence for bacterial colonization of a drinking water distribution system. *Applied And Environmental Microbiology*., 41, 274-287.
- RIDGWAY H.F. et B.H. OLSON (1982). Chlorine Resistance Patterns of Bacteria from Two Drinking Water Distribution Systems. *Applied And Environmental Microbiology*., 44, 972- 987.
- RIZET M., J. BLANC, M. COGNET, M. DERONS, N. DORIZON, et G. FILIPPI (1984). Qualité de l'eau dans les réseaux de distribution, son évolution biologique et chimique. *J. Fr. Hydrol.*, 15, 207-221.
- ROBERT H. (1999). Qualité microbiologique des eaux brutes distribuées par BRL: exigences et conception d'un suivi adapte. Mémoire d'ingénieur en génie sanitaire, Ecole nationale de la santé publique, Languedoc-Roussillon, Rhône-Catalogne, 80 p.
- RODIER J. (2009). *L'Analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer*. 9e éd., Dunod, Paris, France,1384 p.
- RODIER J. In Dunod Paris, L'analyse de l'eau, 8e Edition, 1996.
- RODIER J., C. BAZIN, J.P. BROUTIN, P. CHAMBON, H. CHAMPSAUR, et L. RODI (2005). L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. *Ed. Dunod, Paris*., 1384 p.
- ROGERS J., A.B. DOWSETT, J.V. LEE, C.W. KEEVIL (1991). Chemostat studies of biofilm development on plumbing materials and the incorporation of *Legionella pneumophila*. Biofilms and biodeterioration and biodegradation. *Elsevier*., 458-460.
- ROGERS J., A.B. DOWSETT, P.J. DENNIS, J.V. LEE et C.W. KEEVIL (1994). Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 1842- 1851. *Sci.*

Technol., 48, 1828-1834. Secrétariat à l'Environnement, N° 16455, Ottawa, Canada, 249 p.

- ROUVILLOI-BRIGOL M. (1975). Le pays de Ouargla (Sahara Algérien), valorisation et organisation d'un espace rural en milieu désertique. Département de géographie de l'université de paris-Sorbonne, Paris., 3-208.
- ROUX A. et G.M. GHIGO. (2006). Les biofilms bactériens Bull. *Acad. Vét*. France - Tome 159 - N°3 www.academie-veterinaire-defrance.org.
- RUBIO C. (2002). Conception des mécanismes d'adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention. Thèse de l'Université Paris VI.
- SADIKI A.I., D.T. WILLIAMS, R. CARRIER, et B. THOMAS (1996). Pilot study on the contamination of drinking water by organotin compounds from PVC materials. *Chemosphere*., 32, 2389-2398.
- 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. Thèse de Doctorat d'état en pharmacie. Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie Bamako, 73 p.
- SCHNEIDER R.P. (1997). Bacterial adhesion to solid substrata coated with conditioning films derived from chemical fractions of natural waters. *Journal of Adhesion Science and Technology*., 11, 979-994.
- SCHOELLER H. (1962). Les eaux souterraines. Ed. Masson et Cie, Paris, 642 p.
- SERVAIS P., G. BILLEN et M.C. HASCOET (1987). Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. *Water*. *Research*., 21, 445-450.
- SERVAIS P., P. LAURENT et G. RANDON (1995). Comparison of the bacterial dynamics in various french distribution systems. *Aqua - Journal of Water Supply: Research and Technology*., 44(1), 10-17.
- SIBILLE I. (1998). Stabilité biologique des réseaux de distribution d'eau potable, Année biologique., 78,117-161.
- SIBILLE I., L. MATHIEU, J.L. PAAUIN, D. GATEL et J.C. BLOCK (1997). Microbial characteristics of a distribution system fed with nanofiltered drinking water. *Water*. *Research*., 31(9), 2318- 2326.

- SIMOES L.C., M. SIMOES, R. OLIVEIRA et M.J. VIEIRA (2007). Potential of the adhesion of bacteria isolated from drinking water to materials. *J. Basic. Microbiol*., 47, 174- 183.
- SINGLETON P. (2005). Bactériologie : pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. Ed. Dunod, Paris, 542 p.
- SKRABER S., J. SCHIJVEN, C. Gantzer et A.M. DE RODA HUSMAN (2005). Pathogenic viruses in drinking-water biofilms: a public health risk? Biofilms 2(02), 105-117.
- SPEAR C. et R.C. PIERCE (1980). *Le cuivre dans l'environnement aquatique : chimie, répartition et toxicologie.* Conseil national de recherche du Canada, Publications du
- SQUINAZI F. (2004). Biofilm et matériaux des canalisations des réseaux de distribution d'eau. Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris, 52 p.
- SQUINAZI F. (2006). Analyse en microbiologique : Environnement microbien (air, surfaces, eau). *Ed. Techniques de l'ingénieur*, Paris, 12 p.
- SQUINAZI F. (2013). *Biofilm et matériaux des réseaux intérieurs de distribution d'eau*. Éd. 2013, Docteur Fabien Squinazi, 103 p.
- STANLEY P.M. (1983). Factors affecting the irreversible attachement of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel. *Can. Journal of microbiology*., 29, 1493-1499.
- SUTHERLAND I.W. (2001). The biofilm matrix-an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in Microbiology*., 9,5, pp 222-227.
- TABOUCHE N., S. ACHOUR (2004). Etude de la qualité des eaux souterraines de la région orientale du Sahara septentrional Algérien. *Lahryss journal*., 99-113.
- TAYLOR R.H., J.O. FALKINHAM, C.D. NORTON et M.W. LECHEVALLIER (2000). Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of Mycobacterium avium. *Applied and Environmental Microbiology*., 66(4), 1702-1705.
- TENG F., Y.T. GUAN et W.P. ZHU (2008). Effect of biofilm on cast iron pipe corrosion in drinking water distribution system: Corrosion scales characterization and microbial community structure investigation. *Corros. Sci.*, 50, 2816- 2823.
- TERKMANI A. (2009). Maintien de la qualité de l'eau dans les réseaux de distribution et lutte contre les pollutions accidentelles. Les cahiers techniques du stage T 24. Centre de formation en métiers de l'eau, Tizi Ouzou., 101 p.

- TILLAUT H., N. ENCRENAZ, E. Checlair, A. Alexandre-Bird, E. Gomes Do Esperito Santo et P. Beaud eau (2002). Epidémie de gastro-entérite, Isère, novembre 2002. Bulletin épidémiologique hebdomadaire n°12, 3-4.
- TOMLIN K.L., R.J. MALOTT, G. RAMAGE, D.G. STOREY, P.A. SOKOL et H. CERI (2005). Quorum-sensing mutations affect attachment and stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 5208-5218.
- TRICARD D. et P. BUFFAUT (1995). Interprétation et communication des résultats au regard des normes microbiologiques relatives aux eaux destinées à la consommation humaine. *TSM*, 3,196-199.
- USEPA. (2008). Water Quality in Small Community Distribution Systems. A Reference Guide for Operators.
- VAN DER KOOIJ D. (1982). Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth, J. *Am. Water Works Assoc*., 84, 57-65.
- VAN DER KOOIJ D. (2003). Heterotrophic Plate Count and Drinking water safety. Ed. World Health Organization, *IWA Publishing*, London : 117-161.
- VAN LOOSDRECHT M.C., J. LYKLEMA, W. NORDE, et A.J. ZEHNDER (1990). Influence of interfaceson microbial activity. *Microbiol.Rev*., 54, 75-87.
- VAN LOOSDRECHT M.C.M., J. LYKLEMA, W. NORDE, G. SCHRAA et A.J.B. ZEHNDER (1987). Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. *Appl. Environ. Microbiol*., 53, 1898-1901.
- VAN OSS C.J., R.J. GOOD et M.K. CHAUDHURY (1986). The role of van-der-Waals forces and hydrogen bonds in hydrophobic interactions between biopolymers and low energy surfaces. *J. Col. Inter. Sci*., 11, 378-390.
- VARMA P.R.G. et T.S.G. LYER (1993). Viability of *Listeria monocytogenes* in water. *Fishery Technol.*, 30, 164-165.
- WALKER J.T., J. ROGERS et C.W. KEEVIL (1993). *The influence of plumbing tube material, water chemistry and temperature on biofouling of plumbing circuits with particular reference to the colonization of Legionella pneumophila.* Annual report, ICA Project 437 A, États-Unis, 52 p.
- WALSKI T.M. et T.L. LUTES (1994). Hydraulic transient cause low-pressure problems. *Journal of American Water Works Association* 86(12), 24-32.

- WANG H., S. MASTERS, M.A. EDWARDS, J.O. FALKINHAM et A. PRUDEN (2014). Effect of disinfectant, water age, and pipe materials on bacterial and eukaryotic community structure in drinking water biofilm. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 1426-1435.
- WATKINS L. et J.W. COSTERTON (1984). Growth and biocide resistance of bacterial biofilms in industrial systems. Chem Times Trends (October)., 35–40.
- WEI Q. et L.Z. MA (2013). Biofilm matrix and its regulation in *Pseudomonas aeruginosa. Int. J. Mol. Sci.*, 14, 20983-21005.
- WHO. (2008). Guidelines for Drinking Water Quality. Third Edition Incorporating the First and Second Addenda, World Health Organization. Volume 1: Recommendations, Geneva, 515 p.
- WU M., Y. QIAN, J.M. BOYD, S. LEAVEY et S.E. HRUDEY (2014). Identification of tobacco-specific nitrosamines as disinfection by products in chloraminated water. *Environ.*
- WU W., R.F. GIESE et C.J. VAN OSS (1994). Linkage between potential and electron donicity of charged polar surfaces. I: Implications for the mechanism of flocculation of particle suspensions with plurivalentcounter ions. Colloids surf., A Physico chem. *eng. Asp.*, 89,241-252.
- WUHRMANN K. et R. MITCHELL (1972). Stream Purification in Water pollution Microbiology. *New York: Wiley Inter science*., 119-200.
- XUE Z. et Y. SEO (2013). Impact of chlorine disinfection on redistribution of cell clusters from biofilms. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 1365-1372.
- ZENG D.N., Z.Y. FAN, L. CHI, X. WAN et W.D. QU (2013). Analysis of the bacterial communities associated with different drinking water treatment processes. *World. J. Microbiol. Biotechnol.*, 29, 1573-1584.

Annexes

ANNEXE 1

Composition des différents milieux de cultures utilisés

Tryptone Glucose Agar (TGEA)

Tryptone…… 5g

Extrait de levure…… 2.5g

Glucose……. 1g

Agar…….. 15g

Eau distillé…… 1000ml

pH : 7.1± 0,1.

Gélose Tergitol au chlorure TTC

Extrait de viande ……. 5g

Extrait de levure……. 6g

Peptones ……. 10g

Lactose …….. 20g

Bleu de bromothymol …… 5ml

Agar…… 13g

Eau distillé…….. 1000ml

pH = 7,2 ± 0,2.

Gélose Trypticase-soja TSA

Peptone trypsique de caséine……... 15g

Peptone papaïnique de soja…….. 5g

Chlorure de sodium…….. 5g

Agar …….. 15g

Eau distillé…… 1000ml

pH = 7,3

Gélose SLANETZ et BARTLEY

Tryptose ……. 20g

Extrait autolytique de levure ……. 5g

Glucose …… 2g

Phosphate dipotassique…… 4g

Azide de sodium ……. 0,4g

Chlorure de 2, 3, 5 , Triphényltétrazolium ……. 0,1g

Agar agar …… 10g

Eau distillé…… 1000ml

pH = 7,2 ± 0,2.

Gélose viande-foie pour sulfito-réducteur

Base viande-foie……... 20g

Glucose……. 0.75g

Amidon……. 0.75g

Agar…….. 11g

Sodium sulfure…….. 1.2g

Fer citrate ammoniacal…….. 0.5g

Carbonate de sodium……. 0.67g

Eau distillé…… 1000ml

pH = 7.5± 0,2.

Milieu de Sélénite - Cysteïné D/C

Tryptone……... 5g

Lactose……. 4g

Phosphate disodique…… 10g

L-cystine…….. 0,01g

Eau distillé…… 1000ml

pH = 7,0 ± 0,2.

Gélose Hektoen

Protéase peptone…… 12g

Extrait de levure…… 3g

Saccharose……. 12g

Lactose……... 12g

Salinicine…… 2g

Chlorure de sodium…… 5g

Thiosulfate de sodium…… 5 g

Citrate ferrique ammoniacale……. 1.5g

Seles biliaires…….. 9 g

Bleu de bromothymol……. 0.064g

Fuchine acide…….. 0.04g

Agar…… 13.5g

Eau distillé…… 1000ml

pH = 7.7± 0,1.

Milieu Eau Peptonée Alcaline EPA

Peptone……. 20g

Chlorure de sodium…….. 20g

pH final à 8,5± 0,2

Gélose Drigalski

Peptone…… 15 g

Extrait de viande……..……. .. 3 g

Extrait de levure…….. 3 g

Désoxycholate de sodium……... 1 g

Cristal violet…….…… 0,005 g

Thiosulfate de sodium…….. 1 g

Lactose……. 15 g

Bleu de bromothymol……..... 0,08 g

Agar……..... 11,0 g

Eau distillé…… 1000ml

pH = 7,4.

Gélose R2A

Protéose peptone…… 0,5g

Pyruvate de sodium ……. 0,3g

Extrait de levure…….. . 0,5g

Phosphate de potassium dibasique…….. . 0,3g

Hydrolysat acide de caséine ……. 0,5g

Sulfate de magnésium……... …… 0.05g

Glucose ……. 0,5g

Agar……... 15g

Amidon soluble …… 0,5g

Eau distillé…… 1000ml

pH = 7,2 ± 0,2

RSE

ÉTUDE DES BIOFILMS BACTÉRIENS ISOLÉS À PARTIR DU SYSTÈME DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE DANS LA RÉGION SUD-EST DE L'ALGÉRIE

Characterization of bacterial biofilms isolated from drinking water distribution system in southeastern Algeria

Amina LACHACHE[1], Ibtissem DOGHRI[2], Mario JACQUES[2], Saliha BOUDJENAH-HAROUN[1]*

[1]Laboratoire de la recherche sur la Phœniciculture, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Kasdi Merbah Ouargla, Ouargla 30000, Algérie
[2]Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec J2S 2M2, Canada

Reçu le 20 janvier 2020, accepté le 8 avril 2020

RÉSUMÉ

Cette étude vise à déterminer l'influence des caractéristiques des sources des forages et des matériaux utilisés dans les systèmes de distribution d'eau potable sur le développement de biofilms dans les conduites de la région d'Ouargla (Algérie). Nos échantillons ont été sélectionnés en fonction de la nappe, du matériau et de l'âge des conduites alimentant la région. Pour la réalisation de nos expériences, nous avons prélevé mécaniquement 27 échantillons de biofilms dans plusieurs conduites de distribution fabriquées à base de différents types de matériaux : cuivre, polychlorure de vinyle (PVC) et polyéthylène haute densité (PEHD), et à partir de différentes nappes (albienne, sénonienne et miopliocène). Plusieurs souches bactériennes ont été identifiées grâce à l'utilisation de la technologie de spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice avec analyseur de temps de vol (MALDI-TOF). Les résultats obtenus démontrent que les conduites en cuivre semblent être défavorables à la colonisation bactérienne tandis qu'une grande variété d'espèces bactériennes a été retrouvée sur les matériaux en PVC et en PEHD. La capacité des souches isolées à former des biofilms a également été étudiée *in vitro*. La majorité des souches isolées, cultivées en biofilm simple et mixte, ont montré une forte capacité à former des biofilms.

Mots-clés* : *biofilms, système de distribution d'eau potable, diversité bactérienne.

ABSTRACT

This study attempted to determine the influence of the characteristics of drilling sources and materials used in drinking water distribution systems on the development of biofilms in pipe networks in southeastern of Algeria (Ouargla). Our

*Auteur pour correspondance :
Téléphone : (+213) 661 77 90 62
Courriel : boudjenah.sa@univ-ouargla.dz

samples were selected according to the aquifer, pipe material and age in this region. To carry out our experiments, we mechanically took 27 biofilm samples from several distribution pipes based on different types of materials: copper, polyvinyl chloride (PVC) and high-density polyethylene (HDPE), and from different aquifers (Albian, Senonian and Miopliocene). Several bacterial strains have been identified using the Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF) technology. The results obtained demonstrate that copper pipes appear to be unfavorable to bacterial colonization while a wide variety of bacterial species has been found on PVC and HDPE materials. The capacity of the isolated strains to form biofilms has also been studied *in vitro*. The majority of the isolated strains, cultivated in simple and mixed biofilm, showed a strong capacity to form biofilms.

Key words*: *biofilms, drinking water distribution system, bacterial diversity.

1. INTRODUCTION

Les systèmes de traitement et de distribution assurent une qualité d'eau destinée à la consommation humaine. Cependant, et selon la littérature, une variété de microorganismes pourrait survivre et croître dans ces systèmes. Une détérioration de la qualité de l'eau pendant son transport a été largement observée (MARCIANO-CABRAL *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2017). Des bactéries ont tendance à s'accrocher sur les parois internes des canalisations pour former des biofilms (DOUTERELO *et al.*, 2014a, 2014b). Les biofilms sont des complexes fonctionnels de communautés microbiennes entourées par une matrice gélatineuse de substances polymériques extracellulaires (SPE) que les microorganismes produisent eux-mêmes. Les SPE sont responsables de l'intégrité de la structure tridimensionnelle des biofilms et de leur protection contre les conditions environnementales défavorables (LIU *et al.*, 2016). La formation de biofilms pourrait également favoriser la dégradation des parois des tuyaux, ce qui contribue à rendre l'eau impropre à la consommation (NAWROCKI *et al.*, 2010). La formation et la croissance des biofilms sur les parois tubulaires pourraient être affectées par de nombreux facteurs, tels que le type de matériau (ALLION *et al.*, 2011), la source d'eau (ZENG *et al.*, 2013), la disponibilité des nutriments (PARK et HU, 2010), le type et la concentration en désinfectant (XUE et SEO, 2013) et les forces de cisaillement (DOUTERELO *et al.*, 2013). Les problèmes engendrés par la colonisation microbienne dans les canalisations d'eau potable ont fait l'objet de nombreuses études (MARCIANO-CABRAL *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2014). Selon la littérature, les matériaux communément utilisés, du fait de leur composition, leur âge et l'état de leur surface, sont potentiellement générateurs d'un développement bactérien (BUSE *et al.*, 2012; NAWROCKI *et al.*, 2010). En effet, ils peuvent favoriser la colonisation en offrant aux microorganismes un environnement favorable à leur développement. Les propriétés physicochimiques et la présence de crevasses assurent une biodisponibilité des nutriments et protègent les microorganismes des forces de cisaillement (LÉ, 2008).

Depuis les dernières décennies, les conduites d'adduction des eaux potables à base de fonte et plomb (interdits depuis 1995) (SQUINAZI, 2013), ainsi que le cuivre, présentent certaines limites comme la sensibilité à la corrosion. Ces trois matériaux sont progressivement remplacés par le PVC (polychlorure de vinyle) et le PEHD (polyéthylène haute densité). D'après la Direction nationale de l'eau potable et de l'assainissement (DINEPA, 2013), ces deux matériaux sont caractérisés par leur résistance à la corrosion, leur flexibilité, leur coût réduit et leur faible poids ce qui facilite leur installation.

Les échantillons de biofilm provenant de systèmes de distribution en fonctionnement sont difficiles à obtenir. Les conditions expérimentales pourraient ne pas correctement représenter les caractéristiques des communautés bactériennes de ces systèmes en fonctionnement sur de longues périodes (DOUTERELO *et al.*, 2013). Bien que de nombreuses conditions, telles que le diamètre du tuyau et le régime quotidien, ne soient pas communes à tous les systèmes d'exploitation, le matériau est toujours considéré comme un facteur clé affectant la colonisation bactérienne.

Nous allons, à travers cette étude, déterminer l'influence de la source de forage, de la nature et l'âge des matériaux utilisés sur le développement des biofilms dans les canalisations de distribution des eaux potables de la région d'Ouargla (sud-est de l'Algérie). Les résultats de cette investigation pourront être utilisés pour améliorer notre compréhension du phénomène de la colonisation bactérienne dans les systèmes de distribution d'eau potable dans les pays où la température moyenne est relativement élevée.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Description des sites de forages

La cuvette d'Ouargla, Algérie (Figure 1) renferme d'importantes réserves d'eau. Celles-ci sont issues de deux grands systèmes aquifères connus au Sahara algérien : le Complexe terminal (CT) qui regroupe les nappes miopliocène et sénonienne et le Continental intercalaire (CI) représenté par la nappe albienne. Ces nappes se différencient par plusieurs

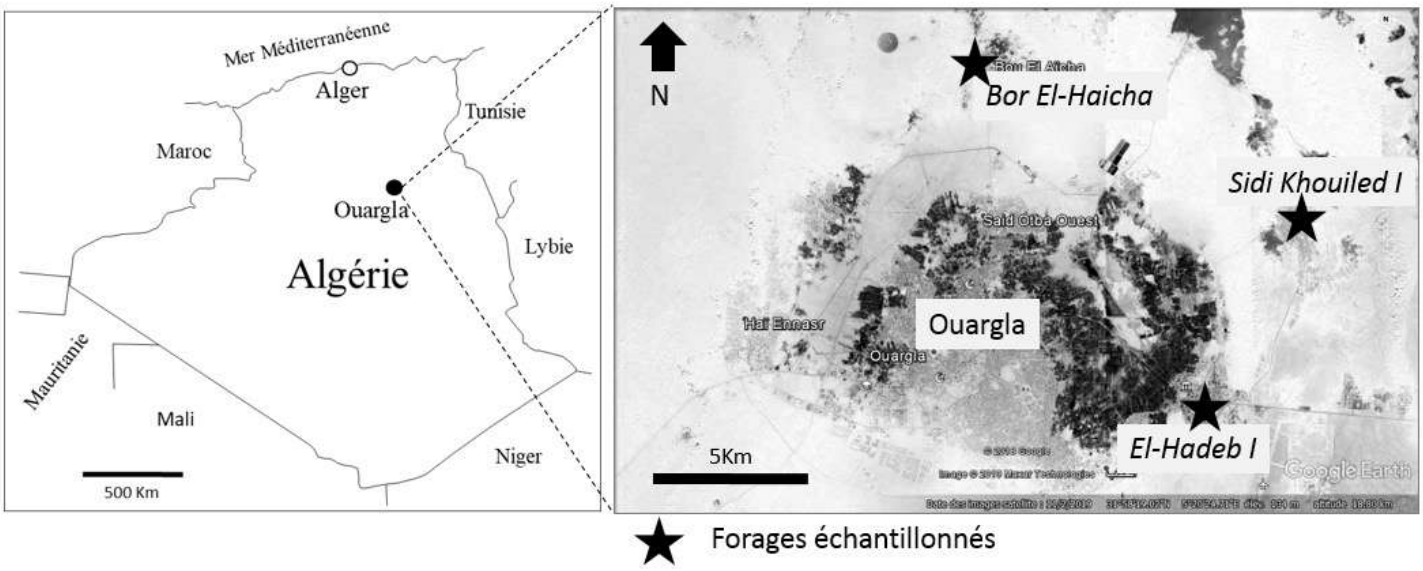


Figure 1. **Carte géographique de l'Algérie et site de l'étude : région de Ouargla dans le Sud-Est algérien (HAMDI-AÏSSA, 2001).**
Geographic map of Algeria and study site: Ouargla region in southeastern Algeria (HAMDI-AÏSSA, 2001).

paramètres tels que la profondeur, la température, la salinité et la dureté de leurs eaux.

Un forage de chaque nappe a été choisi pour servir à cette étude : un forage de la nappe sénonienne situé à Sidi Khouiled (forage de Sidi Khouiled I), un forage de la nappe miopliocène situé à Bor-Elhaicha (forage de Bor-Elhaicha) et un forage de la nappe albienne situé à El Hadeb (forage de El Hadeb I). Ces forages sont les plus exploités de la région. Leurs caractéristiques sont regroupées dans le tableau 1.

2.2 Analyse des caractéristiques de l'eau

L'eau en circulation a été caractérisée d'un point de vue physicochimique par le service ADE (Algérienne des eaux, Ministère des Ressources en eau). L'aspect microbiologique a été étudié au laboratoire sur la phœniciculture de l'Université de Kasdi Merbah Ouargla . Les germes recherchés et les milieux de culture utilisés sont illustrés dans le tableau 2.

2.3 Dispositif expérimental d'étude des biofilms in situ

Afin d'étudier la formation des biofilms dans les conduites des eaux potables, nous avons conçu un dispositif expérimental illustré dans la figure 2. Il permet de raccorder à la tête de chaque forage sélectionné trois types de conduites : cuivre (C), polychlorure de vinyle (PVC) et polyéthylène haute densité (PEHD). Le système ainsi réalisé se caractérise par un écoulement continu dans un circuit fermé (Figure 2). Dans ces trois conduites, des coupes ont été réalisées stérilement (à l'aide d'un bec Bunsen) après 6 et 12 mois, entreposées dans des boîtes stériles et conservées à 4 °C.

Afin d'étudier des échantillons âgés de plus de 20 ans, des prélèvements ont été effectués directement sur trois types de conduites (cuivre, PVC et PEHD) à la fin de chaque chaine de distribution qui alimente les habitations en eau potable.

2.4 Prélèvement mécanique des biofilms

La technique de prélèvement mécanique des biofilms formés par grattage a été adoptée pour la réalisation de cette étude. La surface interne des dispositifs de canalisation a été grattée stérilement à l'aide d'une spatule dans le sens de la longueur. Par la suite, les échantillons ont été déposés dans des flacons contenant de l'eau puis vortexés vigoureusement pendant 15 sec (WALKER *et al.*, 1993; ROGERS *et al.*, 1994; MAULE *et al.*, 1999; BARRANGUET *et al.*, 2003).

Dix échantillons ont été obtenus et répartis en trois lots en fonction des différentes nappes dont les codes sont mentionnés dans le tableau 3.

2.5 Isolement et identification des espèces bactériennes des biofilms formés

Afin d'optimiser l'isolement des bactéries cultivables, un milieu non sélectif, le TSA (Agar trypto-caséine soja, Sparks, MD21152USA/le Pont-de-Claix, France) a été utilisé. Il permet le développement des bactéries non exigeantes. 100 µL de l'échantillon d'eau récupéré après grattage ont été utilisés pour ensemencer en surface les géloses incubées ensuite à 30 °C. Après 48 h, les colonies bactériennes ont été isolées en fonction

Tableau 1. Caractéristiques des forages échantillonnés : analyses effectuées en 2017 par l'Algérienne des eaux (ADE) d'Ouargla (Ministère des Ressources en eau).
Table 1. Characteristics of the sampled boreholes: analysis performed in 2017 by the Algerian Water Authority, Ouargla (Ministry of Water Resources).

Forage	Nappe captée	Mise en service	Profondeur (m)	Débit ($m^3 \cdot h^{-1}$)	*T* (°C)	pH	Dureté ($mg \cdot L^{-1}$)	Minéralisation ($mg \cdot L^{-1}$)
El Hadeb I	Albienne	1974	1 335	286	47	7,47	86,5	2 277
Sidi Khouiled I	Sénonienne	1990	185	110	27	7,12	87	2 884,2
Bor-Elhaicha	Miopliocène	1986	30	40	25	7,17	107,5	1 996,17
Normes algériennes (JORADP, 2011)					25[a]	6,5-9	200	1 000 (selon ADE)

[a] À consommer après refroidissement

Tableau 2. Germes recherchés et milieux de culture utilisés pour la bactériologie des eaux (RODIER, 2009).
Table 2. Germs of interest and culture media used for water bacteriology (RODIER, 2009).

Milieux de culture	Germes recherchés
Gélose triptonée avec extrait de levure (Tryptone Glucose Yeast Extract Agar, TGEA)	Germes totaux (pour les échantillons d'eau distribuée)
Technique en milieu liquide sur bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL)	Coliformes fécaux
Milieu de Schubert muni d'une cloche de Durham	*Escherichia coli*
Technique en milieu liquide en bouillon de Rothe	Streptocoques fécaux
Gélose viande foie + ampoule d'alun de fer et ampoule de sulfite de sodium	*Clostridium* sulfito-réducteur
Bouillon de sélénite-systeïné et gélose Hektoen	Salmonelles
Milieu d'eau peptonée alcaline (EPA) et gélose nutritive alcaline biliée (GNAB)	Vibrions cholériques

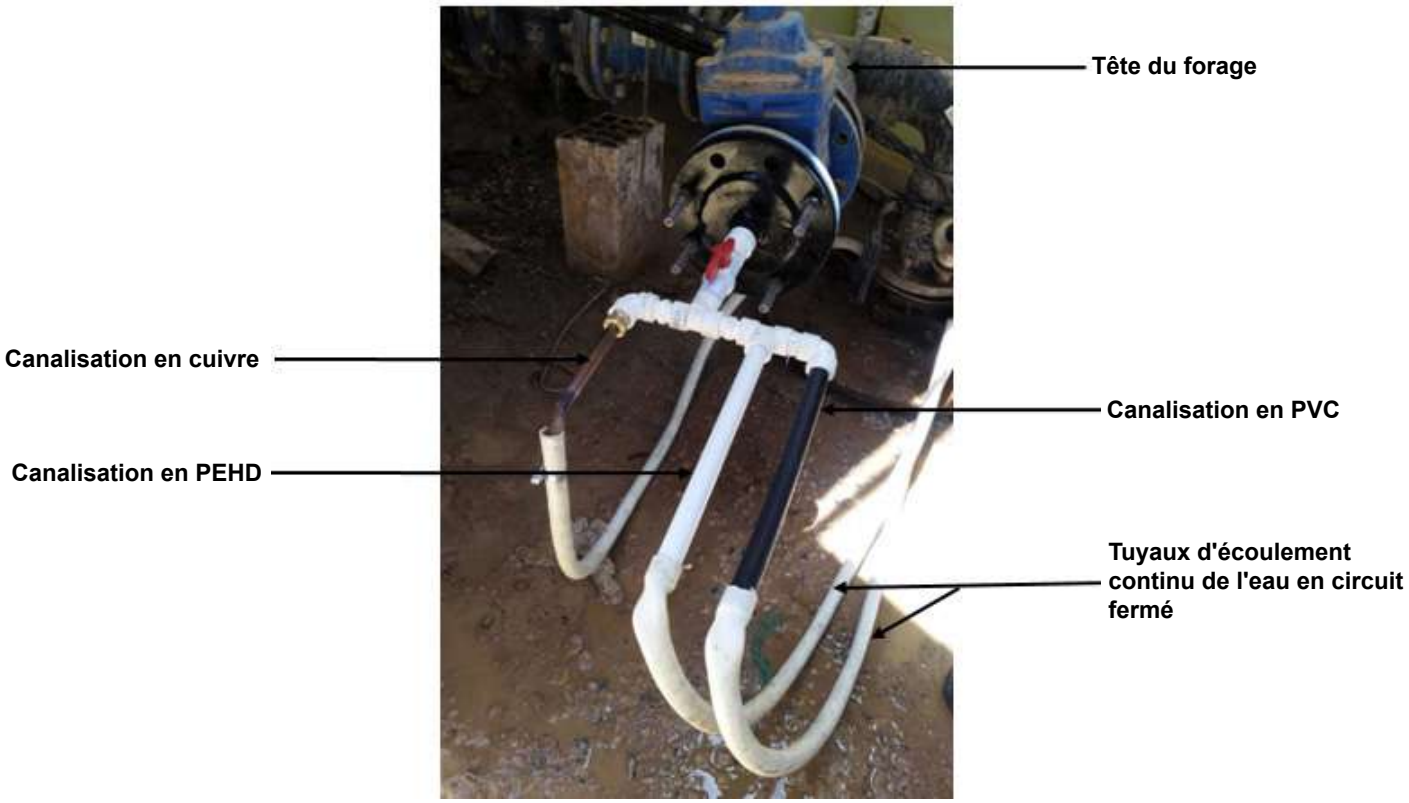


Figure 2. Dispositif expérimental d'étude des biofilms en conditions naturelles. Système installé par notre équipe dans les différents sites de forages alimentant la région d'Ouargla (Algérie) : exemple du forage Bor-Elhaicha (nappe miopliocène).
Experimental design for the study of biofilms under natural conditions. System installed by our team at the various drilling sites for water supply in the Ouargla region (Algeria): example of the Bor-Elhaicha borehole (Miopliocene aquifer).

Tableau 3. Échantillons de biofilms étudiés en fonction de la nappe, de l'âge et des matériaux des conduites.
Table 3. Biofilm samples studied according to aquifer, pipe age and materials.

Âge	Nappe sénonienne			Nappe miopliocène			Nappe albienne		
(mois)	Cuivre	PVC	PEHD	Cuivre	PVC	PEHD	Cuivre	PVC	PEHD
6	SC6M	SPV6M	SPE6M	MC6M	MPV6M	MPE6M	AC6M	APV6M	APE6M
12	SC12M	SPV12M	SPE12M	MC12M	MPV12M	MPE12M	AC12M	APV12M	APE12M
20	SC20A	SPV20A	SPE20A	MC20A	MPV20A	MPE20A	AC20A	APV20A	APE20A

de leurs caractéristiques morphologiques. Afin de caractériser la paroi bactérienne des souches à identifier, une coloration de Gram a été effectuée. Les isolats ont été codifiés et conservés à -80 °C dans le milieu TS contenant 20 % glycérol.

2.6 Identification des souches bactériennes cultivables par la technologie MALDI-TOF (spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice avec analyseur de temps de vol)

Toutes les analyses ont été réalisées en utilisant la méthode de transfert direct (Manuel d'utilisation du MALDI Biotyper 3.1, Bruker Daltonics). Brièvement, un applicateur stérile en bois de 15 cm à usage unique a été utilisé pour récupérer une colonie bactérienne et la déposer sur une cible MSP 96 points (Bruker Daltonics). Le séchage des *spots* a été réalisé à température ambiante. Par la suite, les échantillons ont été recouverts de 1,0 µL de matrice (solution saturée d'α-cyano-d'acide 4-hydroxycinnamique dans 50 % d'acétonitrile, 47,5 % d'eau et 2,5 % d'acide trifluoroacétique) (Sigma-AldrichCanada, Oakville, ON, Canada) et séchés à température ambiante. Les bactéries *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ont été utilisées comme des souches de référence.

Après l'acquisition du spectre de masse d'un échantillon, le logiciel Biotyper le compare aux spectres de référence de la base de données et affiche les identifications correspondantes (CAMERON *et al.*, 2016).

2.7 Identification des souches bactériennes par séquençage de l'ADNr 16S

Les souches bactériennes, non identifiées par le MALDI-TOF, ont été analysées par séquençage de l'ADNr 16S. Ces analyses ont été réalisées par le service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

2.8 Étude in vitro de la capacité à former des biofilms des souches cultivables identifiées

Afin d'étudier la capacité des souches bactériennes à former des biofilms (simple ou mixte), le système expérimental de microplaque en polystyrène de 96 puits a été adapté de GOETZ *et al.* (2017). Il s'agit d'une technique rapide et efficace permettant le criblage d'un grand nombre de souches bactériennes. Brièvement, les colonies de la gélose TS ont été mises en suspension dans du TS à 0,5 Mc Farland et 100 µL des suspensions bactériennes ont été distribués dans des puits (Corning Costar N° 3595, États-Unis). Après incubation à 30 °C pendant 24 h, la microplaque a été lavée trois fois. Les biofilms bactériens ont été colorés avec 150 µL de solution de cristal violet à 0,1 % pendant 20 min et rincés avec de l'eau ultra-pure jusqu'à ce que le liquide de lavage soit clair. Le colorant a ensuite été élué avec de l'éthanol à 96 % (200 µL par puits) et la quantification a été réalisée en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 595 nm.

2.9 Observation et quantification des biofilms par microscopie confocale à balayage laser

Les biofilms ont été préparés comme décrit ci-dessus et colorés avec le marqueur fluorescent Film Tracer™ FM 1-43® (Molecular Probes, Eugene, OR, États-Unis) tel que recommandé par le fabricant. Les biofilms marqués ont été visualisés par microscopie confocale à balayage laser (FV1000 IX81, Olympus, Markham, ON, Canada). Les images ont été acquises en utilisant le logiciel Fluoview (Olympus). Les structures 3D, ainsi que les quantifications des biofilms (biovolume et épaisseurs) ont été réalisées grâce au logiciel Image pro (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, États-Unis).

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Caractéristiques des eaux potables dans la région d'Ouargla

D'après les données fournies par l'Algérienne des eaux (ADE) d'Ouargla (Tableau 2), les nappes des eaux de consommation distribuées dans cette région présentent une forte minéralisation et une dureté élevée. Les valeurs les plus importantes de profondeur, débit et de température sont

attribuées à la nappe albienne, alors que la nappe miopliocène se distingue des deux autres par son faible débit et sa profondeur. Cependant, l'analyse bactériologique de ces eaux a révélé l'absence de germes pathogènes.

3.2 Diversité des bactéries cultivables dans les biofilms étudiés

Les résultats de l'identification bactérienne grâce au MALDI-TOF et au séquençage ADNr 16S démontrent la présence d'une grande variété microbienne (Tableau 4). Une majorité de bactéries Gram+ a été observée (28 sur les 33 souches isolées). Parmi les bactéries isolées, *Bacillus cereus* et *Enterococcus durans*, sont présentes dans la majorité des biofilms échantillonnés. Nos résultats démontrent l'absence de bactéries sur tous les échantillons âgés de six mois et issus des trois différentes nappes. Aucune bactérie cultivable, isolée à partir des matériaux en cuivre et issus des deux nappes miopliocène et albienne, n'a pu être retrouvée. Seule *Streptococcus oralis* a été identifiée sur l'échantillon de biofilm issu de la nappe sénonienne âgé de 20 ans.

À partir de la source miopliocène, les échantillons en PVC et en PEHD âgés de 12 mois sont les seuls à avoir révélé la présence d'un développement bactérien. Les matériaux âgés de plus de 20 ans en PVC et PEHD, issus des trois nappes, sont ceux qui présentent le plus de diversité bactérienne. Des agents pathogènes tels que *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* ont même été retrouvés dans ces échantillons.

3.3 Caractérisation des biofilms microbiens

3.3.1 Biofilms simples

Dans le but d'identifier les bactéries capables de former des biofilms, toute la collection bactérienne, composée de 33 souches, a été criblée grâce à une méthode colorimétrique rapide en microplaque 96 puits. Les résultats illustrés dans la figure 3 démontrent que dans ces conditions expérimentales, toutes les souches isolées sont capables de former des biofilms simples (densité optique $\geq 0,5$ considérée comme une référence de potentiel à former un biofilm). Ce criblage a révélé que cette capacité était très variable selon la nappe, la souche, son origine ainsi que l'âge du biofilm.

En effet, pour la nappe sénonienne sept souches ont montré une capacité à former un biofilm. La capacité des deux souches *Enterococcus durans* et *Planococcus* sp., issues de l'échantillon SPV20A est supérieure à celle de ces mêmes souches issues de l'échantillon SPE20A.

Quant à la nappe miopliocène, 14 souches sont capables de développer un biofilm. La plus grande capacité est attribuée aux souches *Bacillus cereus* et *Planococcus* sp., isolées de l'échantillon MPV20A. Notons que la souche *Bacillus cereus* isolée du PVC a démontré une meilleure capacité à former un biofilm que celle isolée de PEHD et cela quel que soit l'âge. Par ailleurs, la souche *Enterococcus durans* isolée de l'échantillon MPE20A est celle qui a démontré, dans ces conditions, une meilleure capacité à développer un biofilm comparé à cette même espèce issue des autres échantillons.

Enfin pour la nappe albienne, parmi les dix souches détectées, *Pseudomonas koreensis* issue de l'échantillon APE20A est celle qui forme le meilleur biofilm.

3.3.2 Biofilms mixtes

Afin de mimer les conditions originelles retrouvées dans les conduites de circulation d'eau, nous avons cultivé en biofilms mixtes les bactéries isolées d'un même microenvironnement. Les résultats de la quantification au cristal violet sont illustrés dans la figure 4. En 24 h d'incubation, des biofilms épais ont pu être observés avec des quantifications de densité optique entre 0,5 et 2.

Dans nos conditions expérimentales, toutes les bactéries issues des échantillons de PEHD ont montré une meilleure capacité à former des biofilms, notamment l'échantillon de la nappe albienne APE20A. Pour les bactéries isolées des échantillons de PVC, nous avons noté que les échantillons âgés plus de 20 ans (SPV20A, MPV20A et APV20A) ont formé efficacement des biofilms. Cependant, pour l'échantillon MPV12, aucun biofilm n'a été formé.

La méthode de criblage colorimétrique ne fournit aucune information structurelle sur les biofilms étudiés. Pour obtenir ces informations, ces derniers ont été étudiés par microscopie confocale et quantifiés grâce au logiciel Image Pro.

Selon les résultats illustrés dans la figure 5, toutes les souches isolées ont formé des biofilms *in vitro*. Toutefois, cette capacité (c.-à-d. épaisseur et biovolume) varie en fonction des souches qui le constituent et qui proviennent de sources différentes (nappes et matériaux).

Les souches isolées des échantillons de PEHD (APE20A, MPE20A, MPE12M et SPE20A) ont formé des biofilms très épais. Les plus grandes valeurs de l'épaisseur (33,87 µm) et de biovolume (1 480,35 $\mu m^3 \cdot \mu m^{-2}$) sont enregistrées pour l'échantillon APE20A constitué de cinq souches : *Enterococcus durans*, *Bacillus cereus*, *Psychrobacillus psychrodurans*, *Zhiengliuella alba* et *Pseudomonas koreensis*.

Pour les deux nappes, miopliocène et albienne, les souches isolées des biofilms des échantillons du PVC âgés de 20 ans, ont formé des biofilms épais (29,37 et 26,67 µm). Les biofilms de la nappe miopliocène, âgés de 12 mois (MPV12M) et de la

Tableau 4. Identification des souches isolées à partir des biofilms à l'aide de la technologie MALDI-TOF et du séquençage de l'ADNr 16S

Table 4. Identification of strains isolated from biofilms using MALDI-TOF technology and 16S rDNA sequencing.

Nappe	Matériau	Âge des échantillons	Souche du biofilm	Gram
Sénonienne	Cuivre	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Streptococcus oralis*	G+
	PVC	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Planococcus* sp.[a]	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
	PEHD	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Planococcus* sp.[a]	G+
			Planococcus maitriensis[a]	
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
Miopliocène	Cuivre	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	–	–
	PVC	6 mois	–	–
		12 mois	*Bacillus cereus*	G+
			Terribacillus sp.[a]	
			Enterococcus durans	
		+20 ans	*Planococcus* sp.	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
	PEHD	6 mois	–	–
		12 mois	*Planococcus rifietoensis*	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
		+ 20 ans	*Listeria monocytogenes*	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
			Pseudomonas koreensis	G-
			Escherichia coli	
Albienne	Cuivre	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	–	–
	PVC	6 mois	–	–
		12 mois	*Bacillus cereus*	G+
		+20 ans	*Enterococcus durans*	–
			Bacillus cereus	–
			Streptococcus oralis	–
			Acinetobacter lwoffii	G-
			Acinetobacter sp.[a]	
	PEHD	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Psychrobacillus psychrodurans*[a]	G+
			Zhiengliuella alba	
			Enterococcus durans	
			Bacillus cereus	
			Pseudomonas koreensis	G-

[a] Souche identifiée l'aide de l'ADNr 16S

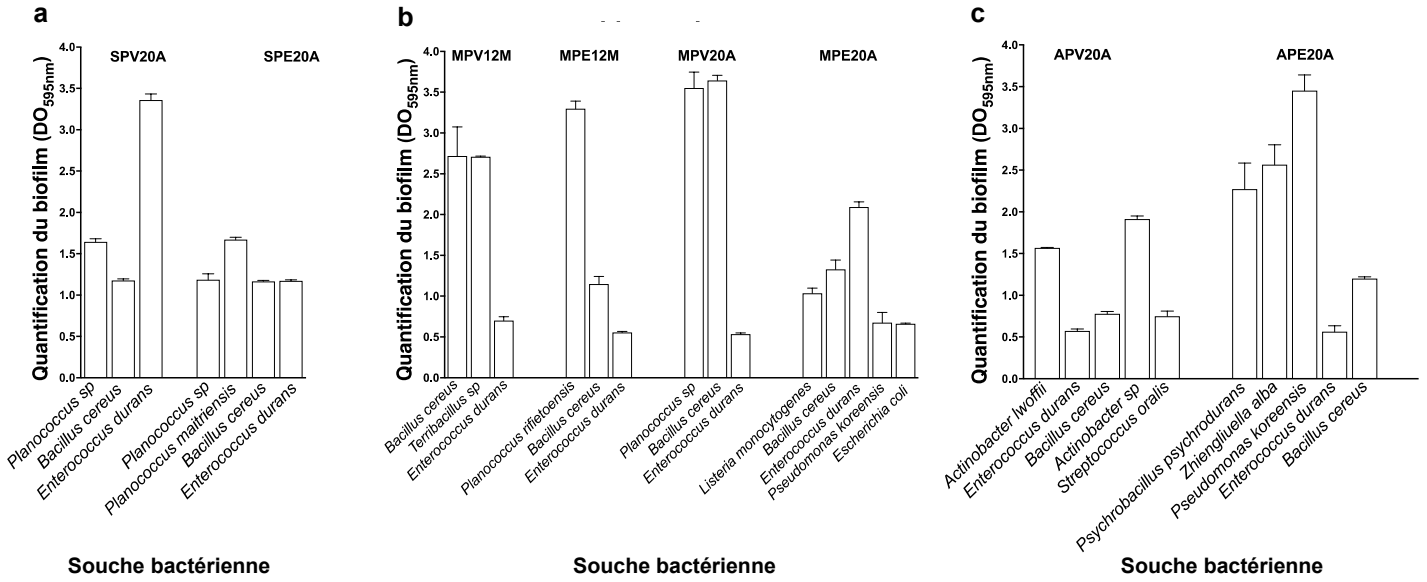


Figure 3. **Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms simples en conditions statiques. Bactéries isolées de la nappe : a) sénonienne, b) miopliocène et c) albienne.**
Screening of the capacity of isolated bacteria form simple biofilms under static conditions. Bacteria isolated from: a) Senonian aquifer, b) Miopliocene aquifer, and c) Albian aquifer.

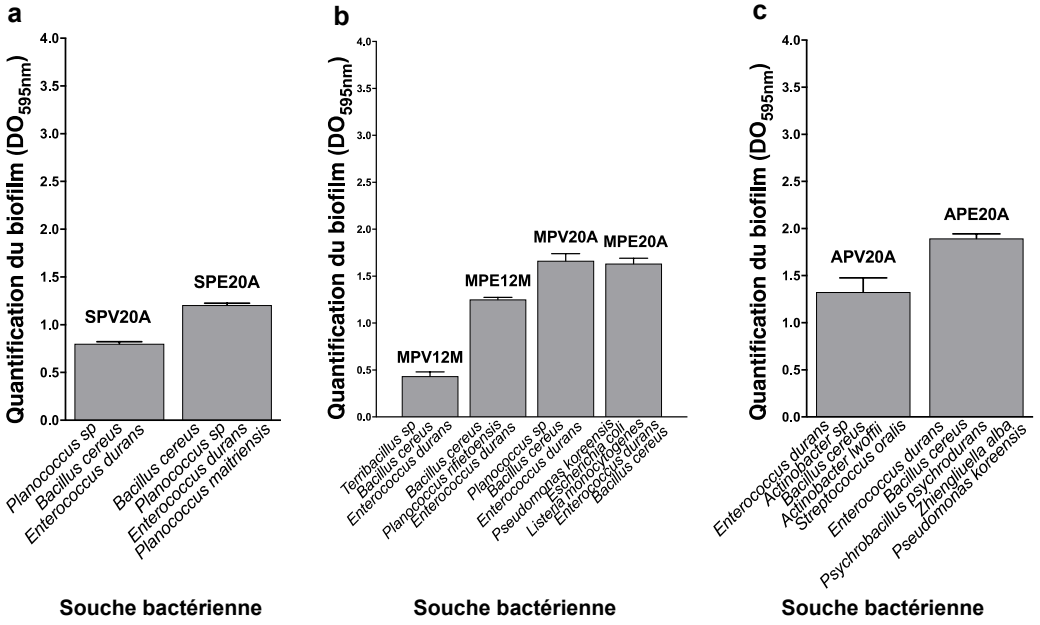


Figure 4. **Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms mixtes en conditions statiques. Bactéries isolées de la nappe : a) sénonienne, b) miopliocène et c) albienne.**
Screening of the capacity of isolated bacteria form mixed biofilms under static conditions. Bacteria isolated from: a) Senonian aquifer, b) Miopliocene aquifer, and c) Albian aquifer.

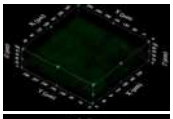
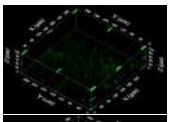
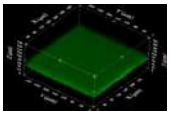
	Échantillon	Souches isolées		Image 3D	Biovolume (µm³·µm⁻²)	Épaisseur (µm)
Nappe sénonienne	PVC 20 ans	*Planococcus* sp. *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			521,03	12,12
Nappe sénonienne	PEHD 20 ans	*Planococcus* sp. *Planococcus maitriensis* *Bacillus cereus*	*Enterococcus durans*		745,32	21,36
Nappe miopliocène	PVC 12 mois	*Bacillus cereus* *Terribacillus* sp. *Enterococcus durans*			145,67	9,21
Nappe miopliocène	PEHD 12 mois	*Planococcus rifietoensis* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			829,97	21,49
Nappe miopliocène	PVC 20 ans	*Planococcus* sp. *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			1 154,13	29,37
Nappe miopliocène	PEHD 20 ans	*Listeria monocytogenes* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*	*Pseudomonas koreensis* *Escherichia coli*		1 367,87	31,45
Nappe albienne	PVC 20 ans	*Enterococcus durans* *Bacillus cereus* *Streptococcus oralis*	*Acinetobacter lwoffii* *Acinetobacter* sp.		1 010,83	26,67
Nappe albienne	PEHD 20 ans	*Psychrobacillus psychrodurans* *Zhiengliuella alba* *Enterococcus durans*	*Bacillus cereus* *Pseudomonas koreensis*		1 480,35	33,87

Figure 5. Représentations 3D et quantifications des biofilms mixtes des isolats bactériens.
3D representations and quantifications of mixed biofilms of bacterial isolates..

nappe sénonienne âgés plus de 20 ans (SPV20A), sont d'une épaisseur moyenne (9,21 et 12,12 µm).

Bien que l'eau en circulation dans la région d'Ouargla présente des propriétés physicochimiques dépassant les normes, elle est tout de même considérée comme propre à la consommation, car ses caractéristiques microbiologiques sont conformes aux normes algériennes. Notre étude s'est focalisée principalement sur l'étude de la colonisation bactérienne des parois internes des conduites de distribution d'eau potable. Ces dernières peuvent être composées de cuivre, de PVC ou de PEHD et sont reliées à différentes nappes (albienne, sénonienne et miopliocène). Les communautés bactériennes des biofilms dans les canalisations d'eaux potables sont très peu étudiées. Il y a eu de nombreux rapports précédents sur les biofilms et les diversités bactériennes dans les modèles pilotes (LEE *et al.*, 2005; TENG *et al.*, 2008; KRISHNA *et al.*, 2013; GOMEZ-ALVAREZ *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2014). Environ 95 % des bactéries dans le système d'eau potable sont situées sur les surfaces alors que seulement 5 % se trouvent dans l'eau en circulation (FLEMMING *et al.*, 2002).

Les observations effectuées sur les différents biofilms nous ont indiqué qu'à court terme (observations à six mois) les conduites en cuivre, en PVC et en PEHD reliées aux trois nappes n'ont pas montré la présence de bactéries cultivables. La présence de biofilms bactériens a été détectée dans les conduites en fonctionnement depuis 12 mois et plus (moyen et long terme) et cela malgré les différences de température, de débit d'écoulement, de source de forage et de traitement de désinfection. La nappe miopliocène présente un débit d'écoulement faible et une température de 25 °C, cela peut expliquer la formation du biofilm sur les échantillons de 12 mois et pas sur les autres. En effet, la température de l'eau, sa composition physicochimique et le régime hydraulique du système et ses variations (temps de séjour de l'eau, absence de variation du débit) sont susceptibles de favoriser la formation des biofilms et de modifier la composition de son microbiome (LÉ 2008; PAN *et al.*, 2017). LEHTOLA *et al.* (2004) ont étudié l'influence de la vitesse d'écoulement sur les biofilms. Les auteurs montrent que l'accélération de la vitesse d'écoulement augmente la croissance des biofilms aussi bien dans les tubes en cuivre qu'en matériau plastique. Cela entraîne une augmentation du nombre de bactéries du fait

du détachement des sédiments des canalisations. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que la stagnation ou les faibles vitesses d'écoulement favorisent la corrosion et les dépôts de biofilms (TRICARD et BUFFAUT, 1995). Toutefois, pour un biofilm formé, un écoulement turbulent est également bénéfique en favorisant le transport des éléments nutritifs et des microorganismes (CHARACKLIS, 1984). Ceci permet le renouvellement du milieu et l'amélioration de la stabilité du biofilm (CARPENTIER et CERF, 1993). Donc, il faut plus de temps pour qu'un biofilm se forme, mais une fois sur place, ce mode de vie va protéger les bactéries de ces conditions stressantes.

Parmi les trois matériaux étudiés, le cuivre ne semble pas favoriser la formation de biofilms. En effet, et d'après nos résultats, une seule bactérie (*Streptococcus oralis*) a été retrouvée sur SC20A. Ces résultats sont en accord avec l'étude de LÉ (2008) qui a démontré dans un système expérimental à petite échelle, l'existence d'une corrélation entre l'utilisation du matériau en cuivre et le ralentissement de la cinétique de formation des biofilms. La réduction de la production de produits extracellulaires de la matrice est la principale cause induisant cette inhibition. En effet, le cuivre induit directement ou indirectement des changements structuraux et physiologiques dans la communauté bactérienne des biofilms (BARRANGUET *et al.*, 2003; MASSIEUX *et al.*, 2004; BOIVIN *et al.*, 2005). L'effet antibactérien, et de façon plus générale, l'effet biocide du cuivre est connu et exploité depuis plusieurs décennies. Il est attribué aux ions cuivriques Cu(II) formés par oxydation du cuivre métallique (SPEAR et PIERCE, 1980). Cependant, ce matériau présente certains inconvénients comme une mauvaise résistance aux traitements chlorés et une sensibilité à l'érosion qui génère des surfaces propices à l'entartage. Selon SQUINAZI (2013), l'adsorption des bactéries à la surface s'effectue le plus souvent sur les dépôts minéraux et organiques ou à la surface de tubercules de corrosion. LEHTOLA *et al.* (2004) et LÉ (2008) ont étudié la formation des biofilms sur la surface interne des canalisations en cuivre et en PEHD dans différentes parties du réseau de distribution pilote. Les résultats montrent que la formation de biofilm sur le cuivre requiert plus de temps que sur du plastique. Le polyéthylène PEHD est considéré comme un matériau chimiquement et biologiquement inerte. De nombreuses études montrent que l'oxydation du PEHD à forte température génère des composés carbonylés favorisant ainsi sa colonisation par des microorganismes (ALBERTSSON *et al.*, 1995; CHIELLINI *et al.*, 2007). L'utilisation de ces polymères comme source de carbone par les microorganismes est facilitée par la formation d'un biofilm (HADAD *et al.*, 2005). Initialement, la nature hydrophobe du PEHD ne permet pas la fixation des microorganismes à sa surface. Après un vieillissement oxydatif, le caractère hydrophile de la surface du PEHD augmente favorisant ainsi la formation de biofilm (PONS *et al.*, 2012). Nos résultats sont en accord avec les données de cette étude. En effet, un plus grand nombre de bactéries cultivables a été retrouvé sur les matériaux PEHD âgés de 20 ans reliant les trois nappes. Aucune bactérie n'a été retrouvée sur le SPE12M et APE12M. Le troisième matériau étudié est le PVC. Dans cette étude, une grande diversité bactérienne a été retrouvée sur ce matériau âgé de 12 mois et plus pour la nappe miopliocène et principalement à 20 ans et plus pour les nappes albienne et sénonienne. Selon CHOWDHURY (2012) et LIN *et al.* (2013), les tuyauteries ayant des surfaces rugueuses comme le PVC ont tendance à favoriser la formation de biofilm. Il présente une meilleure résistance chimique, notamment au chlore (EL OMARI, 2018).

Les systèmes de distribution d'eau potable sont des environnements extrêmes avec des conditions oligotrophes où les désinfectants résiduels sont couramment entretenus. Malgré cela, les microorganismes sont capables de survivre et s'attacher aux surfaces internes des tuyaux formant des biofilms qui peuvent altérer la qualité de l'eau. Cependant, l'effet de la désinfection sur la communauté microbienne de l'eau potable reste mal compris (SIMOES *et al.*, 2007; MI *et al.*, 2015). Dans cette étude, nous avons identifié un nombre total de 33 souches bactériennes cultivables, majoritairement à Gram positif. Contrairement à nos résultats, FRANK (2001) a montré que dans les biofilms présents sur les canalisations d'eau potable, les bactéries à Gram négatif semblent prédominer. Des études ont montré que les propriétés de surface des cellules microbiennes varient en fonction des conditions environnementales dans lesquelles elles se trouvent (VAN OSS *et al.*, 1986; BELLON-FONTAINE *et al.*, 1990; BOS *et al.*, 1999; GALLARDO-MORENO *et al.*, 2002; HAMADI *et al.*, 2004; BAYOUDH *et al.*, 2006). L'origine de ces microorganismes est souvent inconnue. Elles peuvent à la fois être d'origine interne (microorganismes qui ont pu échapper au traitement de désinfection) ou d'origine externe (par retour d'eau lors de travaux et intervention sur le réseau, à travers des fissurations dues au vieillissement des conduites, à travers des orifices mal protégés) (BOUTALEB, 2007). Afin d'étudier les biofilms en conditions expérimentales, nous avons criblé en microplaque la capacité des bactéries isolées à former des biofilms simples et mixtes. Les résultats démontrent que toutes les bactéries isolées, indépendamment de leurs origines, sont capables de former des biofilms simples. En effet, dans les systèmes de distribution d'eau potable, les biofilms sont le mode de vie prédominant de la croissance microbienne, en leur conférant de nombreux avantages : coopération dans certains systèmes cataboliques, acquisition d'avantages évolutifs, synergies entre microorganismes, expressions phénotypiques de facteurs de résistance lors de situations de stress (COSTERTON, 1999, COSTERTON *et al.*, 1999; TOMLIN *et al.*, 2005; CLUTTERBUCK *et al.*, 2007; JOUENNE, 2008; GOLLER et ROMEO, 2008; PAN *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2016). Afin d'étudier le biofilm mixte des bactéries cultivables isolées du même environnement, nous avons visualisé et quantifié

in vitro ces structures. Nos expérimentations ont démontré qu'en l'espace de 48 h, un biofilm est formé. Ceci démontre l'existence d'une interaction bactérienne. La communication entre les différentes espèces de microorganismes est favorisée par des systèmes complexes comme le *quorum sensing* (QS). Ces modes de communication contrôlent, en partie, la formation des biofilms (BJARNSHOLT *et al.*, 2005; FAZLI *et al.*, 2014). En effet, il a été démontré que les systèmes QS régulent et synchronisent des activités telles que la production d'exopolysaccharides et les matériaux cellulaires (ADN, lipides, protéines) qui façonnent la structure matrice extracellulaire et contrôlent ses propriétés physicochimiques (PARSEK et GREENBERG, 2005; DICKSCHAT, 2010; WEI et MA, 2013).

Bien que les rapports actuels indiquent l'absence de microbes dans l'eau potable en circulation, la présence de biofilms bactériens sur les parois internes, représente, sur le long terme, un risque de contamination entraînant un risque potentiel pour la santé humaine (LIU *et al.*, 2016; ABBERTON *et al.*, 2016). Plusieurs études ont montré que, comparés aux organismes planctoniques, les agents pathogènes opportunistes fécaux en biofilm peuvent survivre plus longtemps et avoir une plus grande résistance au chlore. Les microorganismes restent encapsulés dans ce biofilm. Ainsi, aux concentrations habituelles de 0,1 à 0,4 $mg \cdot L^{-1}$, près de 80 % des bactéries restent actives (BUSWELL *et al.*, 1998; PERCIVAl et WALKER, 1999; LUNEAU, 2014).

Bacillus cereus et *Enterococcus durans* sont les pathogènes les plus fréquemment retrouvés dans notre collection bactérienne. La présence d'*Escherichia coli* et *Enterococcus durans* est un indicateur de contamination fécale (CABELLI *et al.*, 1982; JUHNA *et al.*, 2007). NIEUWENHUIJSEN *et al.* (2000) ont démontré l'inefficacité des traitements chlorés classiques contre *Bacillus cereus*. Cette résistance peut s'expliquer par leur capacité à former des spores (MISTY-MARTIN *et al.*, 2017; HUSSAIN *et al.*, 2018). Les résultats de notre étude indiquent aussi la présence de *Listeria monocytogenes* qui est un agent pathogène d'origine alimentaire qui provoque la listériose (FARBER et PETERKIN, 1991; GANDHI et CHIKINDAS, 2007). VARMA et LYER (1993) ont démontré que cet agent pathogène peut survivre plusieurs jours dans l'eau.

4. CONCLUSION

Ce travail a permis de mettre en évidence la présence de biofilms bactériens dans les conduites de distribution d'eau potable et donc de l'inefficacité sur le long terme des méthodes de désinfection. Ce constat concerne principalement les conduites en PVC et en PEHD et cela pour les trois nappes étudiées. Les tuyaux en cuivre semblent défavoriser la colonisation bactérienne, mais, celui-ci associé aux traitements chlorés, pose un problème d'usure rapide engendrant des coûts de maintenance élevés. Il est donc intéressant d'étudier de nouvelles stratégies d'assainissement de l'eau plus efficaces et moins agressives.

Ce travail est basé sur les échantillons de biofilms de réseaux de distribution d'eaux potables collectés entre 2017 et 2018 dans la ville d'Ouargla, représentant le Sahara septentrional de l'Algérie. Les résultats de cette première étude ont révélé qu'à priori, les matériaux étudiés sont quasiment tous potentiellement porteurs d'un développement bactérien, lequel est plus ou moins développé selon la nature et l'âge des conduites, le débit et la qualité d'eau. Le cuivre se caractérise par une formation de biofilm et une diversité bactérienne la plus faible. Pour cela, nous pourrons suggérer d'opter pour les installations de conduites à base de cuivre, tout en établissant un programme régulier de renouvellement, une fois ces conduites se fragilisent ou se dégradent au cours du temps.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient M. Frédérique (Faculté de la médecine vétérinaire, Université de Montréal) pour le traitement des images par la microscopie confocale à balayage laser (FV1000 IX81, Olympus, Markham, ON, Canada) et ses conseils sur l'utilisation de logiciel Fluoview pour la visualisation des structures 3D des biofilms, et l'Algérienne des eaux (ADE) d'Ouargla pour les données fournies.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABBERTON C.L., L. BERESCHENKO, P.W.J. VAN DER WIELEN et C.J. SMITH (2016). Survival, biofilm formation, and growth potential of environmental and enteric *Escherichia coli* strains in drinking water microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82, 5320-5331.

ALBERTSSON A.C., C. BARENSTEDT, S. KARLSSON et T. LINDBERG (1995). Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene. *Polymer*, 36, 3075-3083.

ALLION A., S. LASSIAZ, L. PEGUET, P. BOILLOT et S. JACQUES (2011). A long-term study on biofilm development in drinking water distribution system:

comparison of stainless steel grades with commonly used materials. *Rev. Métall.*, 108, 259-268.

BARRANGUET C., F.P. VAN DEN ENDE, M. RUTGERS, A.M. BREURE, M. GREIJDANUS, J.J. SINKE et W. ADMIRAAL (2003). Copper-induced modifications of the trophic relations in riverine algal-bacterial biofilms. *Environ. Toxicol. Chem.*, 22, 1340-976.

BAYOUDH S., A. OTHMANE, F. BETTAIEB, A. BAKHROUF, H. BEN OUADA et L. PONSONNET (2006). Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Mater. Sci. Eng. C*, 26, 300-305.

BELLON-FONTAINE M.N., N. MOZES, H.C. VAN DER MEI, O.S. JOLLEMA, P.G. CERF-ROUXHET et H.J. BUSSCHER (1990). A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell Biophys.*, 17, 93-106.

BJARNSHOLT T., P. JENSEN, M. BURMOLLE, M. HENTZER, J.A. HAAGENSEN, H.P HOUGEN, H. CALUM, K.G. MADSEN, C. MOSER, S. MOLIN, N. HOIBY et M. GIVSKOV (2005). *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxyde and polymorphonuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. *Microbiology*, 151, 373-383.

BOIVIN M.E., B. MASSIEUX, A.M. BREURE, F.P. VAN DEN ENDE, G.D. GREVE, M. RUTGERS et W. ADMIRAAL (2005). Effects of copper and temperature on aquatic bacterial communities. *Aquat. Toxicol. Mar.*, 71, 345-56.

BOS R., H.C. VAN DER MEI et H.J. BUSSCHER (1999). Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions - its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol. Rev.*, 23,179-230.

BOUTALEB N. (2007). *Étude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable.* Thèse de doctorat, Univ. Bretagne-Sud, France, 194 p.

BUSE H.Y., M.E. SCHOEN et N.J. ASHBOLT (2012). *Legionellae* in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predictexposure. *Water. Res.*, 46, 921-933.

BUSWELL C.M., Y.M. HERLIHY, L.M. LAWRENCE, J.T. MCGUIGGAN M, P.D. MARSH, C.W. KEEVIL et S.A. LEACH (1998). Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and -rRNA staining. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 733-741.

CABELLI V., A.P. DUFOUR, L.J. MCCABE et M.A. LEVIN (1982). Swimming-associated gastroenteritis and water quality. *Am. J. Epidemiol.*, 115, 606-616.

CAMERON M., H.W. BARKEMA, J. DE BUCK, S. DE VLIEGHER, M. CHAFFER, J. LEWIS et G. KEEFE (2016). Identification of bovine-associated coagulase-negative staphylococci by matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry using a direct transfer protocol. *J. Dairy Sci.*, 100, 2137-2147.

CARPENTIER B. et O. CERF (1993). Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 499-511.

CHARACKLIS W.G. (1984). Biofilm development: A process analysis. Dans : *Microbial adhesion and aggregation*. MARSHALL K.C. (éd.), Dahlem Konferenzen 1984, Heidelberg, Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 137-157.

CHIELLINI E., A. CORTI et S. D'ANTONE (2007). Oxo-biodegradable full carbon backbone polymers - biodegradation behaviour of thermally oxidized polyethylene in an aqueous medioum. *Polym. Degrad. Stabil.*, 92, 1378-1383.

CHOWDHURY S. (2012). Heterotrophic bacteria in drinking water distribution: A review. *Environ. Monit. Assess.*, 184, 6087-6137.

CLUTTERBUCK A.L., E.J. WOODS, D.C. KNOTTENBELT, P.D. CLEGG, C.A. COCHRANE and S.L. PERCIVAL (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet. Microbiol.*, 121, 1-17.

COSTERTON J.W. (1999). Introduction to biofilm. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 11, 217-221.

COSTERTON J.W., P.S. STEWART, E.P. GREENBERG (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284, 1318-1322.

DICKSCHAT J.S. (2010). Quorum sensing and bacterial biofilms. *Nat. Prod. Rep. Mar.*, 27, 343-369.

DIRECTION NATIONALE DE L'EAU POTABLE ET DE L'ASSAINISSEMENT (DINEPA) (2013). G*uide*

technique. Réhabilitation/remplacement des réseaux d'eau potable. DINEPA, UNICEF, République d'Haïti, 58 p.

DOUTERELO I., R.L. SHARPE et J.B. BOXALL (2013). Influence of hydraulic regimes on bacterial community structure and composition in an experimental drinking water distribution system. *Water. Res.*, 47, 503-516.

DOUTERELO I., J.B. BOXALL, P. DEINES, R. SEKAR et K.E. FISH (2014a). Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water. Res.*, 65, 134-156.

DOUTERELO I., S. HUSBAND et J.B. BOXALL (2014b). The bacteriological composition of biomass recovered by flushing an operational drinking water distribution system. *Water. Res.*, 54, 100-114.

EL OMARI H., N. BOUTALEBE, M. MEKOUAR, S. LAZAR, S. EL ANTRI et B. BAHLAOUAN (2018). Canalisations d'eau potable : une nouvelle formulation de tubes PVC anti-biofilm. *L'Eau, L'Industrie, Les Nuisances,* 405, 90-95.

FARBER J.M. et P.I. PETERKIN (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, 55, 476-511.

FAZLI M., H. ALMBLAD, M.L. RYBTKE, M. GIVSKOV, L. EBERL et T. TOLKER-NIELSEN (2014). Regulation of biofilm formation in *Pseudomonas* and *Burkholderia* species. *Environ. Microbiol.*, 16, 1961-1981.

FLEMMING H.C., S.L. PERCIVAL et J.T. WALKER (2002). Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water Sci. Tech.*, 2, 271-280.

FRANK J.F. (2001). Microbial attachment to food and food contact surfaces. *Adv. Food. Nutr. Res.*, 43, 319-369.

GALLARDO-MORENO A.M., M.L. GONZALEZ-MARTIN, C. PÉREZ-GIRALDO, E. GARDUNO, J.M. BRUQUE et A.C. GOMEZ-GARCIA (2002). Thermodynamic analysis of growth temperature dependence in the adhesion of *Candida parapsilosis* to polystyrene. *App. Environ. Microbiol.*, 68, 2610-2613.

GANDHI M. et M.L. CHIKINDAS (2007). *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. *Int. J. Food. Microbiol.*, 113, 1-15.

GOLLER C.C. et T. ROMEO (2008). Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 322, 37-66.

GOMEZ-ALVAREZ V., K.A. SCHRANTZ, J.G. PRESSMAN et D.G. WAHMAN (2014). Biofilm community dynamics in bench-scale annular reactors simulating arrestment of chloraminated drinking water nitrification. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 5448-5457.

GOETZ C., Y.D.N. TREMBLAY, D. LAMARCHE, A. BLONDEAU, A.M. GAUDREAU, J. LABRIE, F. MALOUIN et M. JACQUES (2017). Coagulase-negative staphylococci species affect biofilm formation of other coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci. *J. Dairy Sci.*, 100, 6454-6464.

HADAD D.S., A. GERESH et J. SIVAN (2005). Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis. Appl. Microbiol.*, 98, 1093-1100.

HAMADI F., H. LATRACHE, A. EL GHMARI, M. ELLOUALI, M. MABRROUKI et N. KOUIDER (2004). Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Ann. Microbiol.*, 54, 213-225.

HAMDI-AÏSSA B. (2001). *Le fonctionnement actuel et passé de sols du nord Sahara (cuvette de Ouargla). Approches micromorphologique, géochimique et minéralogique et organisation spatiale.* Thèse de doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon, France, 190 p.

HUSSAIN M.S., M. KWON et D.H. OH (2018). Impact of manganese and heme on biofilm formation of *Bacillus cereus* food isolates. PLOS ONE, 13, Art. e0200958. DOI: 10.1371/journal.pone.0200958

JOUENNE T. (2008). *Biofilms bactériens.* Techniques de l'Ingénieur, Bioprocédés, base documentaire, Réf. : BIO600 v1.

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE (JORADP) (2011). *Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine.* JORADP N° 18, 23 mars 2011, pp. 7-9.

JUHNA T., D. BIRZNIECE, S. LARSSON, D. ZULENKOVS, A. SHARIPO, N.F. AZEVEDO, F.MENARD-SZCZEBARA, S. CASTAGNET, C. FELIERS et C.W. KEEVIL (2007). Detection of *Escherichia coli* in

biofilms from pipe samples and coupons in drinking water distribution networks. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73:7456-7464.

KRISHNA K.C.B., A. SATHASIVAN et M.P. GINIGE (2013). Microbial community changes with decaying chloramine residuals in a lab-scale system. *Water. Res.*, 47, 4666-4679.

LÉ V. (2008). *Influence du cuivre sur les biomasses microbiennes dans les canalisations d'eau.* Thèse de doctorat, Univ. Paris-Sud 11, France, 80 p.

LEE D.G., J.H. LEE et S.J. KIM (2005). Diversity and dynamics of bacterial species in a biofilm at the end of the Seoul water distribution system. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 21, 155-162.

LEHTOLA M.J., I.T. MIETTINEN, M.M. KEINANEN, T.K. KEKKI, O. LAINE, A. HIRVONEN, T. VARTIAINEN et P.J. MARTIKAINEN (2004). Microbiology, chemistry and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes. *Water. Res.*, 38, 3769-79.

LIN W., Z. YU, X. CHEN, R. LIU et H. ZHANG (2013). Molecular characterization of natural biofilms from household taps with different materials: PVC, stainless steel, and cast iron in drinking water distribution system. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 8393-8401.

LIU G., Y. ZHANG, W.J. KNIBBE, C. FENG, W. LIU, G.MEDEMA et W. VAN DER MEER (2017). Potential impacts of changing supply-water quality on drinking water distribution: A review. *J. Water Res.*, 116, 135-148.

LIU S., C. GUNAWAN, N. BARRAUD, S.A. RICE, E.J. HARRY et R. AMAL (2016). Understanding, monitoring and controlling biofilm growth in drinking water distribution systems. *Environ. Sci. Technol.*, 50, 8954-8976.

LUNEAU S. (2014). Réseaux d'eau potable : surveiller les biofilms pour mieux les maîtriser. https://www.lagazettedescommunes.com/234658/reseaux-deau-potable-surveiller-les-biofilms-pour-mieux-les-maitriser/ (consultation le 13 février 2019).

MARCIANO-CABRAL F., M. JAMERSON et E.S. KANESHIRO (2010). Free-living amoebae, *Legionella* and *Mycobacterium* in tap water supplied by a municipal drinking water utility in the USA. *J. Water Health*, 8, 71-82.

MASSIEUX B., M.E. BOIVIN, F.P. VAN DEN ENDER, J. LANGENSKIOLD, P. MARVAN, C. BARRANGUET, W. ADMIRAAL, H.J. LAANBROEK et G. ZWART (2004). Analysis of structural and physiological profiles to assess the effects of Cu on biofilm microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 4512-4521.

MAULE A., J.T. WALKER et C.W. KEEVIL (1999). *The survival of Escherichia coli O157 in biofilms on copper, stainless steel and plastic plumbing materials and as dried deposits on copper, stainless steel and brass.* Rapport final CAMR (Center for Applied Microbiology and Research), International Copper Association, Project 483, Royaume-Uni, 91 p.

MI Z., Y. DAI, S. XIE, C. CHEN et X. ZHANG (2015). Impact of disinfection on drinking water biofilm bacterial community. *J. Environ. Sci.*, 37, 200-205.

MISTY-MARTIN S., C. INÊS-SANTOS, D. DOUG-CARLTON Jr, P. STIGLER-GRANADOS, L. ZACARIAH HILDENBRAND et A. KEVIN-SCHUG (2017). Characterization of bacterial diversity in contaminated groundwater using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Sci. Total. Environ.*, 622–623, 1562-1571.

NAWROCKI J., U. RACZYK-STANISLAWIAK, J. SWIETLIK, A. OLEJNIK et M.J. SROKA (2010). Corrosion in a distribution system: steady water and its composition. *Water. Res.*, 44, 1863-1872.

NIEUWENHUIJSEN M.J., M.B. TOLEDANO, N.E. EATON, J. FAWELL et P. ELLIOTT (2000). Chlorination disinfection byproducts in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review. *Occup. Environ. Med.*, 57, 73-85.

PAN J., J.R. WILLIAM, A.E. MARC et P. AMY (2017). Impact of water heater temperature setting and water use frequency on the building plumbing microbiome. *ISME J.*, 11, 1318-1330.

PAN Y., F. BREIDT et S. KATHARIOU (2009). Competition of *Listeria monocytogenes* serotype 1/2a and 4b strains in mixed-culture biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75, 5846-5852.

PARK S.K. et J.Y. HU (2010). Interaction between phosphorus and biodegradable organic carbon on drinking water

biofilm subject to chlorination. *J. Appl. Microbiol.*, 108, 2077-2087.

PARSEK M.R. et E.P. GREENBERG (2005). Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol.*, 13, 27-33.

PERCIVAL S.L. et J.T. WALKER (1999). Potable water and biofilms: A review of the public health implications. *Biofouling*, 14, 99-115.

PONS C., F. FARCAS, E. RICHAUD, B. FAYOLLE, T. BOUCHEZ et L. MAZEAS (2012). Influence de la préoxydation d'un PEHD sur l'extraction des carbonyles et la croissance d'un bioflm. *Mat. Tech.*, 100, 211-220.

RODIER J. (2009). *L'Analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer.* 9e éd., Dunod, Paris, France, 1384 p.

ROGERS J., A.B. DOWSETT, P.J. DENNIS, J.V. LEE et C.W. KEEVIL (1994). Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 1842-1851.

SIMOES L.C., M. SIMOES, R. OLIVEIRA et M.J. VIEIRA (2007). Potential of the adhesion of bacteria isolated from drinking water to materials. *J. Basic. Microbiol.*, 47, 174-183.

SPEAR C. et R.C. PIERCE (1980). *Le cuivre dans l'environnement aquatique : chimie, répartition et toxicologie.* Conseil national de recherche du Canada, Publications du Secrétariat à l'Environnement, N° 16455, Ottawa, Canada, 249 p.

SQUINAZI F. (2013). *Biofilm et matériaux des réseaux intérieurs de distribution d'eau*. Éd. 2013, Docteur Fabien Squinazi, 103 p.

TENG F., Y.T. GUAN et W.P. ZHU (2008). Effect of biofilm on cast iron pipe corrosion in drinking water distribution system: Corrosion scales characterization and microbial community structure investigation. *Corros. Sci.*, 50, 2816-2823.

TOMLIN K.L., R.J. MALOTT, G. RAMAGE, D.G. STOREY, P.A. SOKOL et H. CERI (2005). Quorum-sensing mutations affect attachment and stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 5208-5218.

TRICARD D. et P. BUFFAUT (1995). Interprétation et communication des résultats au regard des normes microbiologiques relatives aux eaux destinées à la consommation humaine. *TSM*, 3,196-199.

VAN OSS C.J., R.J. GOOD et M.K. CHAUDHURY (1986). The role of van-der-Waals forces and hydrogen bonds in hydrophobic interactions between biopolymers and low energy surfaces. *J. Col. Inter. Sci.*, 11, 378-390.

VARMA P.R.G. et T.S.G. LYER (1993). Viability of *Listeria monocytogenes* in water. *Fishery Technol.*, 30, 164-165.

WALKER J.T., J. ROGERS et C.W. KEEVIL (1993). *The influence of plumbing tube material, water chemistry and temperature on biofouling of plumbing circuits with particular reference to the colonization of Legionella pneumophila.* Annual report, ICA Project 437 A, États-Unis, 52 p.

WANG H., S. MASTERS, M.A. EDWARDS, J.O. FALKINHAM et A. PRUDEN (2014). Effect of disinfectant, water age, and pipe materials on bacterial and eukaryotic community structure in drinking water biofilm. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 1426-1435.

WEI Q. et L.Z. MA (2013). Biofilm matrix and its regulation in *Pseudomonas aeruginosa. Int. J. Mol. Sci.*, 14, 20983-21005.

WU M., Y. QIAN, J.M. BOYD, S. LEAVEY et S.E. HRUDEY (2014). Identification of tobacco-specific nitrosamines as disinfection byproducts in chloraminated water. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 1828-1834.

XUE Z. et Y. SEO (2013). Impact of chlorine disinfection on redistribution of cell clusters from biofilms. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 1365-1372.

ZENG D.N., Z.Y. FAN, L. CHI, X. WAN et W.D. QU (2013). Analysis of the bacterial communities associated with different drinking water treatment processes. *World. J. Microbiol. Biotechnol.*, 29, 1573-1584.