

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biologie Animale

قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Analyse bactériologique des eaux de certaines écoles à la wilaya de Mila

Présenté et soutenu par : BOUCENINA Houda

Le 01/07/2018

Jury d'évaluation :

Président : REZGOUNE Mohamed Larbi - MCA- Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadreur : GHARZOULI RAZIKA - MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Co-Encadreur : KHACHA Amina –Doctorante en microbiologie- Université Bedji Moukhtar Annaba

Examineur : ZIADA Hadia - MCB- Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Année universitaire

2017-2018

Remerciements

A l'issue de ce travail de recherche, je tiens tout particulièrement à remercier

Madame KHACHA Amina, pour avoir accepté de diriger avec beaucoup d'attention et de soin ce mémoire, et d'avoir prêté un intérêt constant au sujet du mémoire.

J'adresse ma gratitude au Madame GHARZOULI Razika pour avoir accepté d'encadrer mon thème.

J'adresse ma gratitude aussi au Messieurs REZGOUNE Mohamed Larbi pour avoir accepté de présider le jury de mon mémoire.

Je remercie également Madame ZIADA Hadia pour avoir accepté d'examiner ce travail et participer au jury du mémoire.

Je remercie le Directeur et le personnel de laboratoire nommé laboratoire d'hygiène, de m'avoir facilité mon thème qui m'ont vraiment aidées à faire des analyses et avoir des information et des données m'ayant permis de poursuivre l'objet essentiel des analyses relatives à la conception de mon mémoire et mettre à ma disposition le laboratoire.

Merci à tous ceux qui ont participé de loin ou de près a l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Alhamdoulilleh ».

Je dédie ce modeste travail.

A mes chers parents, que Dieu les protège.

A mon mari, que Dieu le protège

A mes enfants Abd el bari et tedj eddine.

A mes sœurs et mon frère.

A ma famille.

Résumé

Cette étude porte sur la pollution bactérienne des eaux. Pour cela nous avons étudié la pollution de 3 stations différentes au niveau de la wilaya de Milla.

La recherche des germes par des méthodes spécifiques a montré la contamination des deux stations (1 et 2) et la propriété de la 3^{ème} station.

La station 2 est principalement contaminée par les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux avec un nombre qui peut aller jusqu'à 2400 cellules/100ml et 93 cellules/100ml respectivement.

Une valeur de 2400 cellules/100ml de streptocoque fécaux est enregistrée au niveau de la station 1.

Les staphylococcus et les coliformes totaux sont faiblement présents dans les 2 stations contaminées.

Nous avons noté que l'addition de l'eau de javel est le meilleur moyen pour nettoyer et éliminer les germes pathogènes.

Mots clés : pollution, coliformes fécaux, staphylocoques, maladies hydriques.

Summary

This study deals with bacterial pollution of water. For this we studied the pollution of 3 differential stations at the level of the wilaya of Milla.

The search for germs by specific methods showed the contamination of the two stations (1 and 2) and the property of the 3rd station.

Station 2 is contaminated by faecal coliforms and faecal streptococci with a number that can range up to 2400 cells / 100ml and 93 cells / 100ml respectively.

A value of 2400 cells / 100ml of faecal streptococci are recorded at station 1.

Staphylococci and coliforms are low in the 2 contaminated sites.

We previously noted that the addition of javel water is the best way to clean and eliminate pathogens.

Key words: pollution, faecal coliforms, staphylococci, waterborne diseases.

ملخص

تتناول هذه الدراسة التلوث البكتيري للماء. لهذا درسنا تلوث 3 محطات على مستوى ولاية ميلة.

أظهر البحث عن الجراثيم بطرق محددة تلوث المحطتين (1 و 2) ونقاوة المحطة الثالثة.

تتلوث المحطة 2 بشكل رئيسي ببكتريا القولون البرازية والمكورات العقدية البرازية مع عدد يمكن أن يصل إلى 2400 خلية / 100 مل و 93 خلية / 100 مل على التوالي.

يتم تسجيل قيمة 2400 خلية / 100 مل من العقديات البرازية في المحطة 1.

المكورات العنقودية والكوليفورات الكلية ذات أهمية عاجلة في الموقعين الملوثين.

لقد لاحظنا سابقا أن إضافة ماء الجافيل هو أفضل طريقة لتنظيف وإزالة مسببات الأمراض.

الكلمات المفتاحية: التلوث ، القولونيات البرازية ، المكورات العنقودية ، الأمراض المنقولة بالماء.

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1	E coli.....	13
2	Organisation de génome d'E.coli.....	16
3	Le génome d'E. faecium TX16	20
4	P aeruginosa	21
5	Organisation de génome de p aeruginosa.....	23
6	Représentation schématique de mécanisme de Q. S chez p aeruginosa.....	25
7	Staphylococcus aureus.....	25
8	Le génome de Staphylococcus aureus.....	27
9	préparation des dilutions.....	39
10	Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux (Test présomptif).....	41
11	recherche et dénombrement des coliformes totaux	43
12	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau.....	45
13	Recherche et dénombrement des Streptocoques totaux dans l'eau.....	47
14	Recherche des Staphylocoques pathogènes.....	48
15	Courbe d'évaluation des coliformes totaux.....	52
16	Courbe d'évaluation des streptocoques fécaux.....	52
17	Courbe d'évaluation des coliformes fécaux.....	53

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Les bactéries pathogènes responsables de maladies d'origine hydrique.....	8
2	Facteurs et gènes de virulence des autres pathotypes d' <i>E. coli</i>	17
3	Les caractéristiques générales du génome <i>E. faecium</i> TX16.....	19
4	Liste des gènes codants les facteurs de virulences d'entérocoque.....	20
5	Les facteurs et gènes de virulence de <i>pseudomonas auruginosa</i>	24
6	liste des gènes codants les facteurs de virulences de <i>Staphylococcus aeurus</i>	28
7	Les résultats d'analyses microbiologiques	51

*Table des matières

Titre	Page
Introduction	1
Chapitre 01 : La pollution des eaux	2
I - Définition de la pollution bactérienne des eaux.....	4
I-1 Définition de l'eau	4
I-2 Les principaux types de sources d'approvisionnement en eau.....	4
I-2-1 Les eaux de surface.....	4
I-2-2 Les eaux souterraines	4
I-3 Définition de la pollution de l'eau.....	5
I-4 Les sources de la pollution d'eau.....	6
I-4-1 Rejets d'effluents urbains	6
I-4-2 Effluents des établissements hospitaliers	7
I-5 L'effets de la pollution de l'eau.....	7
I-5-1 La dégradation de la qualité de l'eau en la rendant impropre aux usages souhaités.....	7
I-5-2 Les maladies à transmission hydrique	7
I-5-3 La destruction des organes bienfaisants et le bouleversement du processus d'autoépurations	9
Chapitre II : Les bactéries contaminatrices des eaux	10
I - définition de la pollution microbienne	11
II- Les différentes bactéries pathogènes peuvent survivre ou se multiplier dans l'eau.....	11
II-1 Les coliformes totaux.....	11
II-1-1 Définition des coliformes	11
II-2 Les coliformes fécaux (coliformes thermotolérants)	12
II-2-1 Définition.....	12
II-2 Escherichia coli.....	13

II-2 -1 Définition de la bactérie	13
II-2-2 Le génome	14
II-2-3 Les gènes de virulences chez <i>E.coli</i>	17
II-3 Les entérocoques	18
II-3-1 Définition des entérocoques.....	18
II-3-2 Le génome	18
II-3-3 Les gènes de virulences chez les entérocoques	20
II-4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
II-4-1 Définition de la bactérie	21
II-4-2 Le génome	22
II-4-3 Les gènes de virulences	23
II-5 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
II-5-1 Définition de la bactérie.....	26
II-5-2 Le génome	26
II-5-3 les gènes de virulences de <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Chapitre III : traitement des eaux	30
I – Définition de traitement des eaux usées :.....	31
II- Les étapes de traitement des eaux	31
III-1 Le prétraitement	31
II-2 Le traitement primaire	31
II-3 Le traitement secondaire	32
II-3-1 Les boues activées	32
II-3-2 Lits bactériens anaérobie.....	33
II-3-3 Lits bactériens aérobie	33
II-3-4 Les disques biologiques	33

II-4 Le traitement tertiaire.....	33
II-5 La désinfection.....	34
II-5-1 la chloration de l'eau	34
II-5-2 l'ozonation	34
II-5-3 la stérilisation par les rayons U.V.....	35
II-5-4 La microfiltration	35
III- Contrôle de qualité d'eau	35
VI -Les normes de la potabilité d'eau	35
Chapitre IV : matériels et méthodes.....	37
I-1 Présentation des stations de prélèvements.....	38
I-2 Présentation de laboratoire d'analyse.....	38
I-3 Méthodologie d'analyse.....	38
I-4 Analyses microbiologique	38
I-4-1 Matériels utilisés.....	39
I-4-2 Prélèvement et transport des échantillons	39
I-4-4 Recherche et dénombrement des coliformes	40
I-4-5 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants et recherche d' <i>Escherichia coli</i>	40
I-4-6 Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	44
I-4-7 Recherche et dénombrement des Staphylocoque	48
Chapitre V : Résultat et discussion	50
I Résultats microbiologiques quantitatives.....	51
I Interprétation des résultats et discussion.....	53
Conclusion.....	55
Liste de référence.....	57
Annexe	

Introduction

Pendant longtemps l'eau a été considérée comme un bien naturel, un « don du ciel » gratuit, d'exploitation facile. Mais l'évolution spectaculaire que connaît l'environnement urbain et industriel pose dans de nombreux pays le problème de l'eau qui devient de plus en plus inquiétant non seulement si on le considère du point de vue quantité mais encore et davantage peut-être sous l'aspect de la qualité.

Elle est indispensable à toute forme de vie ; elle est nécessaire à la santé, l'agriculture, l'industrie, le tourisme, les loisirs, la navigationetc. L'eau ne peut être considérée comme un simple produit commercial, elle doit être classée comme un patrimoine universel qui doit être protégée, défendue et traitée comme tel.

En effet, la pollution des eaux accidentelle ou volontaire par certains produits chimiques d'origine industrielle (hydrocarbures, phénols, colorants,..) ou agricole (pesticides, engrais,..) constitue une source de dégradation de l'environnement et suscite à l'heure actuelle un intérêt particulier à l'échelle internationale [05].

L'eau polluée par les différents rejets (industriels, domestiques, agricoles,...etc), héberge et véhicule des bactéries en transit. Le transfert physique de ces dernières (lié au ruissellement) dépendra des conditions climatiques, pédologiques et géographiques. Par ailleurs, leur survie sera fonction de leur capacité physiologique d'adaptation à des environnements divers ; les conditions hivernales apparaissent les plus à risque, compte tenu du ruissellement induit par les pluies sur des sols nus et du faible ensoleillement favorisant la survie bactérienne.

Beaucoup des bactéries pathogènes accumulent les contaminants à de très fortes concentrations dans leurs tissus.

La consommation des eaux porte une contamination bactérienne, expose le consommateur à un risque de toxi-infection : Fièvre typhoïde, Salmonellose, Shigellose, Campylobactériose, Choléra, Gastro-entérite virale et Hépatite A.

L'analyse bactériologique d'eau consiste à la recherche et dénombrement des pathogènes qu'elle contient.

Ce travail, est divisé en 5 chapitre, dont le premier chapitre portera une généralité sur la pollution, dans le deuxième chapitre nous présenterons les différentes bactéries pathogènes, leur génome et leur facteurs de virulences .Le chapitre trois portera les étapes de traitement des eaux, le chapitre quatre réservé aux matériels et méthodes d'analyse bactériologique, tandis que le dernier chapitre est réservé aux résultats et discussion.

Enfin, cette étude se terminera par une conclusion générale.

L'objectif principal de ce travail est de déterminer la pollution bactérienne des eaux et d'identifier les bactéries pathogènes dans l'eau polluée.

Nous avons étudié la pollution de 3 stations différentes au niveau de la wilaya de Milla.

La recherche des germes par des méthodes spécifiques a montré la contamination des deux stations (1 et 2) et la propriété de la 3^{ème} station.

La station 2 est principalement contaminée par les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux avec un nombre qui peut aller jusqu'à 2400 cellules/100ml et 93 cellules/100ml respectivement.

Une valeur de 2400 cellules/100ml de streptocoque fécaux est enregistré au niveau de la station 1.

Les staphylococcus et les coliformes totaux sont faiblement présents dans les 2 stations contaminées.

Nous avons noté que l'addition de l'eau de javel est le meilleur moyen pour nettoyer et éliminer les germes pathogènes.



CHAPITRE I

LA POLLUTION DES EAUX.

I – Définition de la pollution bactérienne des eaux

I-1 Définition de l'eau

L'eau est un élément essentiel pour le développement de la vie. Le corps d'un être humain adulte est composé à 60% d'eau et une consommation minimale de 1,5 litre d'eau par jour lui est nécessaire [01].

En raison de son caractère vital, l'eau doit être mise à la disposition des populations sous forme potable et donc de bonne qualité sanitaire [02].

Une eau potable se définit comme étant une eau exempte de germes pathogène qui provoquent des maladies à transport hydrique, de substances toxiques, ne contenant pas de quantités excessives de matières minérales et organiques. Elle doit par ailleurs, être limpide incolore et ne présenter aucun goût ou odeur désagréables. Les qualités requises sont donc d'ordre physique, chimique et bactériologique [03].

I-2 Les principaux types de sources d'approvisionnement en eau

I-2-1 Les eaux de surface

Les eaux de surface comprennent les eaux des cours d'eau (lacs, étangs, bassins, rivières, fleuves). Elles sont sujettes à contamination. En effet, ce sont des eaux où viennent boire les animaux et où pataugent parfois les enfants. Leurs abords constituent souvent des lieux de défécation et les feuilles des arbres s'y accumulent et s'y décomposent généralement [04].

I-2-2 Les eaux souterraines

Ce sont les eaux des nappes. Elles peuvent être classées en deux catégories:

- les nappes phréatiques ou nappes de puits : elles reposent non loin du sol (quelques dizaines de mètres) et sont peu protégées, donc soumises à la contamination biologique;
- les nappes profondes : elles sont situées à quelques centaines de mètres de profondeur et reposent sur des couches d'argile imperméables, profondes. L'eau de pluie est ainsi filtrée à travers plusieurs couches de terre avant de constituer la nappe [04].

I-3 Définition de la pollution de l'eau

La pollution ou la contamination de l'eau peut être ainsi définie comme la dégradation de celle-ci en modifiant ses propriétés physique, chimique et biologique; par des déversements, rejets, dépôts directs ou indirects de corps étrangers ou de matières indésirables telles que les microorganismes, les produits toxiques, les déchets industriels [05].

La pollution de l'eau est l'introduction de n'importe quelle substance dans une rivière, un cours d'eau, un lac, ou dans l'océan qui altère les ressources naturelles de cet environnement. Il s'agit parfois d'objets fabriqués par l'homme comme des sacs en plastique, des capsules de limonade, du fil de pêche, des balles ou mêmes des chaussures. Mais le plus souvent, la pollution de l'eau n'est pas visible. Des produits agricoles fertilisants ou des produits chimiques industriels sont des sources de pollution de l'eau difficile à voir. Nos activités quotidiennes comme la chasse des toilettes, le lavage des aliments, le nettoyage des voitures sont aussi une cause de pollution de l'eau [06].

La pollution a donc de nombreuses origines qui sont reliées au cycle de l'eau. Elle peut provenir directement des activités humaines comme le déversement de déchets ou de substances chimiques dans l'eau, qui peut s'introduire n'importe où dans le cycle de l'eau. Il suffit par exemple d'imaginer le chemin parcouru par une goutte de pluie depuis le moment où elle atteint le sol jusqu'à ce qu'elle rejoigne une rivière, une nappe souterraine ou la mer. Quand l'eau ruisselle sur le sol, elle peut se charger de polluants provenant par exemple des routes, des fermes, des pelouses. Quand elle s'infiltré dans le sol, elle peut entrer en contact avec des polluants qui s'échapperaient de décharges de déchets, de dépôts illicites d'ordures ou de produits chimiques. Elle peut être contaminée par des polluants rejetés en rivière par des installations industrielles. Dans l'atmosphère, la vapeur d'eau se condense dans un air pollué par les rejets des automobiles, des cheminées d'usines ou d'autres sources de pollution atmosphérique [06].

I-4 Les sources de la pollution d'eau

I-4-1 Rejets d'effluents urbains

Ces rejets sont de deux origines : origine domestique et origine industrielle.

I-4-1-1 Eaux usées domestiques

Essentiellement porteuses de pollution organique et se répartissant en eaux ménagères ou grises (salles de bains et cuisines) généralement chargées en détergents, en graisses, en solvant et en débris organiques ; et en eaux vannes (rejets des toilettes) caractérisées par une importante charge en diverses matières organiques azotées et en germes fécaux et pathogènes [07].

I-4-1-2 Eaux usées industrielles

Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus des matières organiques azotées ou phosphorées, elles peuvent aussi contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures [07].

I-4-1-2-1 Eaux usées pluviales

Pendant les périodes orageuses, elles peuvent constituer une importante source de pollution des cours d'eau. Quand l'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles) pendant son ruissellement, elle se contamine par des résidus: huiles de vidanges, carburants dans le périmètre urbain, et engrais et pesticides en zones rurales [08].

I-4-1-2-2 Eaux usées d'origine agricole

Les engrais, indispensables à l'agriculture moderne, modifient la faune et la flore naturelle des cours d'eau et la composition chimique des eaux souterraines (ruissellement et lessivage par les eaux naturelles). Ces engrais sont composés de nitrates, phosphores, insecticides et herbicides chlorés et phosphorés, détergents, mouillants et matières organiques fermentescibles [08].

I-4-2 Effluents des établissements hospitaliers

Les effluents hospitaliers ont une qualité proche des eaux usées domestiques avec un volume supérieur. Les effluents générés par l'activité hospitalière peuvent présenter un danger potentiel pour l'homme et son environnement compte tenu de la nature et de l'importance des substances spécifiques qu'ils contiennent (résidus médicamenteux, réactifs chimiques, antiseptiques, détergents, révélateurs et fixateurs de radiographies...) et en raison de leur évacuation, au même titre que les rejets urbains classiques, vers le réseau d'assainissement communal sans traitement préalable [08].

I-6 L'effets de la pollution de l'eau

Parmi les principaux effets de la pollution de l'eau, on cite :

I-6-1 La dégradation de la qualité de l'eau

En la rendant impropre aux usages souhaités.

I-6-2 Les maladies à transmission hydrique

Les eaux douces sont capables de véhiculer des agents pathogènes et des parasites stricts de l'homme et des animaux. Ils peuvent être introduits occasionnellement dans l'eau et par fois disséminés loin par l'eau.

Dans le nouvel environnement les bactéries d'origine intestinale humaine (entérobactéries) persistent très longtemps. Mais elles ne se développent pas dans l'eau. L'eau peut véhiculer des toxines comme la toxine botulinique de type D lorsqu'elle est contaminée par un cadavre. L'eau joue un rôle d'appel écobioécologique pour certains vecteurs et oriente indirectement l'épidémiologie de la rage des arboviroses et de toutes les maladies à transmission vectorielle. L'eau peut véhiculer des toxines comme la toxine botulinique de type D lorsqu'elle est contaminée par un cadavre. Certaines bactéries contaminent et vivent à l'état naturel dans l'eau. Elles s'y multiplient et y demeurent très longtemps surtout lorsqu'elles sont sporulées [01].

Les maladies à transmission hydrique sont le plus souvent transmises par voie féco-orale et la contamination de l'homme se réalise alors soit par consommation d'aliments contaminés par l'eau, soit lors d'un bain ou d'un contact avec des eaux à usage récréatif. Ces maladies sont généralement liées à la présence de bactéries strictement pathogènes ou opportunistes. Des protozoaires, des parasites et des virus sont également impliqués. Il faut signaler aussi que des intoxications peuvent être liées à la présence d'algues eucaryotes ou de cyanobactéries [08].

Les maladies d'origine hydrique englobent le choléra, la typhoïde, le shigella, la polio, la méningite et l'hépatite A et B. Les êtres humains et les animaux peuvent être les hôtes des bactéries, des virus et des protozoaires qui causent ces maladies. Des millions de gens n'ont guère accès, pour leur hygiène personnelle, à une évacuation contrôlée des eaux usées ou à une eau salubre. On estime que 3 milliards d'êtres humains, par exemple, n'ont pas de toilette sanitaire. Plus de 1,2 milliard de personnes courent des risques parce qu'ils n'ont pas accès à de l'eau salubre.

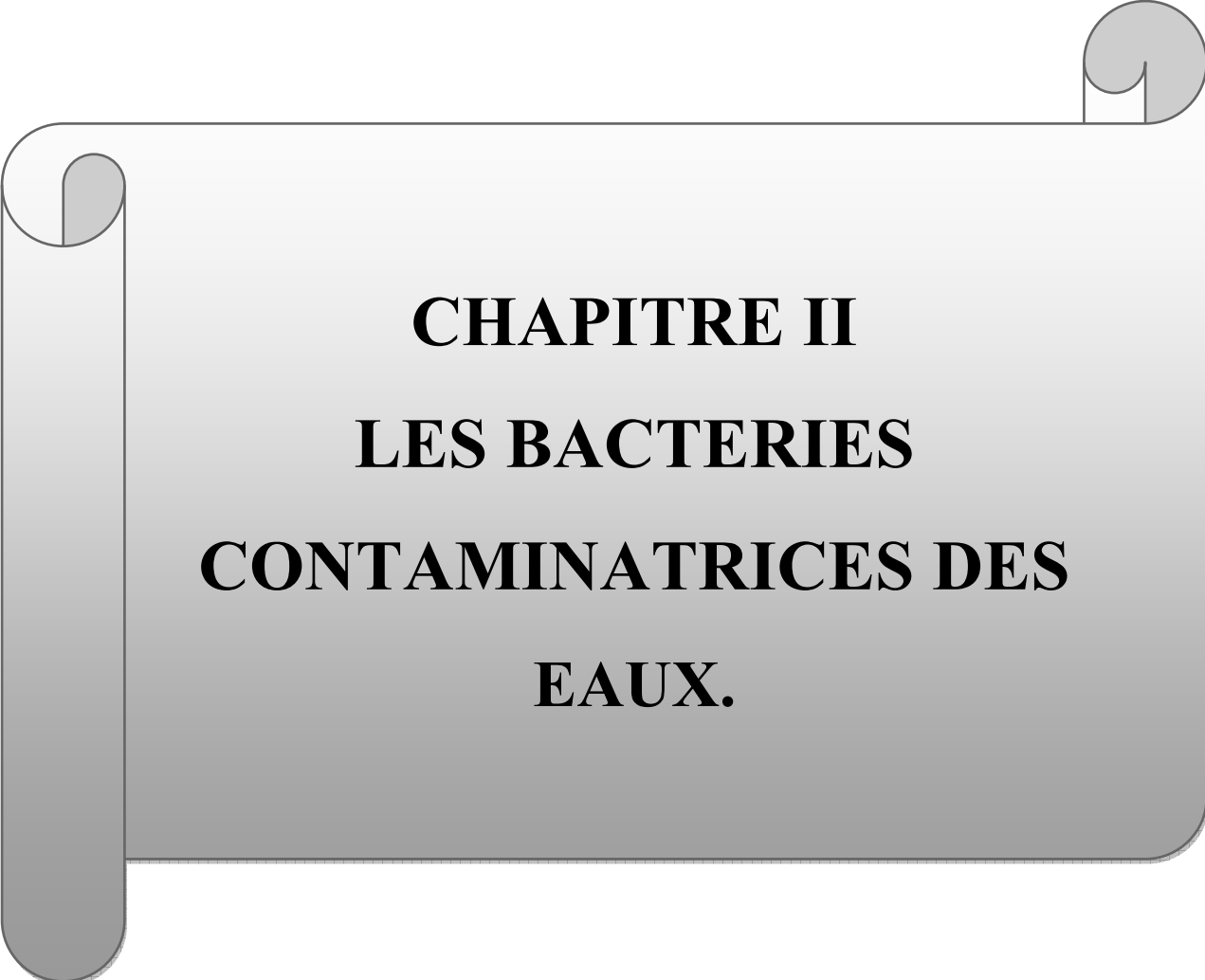
Les maladies diarrhéiques, qui sont les principales maladies d'origine hydrique, sont prévalentes dans de nombreux pays où l'épuration des eaux usées est insuffisante. En pareil cas, les déchets humains sont évacués à ciel ouvert dans des latrines, des fossés, des canaux et des cours d'eau, ou sont épandus dans les champs. On estime qu'il y a chaque année 4 milliards de cas de maladies diarrhéiques qui causent entre 3 et 4 millions de morts, surtout parmi les enfants. [09].

Tableau 01 : Les bactéries pathogènes responsables de maladies d'origine hydrique

Bactéries	Pathologies
Salmonella	Fièvre typhoïde et diarrhée.
Shigella	Diarrhée.
Campylobacter	Diarrhée (cause première des intoxications alimentaires).
Yersinia enterocolitica	Diarrhée.
Escherichia coli O157 :H7 et certaines autres souches	Diarrhée risque de complications (urémie hémolytique) chez les enfants en bas âges.
Legionella pneumophila	Pneumonie et autres infections respiratoire.

I-6-3 La destruction des organes bienfaisants et le bouleversement du processus d'auto-épuration

Elle est éventuellement la modification de façon défavorable du milieu vivant. Dans le même contexte, on peut citer le phénomène d'eutrophisation. C'est une fertilisation excessive des eaux due à un apport massif de composés azotés et phosphorés provenant de l'activité agricole et des rejets domestiques et industriels. Ces composés favorisent le développement des micro-algues (phytoplanctons) et des macro-algues qui constituent le premier maillon de la quasi-totalité des chaînes alimentaires. L'eutrophisation induit un dysfonctionnement de l'écosystème, elle conduit à son asphyxie par épuisement des réserves d'oxygène [08].



CHAPITRE II
LES BACTERIES
CONTAMINATRICES DES
EAUX.

I - définition de la pollution microbienne

La pollution microbienne est principalement liée aux eaux usées urbaines. Ces dernières sont très chargées en coliformes, bactéries pathogènes, virus et parasites. Le réservoir majeur des bactéries responsables des maladies à transmission hydrique se trouve être l'appareil digestif de l'homme et des animaux. L'élimination de ces bactéries par les matières fécales contamine les égouts urbains, les eaux résiduaires hospitalières et les eaux de surface [08].

Parmi les nombreux micro-organismes qui peuplent les eaux douces, la plupart jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement biogéochimique des écosystèmes aquatiques mais d'autres ne prennent pas part à ce fonctionnement et ne font qu'être véhiculés par l'eau des rivières. Ces derniers proviennent essentiellement du tube digestif des hommes et des animaux. C'est de ces micro-organismes « fécaux » qu'il sera question ici. La plupart d'entre eux sont inoffensifs ; ils ne font que témoigner de l'existence d'une contamination des eaux par des excréments humains ou animaux [10].

II- Les différentes bactéries pathogènes peuvent survivre ou se multiplier dans l'eau

Parmi ces bactéries on trouve :

- 1. Les coliformes totaux.**
- 2. Les coliformes fécaux.**
- 3. *Escherichia coli*.**
- 4. *Pseudomonas aeruginosa*.**
- 5. *Staphylococcus aureus*.**

II-1 Les coliformes totaux

II-1-1 Définition des coliformes

Sous le terme de « coliformes » est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram-négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaries ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37°C.

Les coliformes comprennent les genres : *Esherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia* [08].

Leur résistance aux agents antiseptiques, et notamment au chlore et à ses dérivés, est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est instauré; ils constituent donc des indicateurs d'efficacité de traitement. Donc, le dénombrement des coliformes totaux est un examen capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement désinfectant, et d'intérêt plus nuancé pour déceler une contamination d'origine fécale [08].

II-2 Les coliformes fécaux (coliformes thermotolérants)

II-2-1 Définition

Ce sont des coliformes qui présentent les mêmes propriétés et caractéristiques des coliformes totaux après incubation à la température de 44°C.

Le groupe des coliformes fécaux comprend les espèces suivantes:

Citrobacterfreudii, *Citrobacterdiversus*, *Citrobacteramalonaticus*, *Enterobacteraerogenes*, *Enterobactercloacae*, *Esherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae*, *Klebsiellaoxytoca*, *Moellerella wisconsensus*, *Salmonella* (sous-genre III *Arizona*), *Yersinia enterolitica* [05].

La présence de coliformes fécaux dans un milieu aquatique, et plus particulièrement d'*E.coli*, est considérée comme un bon indicateur d'une contamination récente du milieu par du matériel fécal humain ou d'animaux à sang chaud. Néanmoins, leur mise en évidence dans l'eau n'est pas la preuve de la présence de pathogènes, mais elle permet de la suspecter fortement.

Un autre test peut fournir les mêmes indications que celles fournies par le dénombrement des coliformes fécaux, c'est le dénombrement des *E.coli* présumés qui correspondent à des coliformes thermotolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane, à 44°C. L'examen peut donc être orienté vers l'un ou l'autre de ces dénombrements [08].

II-2 *Escherichia coli*

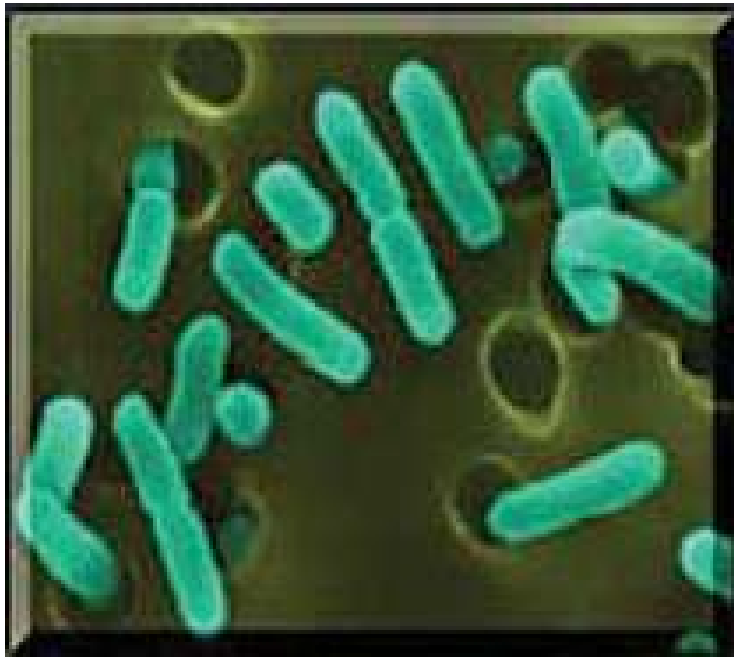


Figure 01 : *E coli* [25].

II-2 -1 Définition de la bactérie :

Escherichia coli (*E.coli*) est l'espèce type du genre *Escherichia* des entérobactéries. Appelée communément "colibacille" c.-à-d. "bacille à côlon". *E.coli* est un habitant de l'intestin et les selles des animaux et des reptiles à sang chaud [26]. Cette espèce qui a fait l'objet d'un très grand nombre d'études constitue le modèle des bacilles à Gram- aérobies. La plupart des *E. coli* se multiplient rapidement (18 à 24 h) sur les milieux habituels. Les colonies ont en moyenne 2 mm de diamètre, [23] et 2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large [24]. Elles sont rondes, plates et à bords réguliers [23].

C'est une protéobactérie, polynucléaire, neutrophile, commensale, saprophyte [24].
E coli produit plusieurs facteurs de virulence comme :

✓ **les shiga toxines :**

Qui sont des exotoxines ayant un effet cytopathogène sur certaines lignées cellulaires [27]. . Elles entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques [28].

✓ **les fimbrae ou adhésine :**

Qui permettent à la bactérie d'adhérer aux cellules (urinaires, entérocytes, ..) [29]. L'adhésion aux cellules épithéliales est un préalable au développement de nombreuses maladies [30].

✓ **L'intimine :**

L'intimine est une protéine d'adhésion de la membrane externe associée aux lésions d'attachement-effacement [30]

Il y'a différents pathovars d'*E. Coli* :

- ❖ les *E. coli* enterotoxinogènes : ETEC.
- ❖ les *E. coli* entéro-pathogènes : EPEC.
- ❖ les *E. coli* entérohémorragiques : EHEC.
- ❖ les *E. coli* entéroinvasifs : EIEC [31].

II-2-2 Le génome

II-2-2-1 caractéristique de génome

La séquence complète a été déposée dans GenBank le 16 Janvier 1997.

La séquence d'*Escherichia coli* K-12 est composée 4.639.22 paires de bases. 4397 de gènes codant pour des protéines annotées, 38 pour cent ont pas de fonction attribuée.

Le génome dans son ensemble est remarquablement organisé par rapport à la direction locale de la réplication; guanines, d'oligonucléotides possiblement liés à la réplication et de la recombinaison, et la plupart des gènes sont orientés. Le génome contient également la séquence d'insertion (IS), des restes de phages, et beaucoup d'autres taches de composition inhabituelle indiquant la plasticité du génome par transfert horizontal [32].

II-2-2-2 Organisation de génome d'*E coli*

La figure 02 montre une vue d'ensemble du génome de *E. coli*.

Il y'a deux ensembles de trois cercles.

L'ensemble externe de trois cercles sont disposés dans l'ordre des régions codantes de l'ADN (gènes sont marqués en rouge ou en bleu, en fonction de l'orientation), les niveaux d'expression de l'ARNm (cercle vert, ce qui est de données pour les cellules cultivées dans un milieu minimal), et des protéines.les niveaux de concentration (en bleu). Il y a 4397 gènes annotée dans le génome de *E. coli*, dont seulement 2005 sont exprimé à des niveaux détectables dans les cellules cultivées dans un minimum média comme indiqué dans le cercle vert; et seulement 233 protéines ont été constatée à des concentrations «abondantes» (Par exemple, supérieure à environ 100 molécules par cellule) sur la base. Le jeu intérieur de trois cercles correspond à les sites prévus pour l'IHF, IHF-RIB et les protéines de la FIS, respectivement. (IHF, FIS sont des protéines de la chromatine).

L'intensité de la couleur reflète la prédit de la force de la liaison. Au niveau de l'ensemble génome, les sites de liaisons prédites sont plus ou moins répartir uniformément dans tout le génome [33].

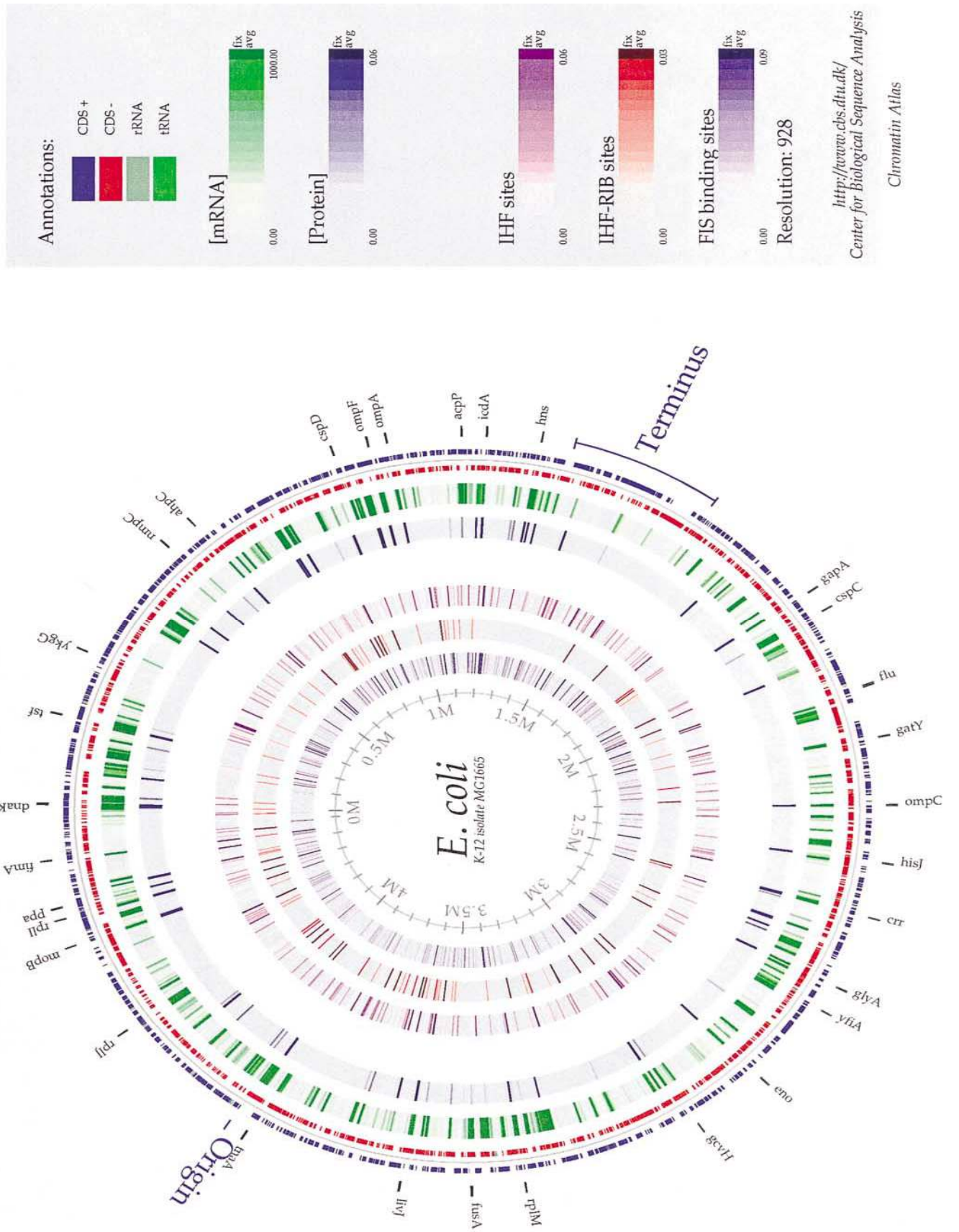


Figure 02 : Organisation de génome d'*E.coli* [33].

II-2-3 Les gènes de virulences chez *E.coli* : tableau 2Tableau 02 : Facteurs et gènes de virulence des autres pathotypes d'*E. coli* [35].

Pathogènes	Facteurs	Pathogénie	Gènes
ETEC	Fimbriae F Entérotoxines	Adhérence aux villosités Intestinales. Hypersécrétion des Cl ⁻ , mal absorption digestive.	F4 et F18. LT, STa et STb.
STEC	Shigatoxines stx1 et stx2 Attachement/ effacement Hémolysine	Production de cytokines et apoptose c. Attachement/effacement des villosités intestinales cellulaires. SHU.	stx1, stx2. Eae. Ehx.
AEEC	Attachement/ effacement	Lésions d'attachement et d'effacement des villosités intestinales	Eae.

II-3 Les entérocoques

II-3-1 Définition des entérocoques

Les Enterococcus (E) étaient classés dans le genre *Streptococcus* (S) [11]. Ils sont des Grams positifs, commensaux du tube digestif [12] anciennement appelés streptocoques [13].

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de Lance Field. Ils sont définis comme étant des cocci sphériques légèrement ovales, Gram positifs [14] non-sporulant [15]. Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînes, se développent le mieux à 37°C et ils possèdent le caractère homoférmatoire avec production de l'acide lactique sans gaz [14]. Ils sont anaérobies facultatifs [16]. Il y a 5 espèces reconnues parmi les SF : *S. bovis*, *S. equinus*, *S. avium*, *S. faecalis* et *S. faecium* [14].

Les entérocoques se caractérisent par une résistance native aux céphalosporines médiée par une protéine de liaison à la pénicilline (PLP) [21].

Tous les entérocoques sont naturellement résistants à bas niveau aux aminoglycosides [22].

Lors d'infections sévères à entérocoques, les traitements usuels consistent en la combinaison d'ampicilline et d'aminoglycosides (gentamicine) qui sont connus pour avoir un effet synergique [17].

II-3-2 Le génome

II-3-2-1 Caractéristiques de génome

Certaines caractéristiques uniques du génome sont que plus de 25% du génome est constitué de séquences mobiles et / ou l'ADN exogène acquise, qui comprend un certain nombre d' transposons conjugaison et composites, une pathogénicité île, des gènes plasmidiques intégrées des régions phages et nombre de séquence d'insertion élevées [18].

L'analyse du génome entier identifié 134 protéines exposées qui pourraient être associées à la colonisation ou la virulence.

Le génome d'*E. faecium* est estimé à environ 2,9 Mb, légèrement inférieure à 3,2 Mb de la

souche V583 de *E. faecalis*. Il se compose de 2, 928,706 paires de bases, 20 cadres de lectures ou plus, avec 3309 gènes codant pour des protéines potentielles [18].

II-3-2-2 Organisation de génome

Le génome d'*E. faecium* TX16 est constitué d'un chromosome et trois plasmides. Le chromosome (figure3) contient 2698137 des paires de bases avec 2703 ORF codant pour des protéines, 62 ARNt, 6 copies d'ARNr ribosomale et 32 d'autres ARN non codants.

Le chromosome a une teneur en GC de 38,15%, et il montre une inclinaison de GC clairement à l'origine de réplication (Figure 3). Les tailles des trois plasmides (PDO1, PDO2 et PDO3) sont 36.262, 66.247 et 251.926 pb (tableau 3) [19].

Tableau 03 : Les caractéristiques générales du génome *E. faecium* TX16 [19].

Caractéristiques	Chromosome	Plasmide pDO1	Plasmide pDO2	Plasmide pDO3
taille (bp)	2698137	36262	66247	251926
G + C %	38.15	36.51	34.38	35.97
ORFs	2703	43	85	283
ARNr opérons	6	0	0	0
ARNt	62	0	2	0

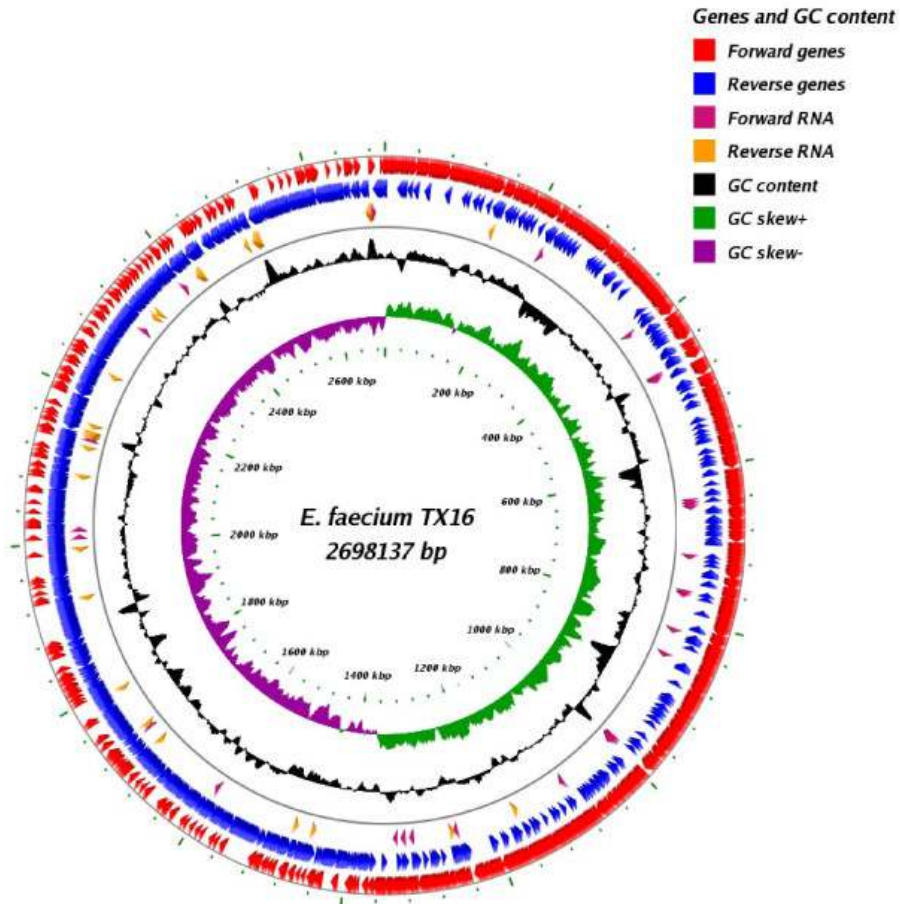


Figure 03 : Le génome d’*E. faecium* TX16 [19].

II-3-3 Les gènes de virulences chez les entérocoques: tableau 4

Tableau 04: Liste des gènes codants les facteurs de virulences d’entérocoque [20]

Facteurs de virulence	de	Gènes	locus Homologues	Roles en pathogeneses
Adhesine		Scm	EfaeDRAFT_0418	Adherence
Pili		EbpABC ebpR rnjB	EF1091-EF1093 EF1090 EF1185	formation de Biofilm regulation de locus ebp regulation de locus ebp
Capsule		Eps	EFSG_00424, -25, -26, -31, -33, -35 to -41	Resistance aux phagocytoses

II-4 *Pseudomonas aeruginosa* (P.A)



Figure 04 : *P aeruginosa* [36].

II-4-1 Définition de la bactérie

P. Aeruginosa, bacille le plus commun du groupe *Pseudomonas*, famille des *Pseudomonadaceae*, est mobile grâce à son flagelle simple, Gram⁻ et aérobie stricte [61] bâtonnets droits ou incurvés, les flagelles sont polaires [23].

C'est une bactérie ubiquitaire qui vit dans des milieux humides et aquatiques [38].

Ce genre comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (dont l'espèce type est *Pseudomonas aeruginosa* généralement dénommée Bacille pyocyannique) cependant de nombreuses espèces sont en cours d'exclusion (De par les progrès de la phylogénétique) ce qui pourrait réduire leur nombre à une soixantaine d'espèces [12].

Ils forment des biofilms sur des surfaces humides telles que celles des roches et du sol [37].

Cette bactérie représente un problème important de santé publique, comme l'une des principales causes d'infections nosocomiales et comme un agent infectieux pour les patients atteints de fibrose kystique.

La pathogénicité de cette bactérie dépend de la production et la sécrétion de multiples facteurs de virulence qui sont réglementés au niveau transrationnel par la réponse que l'on appelle le quorum sensing (QS) [39].

Elle peut produire des infections graves chez les patients immunodéprimés et est le principal facteur de morbidité et de mortalité chez les patients atteints de fibrose kystique [37].

Les infections à *P.aeruginosa* sont toujours difficiles à traiter en raison des résistances naturelles de ce germe [43].

II-4-2 Le génome

II-4-2-1 Les caractéristiques de génome

Le premier génome séquencé est de la souche PAO 1 en 1955 [39].

Le génome de *P. aeruginosa* est caractérisé par une teneur élevée en G + C.

Elle possède un génome plus grande que celles des deux autres principaux agents pathogènes nosocomiaux *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* qui ont une taille moyenne de 4,721 et 3,118, respectivement gènes [40]. Il contient 6,3 millions de paires de bases avec 5570 cadres de lecture prédit ouvert dont le génome code pour environ 6.200 protéines [37].

II-4-2-2 Organisation de génome

La figure 05 montre une vue d'ensemble du génome de *p auruginosa*.

Le cercle extérieur indique l'emplacement chromosomique en paires de bases (chaque tic est de 100 kb). La distribution des gènes est représentée par des boîtes de couleur 'en fonction de la catégorie et la direction de la transcription fonctionnelle (bande extérieure est le brin plus; bande intérieure est le brin moins). Les flèches rouges indiquent les emplacements et les sens de la transcription des gènes de l'ARN ribosomique; flèche verte indique la région inversée qui résulte d'un événement de recombinaison homologue entre ARNr *rrnB* les flèches bleues, indiquent emplacement des deux régions contenant des bactériophages probables. L'intrigue noire dans le centre est le pourcentage de contenu G + C reporté comme la

moyenne des fenêtres ne se chevauchent pas 1 kb couvrant un brin pour l'ensemble de génome de *P.aeruginosa*.

Les barres jaunes indiquent les régions de 3,0 kb avec G + C contenu de deux écarts - types (<58,8%) en dessous de la moyenne (66,6%) [41].

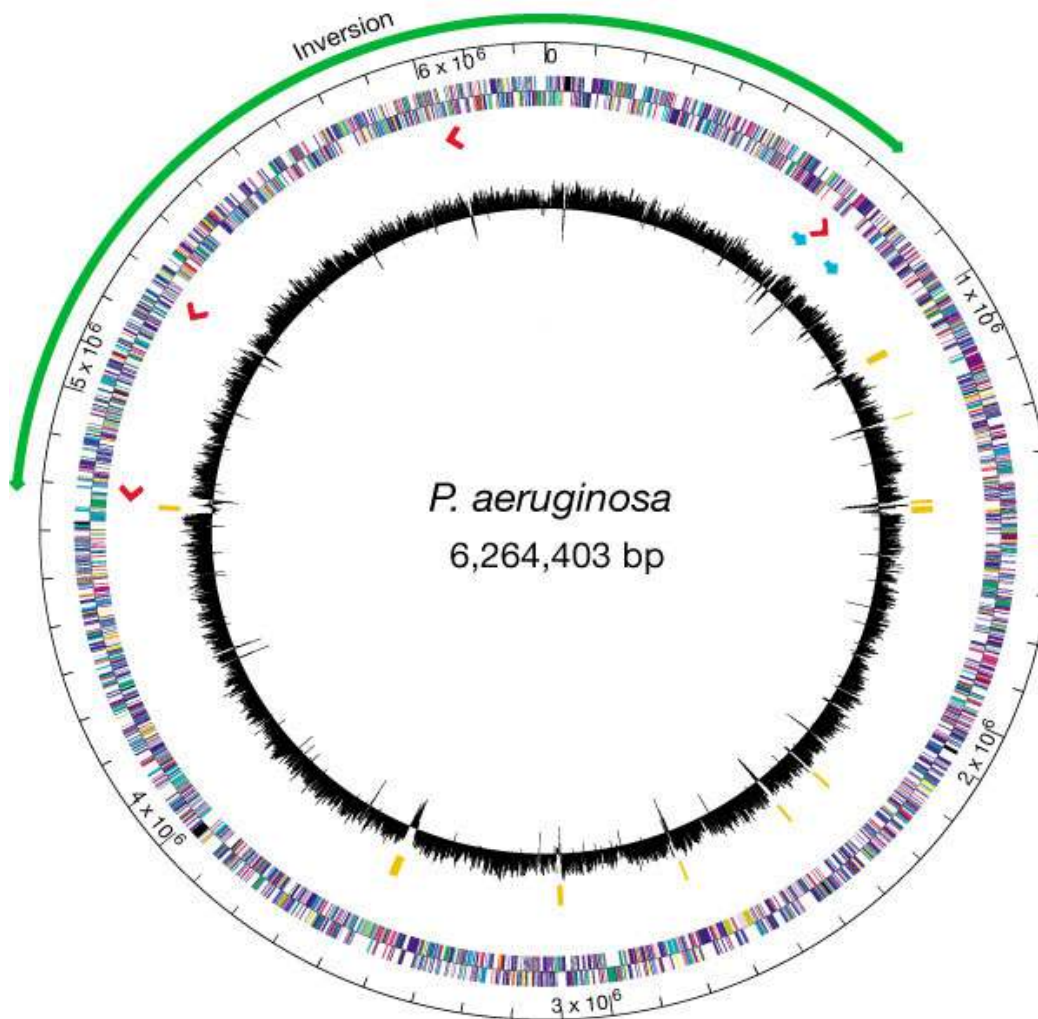


Figure 05 : Organisation de génome de *p aeruginosa* [41].

II-4-3 Les gènes de virulences: Tableau 5

Tableau 05 : Les facteurs et gènes de virulence de *pseudomonas aeruginosa* [42].

protéines de virulences	Gènes
Exotoxine A	<i>exo A</i>
Alas	<i>las A</i>
Xcp Machinerie	<i>Xcp</i>
Elastase LasB	<i>las B</i>
Protease alcaline	<i>apr A</i>
Rhamnolipide	<i>Rhl</i>
Pyocyanine	<i>Pycn</i>

- Le Quorum sensing peut se définir comme un système de régulation de la transcription de gènes (notamment ceux impliqués dans la virulence) déclenché par la densité bactérienne. En termes de physiologie et d'adaptation : les bactéries “ attendent ” d'être en quantité suffisante pour sécréter des protéines de virulence. Les responsables de cette synthèse protéique sont des gènes en cours d'identification. Ils sont sous le contrôle de ce système de Quorum sensing avec un gène *las* responsable de la synthèse d'une protéine *lasR* et un gène *lasI* responsable de la synthèse des homosérines lactones. L'ensemble va devenir activateur transcriptionnel pour la production de toute une série de protéines responsables de la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*. Ce système de Quorum sensing joue probablement un rôle important dans la pathogénicité [42].
- **Les gènes régulateurs sont : *lasR* – *lasI* – *rhlR* – *rhlI* [42].**

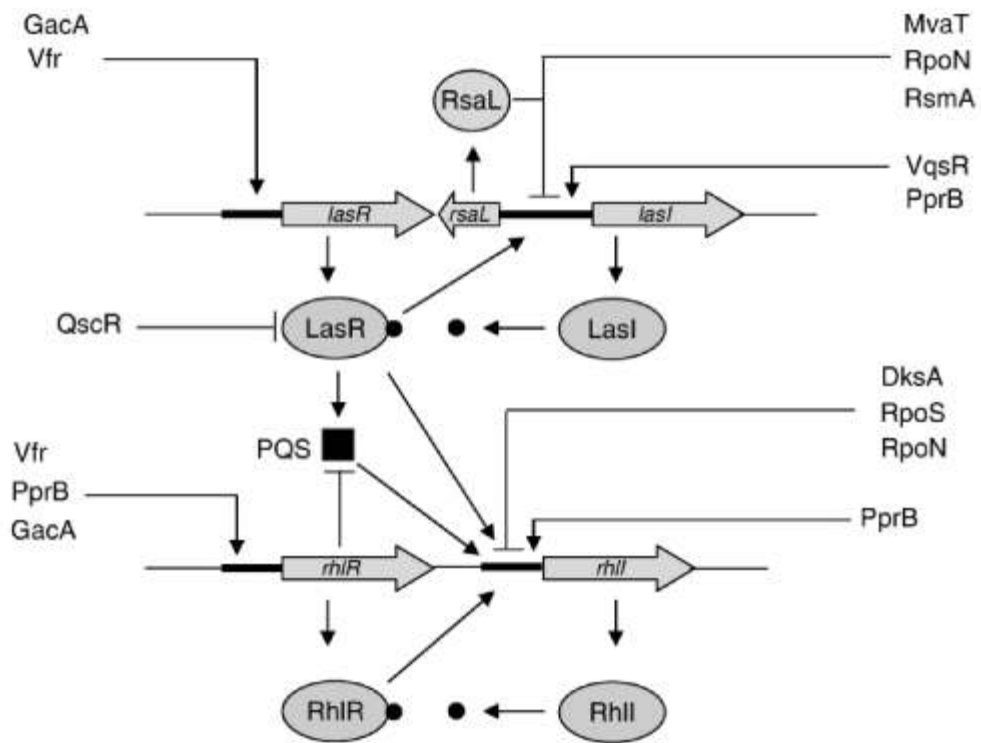


Figure 06 : Représentation schématique de mécanisme de Q. S chez *P. aeruginosa* [42].

II-5 *Staphylococcus aureus*

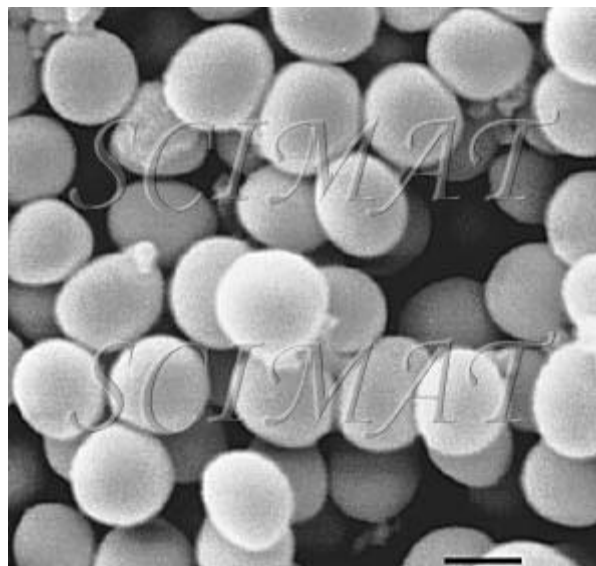


Figure 07 : *Staphylococcus aureus* [45].

II-5-1 Définition de la bactérie

Le *Staphylococcus aureus* (*S.A*) a été découvert en 1880 [57].

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative [12]. Elle a une forme sphérique les bactéries d'environ 1 μ m de diamètre [46].

Les Staphylocoques sont facultatifs et possèdent une catalase qui permet de les différencier des Streptocoques. Ils sont asporulés et en général sans capsule. Les Staphylocoques dits à coagulase positif comme *S. aureus* ont un pouvoir pathogène important du à la présence de l'enzyme staphylocoagulase [47].

Le *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) est une bactérie commune ou germe qui peut vivre dans le nez, la peau ou dans l'intestin [48] et colonise la peau et des surfaces muqueuses de l'être humain ainsi que de plusieurs espèces animales [49].

S. aureus est équipé d'un grand nombre de facteurs de surface favorisant la colonisation de l'hôte [52].

S.A. résiste aux pénicillines M et à toutes les β -lactamines. La résistance est souvent associée à d'autres résistances (aminosides, fluoroquinolones et à pénicillinase) [58].

II-5-2 Le génome

II-5-2-1 Les caractéristiques de génome

Les premières séquences du génome des souches de *S. aureus* MU50 et N315 ont été publiées en 2001 [50].

Le génome complet de la souche *S. aureus* T0131 contient un seul chromosome circulaire de 2913900 pb, avec une teneur en GC de 32,8%, et aucun élément extra chromosomique. Au total, 2.711 gènes codant pour des protéines, 54 des gènes codant pour les ARNt, 6 opérons d'ARNr [46].

II-5-2-2 Organisation de génome

Affichage circulaire de chromosome de la souche *S. aureus*.

Les barres vertes à l'intérieur de la première (externe) cercle échelle indiquent les positions des îlots génomiques.

Le deuxième cercle montre des cadres de lecture ouverts orientés dans la direction vers l'avant, tandis que le troisième cercle indique celles qui sont orientées dans le sens inverse.

Les quatrième et cinquième cercles montrent les gènes de l'ARN et de transfert des ARN, respectivement.

Le sixième cercle représente les valeurs de contenu G + C. le Violet indique les domaines avec G + C des teneurs supérieures à 50% [51].

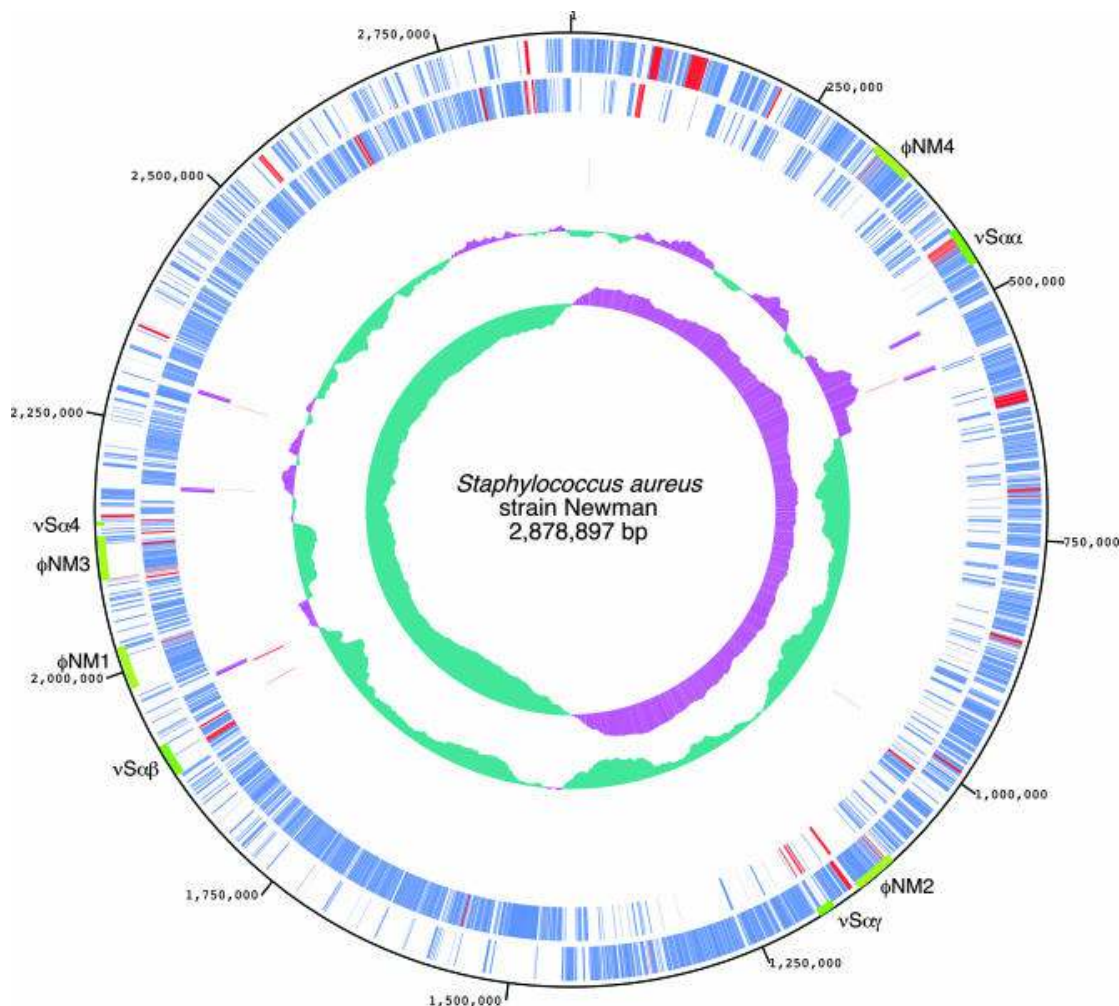


Figure 08 : Le génome de *Staphylococcus aureus* [51].

II-5-3 les gènes de virulences de *Staphylococcus aureus*

Tableau 06 : liste des gènes codants les facteurs de virulences de *Staphylococcus aureus* [55].

Facteurs de virulence	Gènes	Rôle
Protéine A	<i>coa</i>	Réagit avec la prothrombine pour former un complexe qui peut cliver le fibrinogène et causer la formation d'un caillot de fibrine.
	<i>spa</i>	Liaison au fragment Fc de l'immunoglobuline G et inhibition de la phagocytose.
Protéinases	<i>Ssp</i>	Hydrolysent les protéines.
Entérotoxines (A, B, C, D, E et F)	Ent	Neurotoxine ayant une activité superantigène sur les lymphocytes T.
Hémolysines (alpha, beta, delta et gamma)	<i>hla, hlb, hld et hlg</i>	Lyse les érythrocytes.
Exfoliatines A et B	<i>eta, etb</i>	Toxine causant la perte des couches superficielles de la peau dans le syndrome de la peau ébouillantée.
Lipases et phospholipases	<i>Plc</i>	Activité enzymatique sur les lipides et les phospholipides.
Déoxyribonucléase		Enzyme hydrolysant l'ADN.
		Liaison au plasminogène et

Staphylokinase	<i>sak</i>	transformation en plasmine qui a une activité fibrinolytique et protéolytique. Aide à la dissémination.
Toxine-1 du syndrome de choc (TSST-1)	<i>Tst</i>	Activité superantigène.
Facteur d'agglutination	<i>clfA</i>	Liaison aux fibrinogènes.
Leucocidine (PVL)	<i>lukR</i> , <i>lukF</i> et <i>lukS</i>	Inhibe la phagocytose par les granulocytes et les macrophages tout en les détruisant.
Protéines de surface	<i>fnbA</i> , <i>fnbB</i> , <i>can</i>	Liaison à la fibronectine, au collagène, etc.
Capsule	<i>Cap</i>	Inhibe la phagocytose et l'adhérence aux cellules épithéliales, endothéliales et aux monocytes.
Staphyloferrine B	NWMN_2079-2082	Sidérophore.
Bactériocines	Bsa	Inhibe les bactéries à Gram négatif.



CHAPITRE III

TRAITEMENT DES

EAUX USEES.

I – Définition de traitement des eaux usées

Le traitement des eaux usées sert à éviter le plus possible de la pollution de milieu naturel. Aujourd'hui, les stations de traitement des eaux usées sont devenues des usines de dépollution compactes, couvertes, désodorisées et automatisées. Elles mettent en oeuvre des traitements de plus en plus performants, capables d'éliminer à la fois les différentes substances polluantes carbonées, azotées et phosphorées. Ces stations sont dimensionnées pour traiter une certaines charges de pollution et assurer un rejet conforme aux valeurs limites définies par l'arrêté préfectoral d'autorisation [62].

II- Les étapes de traitement des eaux

Les différentes étapes du traitement des eaux usées sont classiquement les suivantes :

II-1 Le prétraitement

Consistent à débarrasser les eaux usées des polluants solides les plus grossiers (dégrillage, dégraissage). Ce sont de simples étapes de séparation physique [63].

II-2 Le traitement primaire

Le traitement primaire regroupe les procédés physiques ou physico-chimiques visant à éliminer par décantation une forte proportion de matières minérales ou organiques en suspension. A l'issue du traitement primaire, seules 50 à 60 % des matières en suspension sont éliminées. Ce traitement primaire ne permet d'obtenir qu'une épuration partielle des eaux usées. Ils ont d'ailleurs tendance à disparaître en tant que seul traitement, notamment lorsque l'élimination de la pollution azotée est requise. Pour répondre aux exigences réglementaires, une phase de traitement secondaire doit être conduite [64].

➤ Le principe du traitement physico-chimique

Utilisation d'adjuvants chimiques pour éliminer les matières en suspension. Il comporte une phase de coagulation (agglomération des colloïdes par addition par exemple de sels de fer ou d'aluminium), une phase de floculation et une phase de décantation pour assurer la séparation entre solide et liquide suite à l'injection des agents flocculants tel le charbone

actif en poudre. Ces traitements acceptent les variations brutales de charges polluantes, mais ils sont très coûteux en exploitation selon les adjuvants chimiques utilisés [63].

II-3 Le traitement secondaire

Il s'agit d'un traitement biologique dont l'objectif est l'élimination de la pollution carbonée, azotée et phosphorée. Le principe de l'épuration par voie biologique consiste, dans un premier temps, à faire assimiler la pollution carbonée par des microorganismes dont l'activité est améliorée en la plaçant dans des conditions optimales, la pollution de l'eau est alors transformée en biomasse. Puis cette biomasse est extraite de l'eau sous forme de boues [62].

➤ Le principe du traitement biologique

Il permet la biodégradation des matières organiques des eaux usées grâce à des bactéries aérobies ou anaérobies dans des systèmes suivants :

- **Système intensif** à cultures fixes telles que les lits bactériens et les disques biologiques ou à cultures libres telles que les boues activées.
- **Système extensif** dont le plus répandu et le plus classique est le lagunage surtout dans les pays à climat chaud et où le terrain est disponible à coût raisonnable. Il consiste en un lent écoulement de l'affluent dans un ou plusieurs réservoirs plus ou moins profonds [63].

II-3-1 Les boues activées

Le traitement par boues activées est très largement utilisé. Il s'agit d'un réacteur qui contient les eaux à traiter mélangées avec microorganismes flocculant et de l'oxygène dissous. Les bactéries consomment la matière organique et contribuent à l'élimination de l'azote et du phosphate. Le bassin d'aération est équipé d'un système d'aération fonctionnant en discontinu. La nitrification s'effectue durant les phases aérobies et la dénitrification durant les phases d'anoxie [62].

II-3-2 Lits bactériens anaérobie

Si les réactions s'effectuent à l'abri de l'air, en milieu réducteur, le carbone organique, après dégradation, se retrouve sous forme de CO₂, méthane et biomasse. Ce type de traitement appelé «digestion anaérobie » n'est utilisé que pour des effluents très concentrés en pollution carbonées, de type industriel (basserie, sucrerie, conserverie ...) [65].

Dans ce traitement l'oxygène n'est présent que dans les couches supérieures et dans laquelle, seule, une partie des M.E.S. est maintenue en suspension [64].

II-3-3 Lits bactériens aérobie

Si l'oxygène est associé aux réactions. Cette voie est celle qui s'instaure spontanément dans les eaux suffisamment aérées, le carbone organique se retrouve sous forme de CO₂ et de biomasse [65].

Dans ce traitement l'oxygène et les M.E.S. sont uniformément répartis dans tout le bassin [64].

II-3-4 Les disques biologiques

Les biodisques sont des bioréacteurs dans lesquels des disques fixés sur un axe horizontal sont mis en rotation à vitesse lente. Sur ces biodisques se développe un biofilm bactérien. Lors de leur émergence, ces bactéries respirent dans l'air l'oxygène nécessaire à leur survie, tandis que pendant leur immersion dans les eaux usées, elles absorbent comme nourriture la pollution dissoute dans les eaux usées (Figure3). Avec le temps, le biofilm grossit et vieillit, puis finit par se détacher sous forme de flocons de boues des disques rotatifs. Ces résidus de boues biologiques sont entraînés vers un décanteur secondaire, où s'opère alors leur séparation avec les eaux épurées. Les boues biologiques sont généralement recyclées par pompage vers un digesteur pour y être minéralisées [62].

II-4 Le traitement tertiaire

Ce traitement est à la fois physico-chimique et biologique. On les réalise après les traitements primaires et secondaires afin d'éliminer des éléments nutritifs résiduels, des

polluants organiques résistants, des métaux et des pigments. Par exemple, on peut utiliser des traitements biologiques avancés pour éliminer le phosphore par le Déplacement Nutritif Biologique (DNF). On fait passer l'eau par différents réservoirs avec des bactéries et dans des conditions environnementales différentes (différence de concentration en dioxygène par exemple).

On récupère ensuite les boues lors d'un nouveau passage dans un clarificateur [66].

II-5 La désinfection

La désinfection a pour but de détruire tous les organismes nocifs qui sont présents dans l'eau pour la rendre propre à la consommation [67].

Elle consiste à détruire le microorganisme pathogènes encore présent dans l'eau après la filtration. Plusieurs substances chimiques peuvent être utilisées comme désinfectant. Le chlore est employé sous formes de solutions Hypochlorite de calcium Ca_2Cl ou de sodium (Na Cl). Il peut aussi être utilisé sous forme gazeux [68].

Il existe actuellement quatre méthodes courantes pour la désinfection de l'eau : la chloration de l'eau, l'ozonation, la stérilisation par les rayons U.V, la microfiltration

II-5-1 la chloration de l'eau

La désinfection par le chlore est la plus utilisée car moins coûteuse et plus facile à mettre en application. En effet, le chlore et ses composés (exemple l'hypochlorite de calcium) sont bons marchés et faciles à obtenir. Il faut noter que son pouvoir rémanent fait de lui un produit très conseillé pour la désinfection de l'eau. Ses désavantages sont : il donne un goût caractéristique à l'eau, certains de ses dérivés [69].

II-5-2 l'ozonation

Le traitement de l'eau avec l'ozone est un procédé automatique qui permet de détruire les matières organiques, les bactéries, les germes et les virus. L'ozone désinfecte, améliore la couleur, le goût et l'odeur de l'eau. Il se décompose facilement en oxygène sans laisser de produits dérivés dans l'eau comme le chlore. Il y a moins de produits chimiques qui agressent les yeux, la peau ou les cheveux. L'ozone étant très instable, il faut donc le préparer au fur et à

mesure des besoins.

Ses désavantages sont : sa production consomme de l'énergie, son utilisation est assez complexe et demande un investissement de départ très important, il ne possède pas de pouvoir rémanent [69].

II-5-3 la stérilisation par les rayons U.V

Le traitement par rayons ultraviolets utilise des lampes à mercure disposées parallèlement ou perpendiculairement au flux d'eau. Leur rayonnement s'attaque directement aux microorganismes.

Ce traitement est très simple à mettre en œuvre, car il n'y a ni stockage, ni manipulation de substances chimiques et les caractéristiques chimiques de l'effluent ne sont pas modifiées. La durée d'exposition nécessaire est très courte (20 à 30 s) [69].

II-5-4 La microfiltration

Les micros filtres utilisés ont des pores suffisamment petits (0,2 micromètre) pour arrêter les bactéries présentes dans l'eau. Le système est très simple et les bactéries sont enlevées de l'eau et pas seulement inactivées. Mais c'est un système coûteux à l'utilisation car il faut renouveler régulièrement les cartouches filtrantes, il n'y a aucun effet sur les virus et n'a pas de pouvoir rémanent [69].

III- Contrôle de qualité d'eau

Les analyses s'effectuent aux différents points critiques des chaînes de traitement dans le but de vérifier l'efficacité des traitements et d'apporter les mesures et actions correctives en cas de non-conformité [70].

VI -Les normes de la potabilité d'eau

Une eau potable peut être définie comme une eau qui, lorsqu'elle est bue de façon permanente, ne présente aucun risque pour la santé. Et ceci lorsqu'elle respecte les normes de potabilité. Les normes de qualité de l'eau potable sont très rigoureuses. Elles s'appuient en général sur les travaux médicaux établissant les doses Maximales Admissibles (DMA), c'est-à-dire la quantité de telle ou telle substance qu'un individu peut absorber sans danger

quotidiennement tout au long de sa vie. La qualité bactériologique doit être assurée en toutes circonstances et faire l'objet d'une surveillance très stricte [69].

L'eau ne doit contenir ni parasite, ni virus, ni bactérie pathogène. La qualité microbiologique est évaluée lors des contrôles analytiques réglementaires, par la recherche de bactéries, principalement des germes témoins de contamination fécale.

Il est indispensable de toujours contrôler la qualité de l'eau après son traitement et avant sa consommation parce que ce dernier peut être défaillant ou que la qualité de l'eau peut s'altérer avant son arrivée au robinet du consommateur [69]



CHAPITRE VI

MATERIELS ET METHODES.

I –Matériels et méthodes

I-1 Présentation des stations de prélèvements

La wilaya de Mila est située à l'Est algérien, à 400 Km de la capitale Alger. Elle s'étend sur une superficie de 3407 ,60 Km². Elle est limitée au nord par la wilaya de Jijel et Skikda, à l'Est par la wilaya de Constantine, à l'Ouest par la wilaya de Sétif et au Sud par la wilaya de Batna et d'Oum El Bouaghi [71].

Les stations de prélèvements sont des trois écoles moyens qui sont situés dans la daïra de Chelghoum Laid à la wilaya de Mila.

La première CEM est nommée Mouhamad El Aid El khalifa.

La deuxième est nommée Ahmed Toufik El Madani

La troisième est nommée Maarakatlabarna.

Nous avons effectué trois prélèvements durant les examens de fin d'étude moyen « BEM » correspondant aux dates suivantes :

- premier prélèvement : 24/04/2016
- deuxième prélèvement : 01/05/2016
- troisième prélèvement : 08/05/2016

I-2Présentation de laboratoire d'analyse

Laboratoire d'analyse nommé laboratoire d'hygiène situé dans la daïra de chelghoume Laid la wilaya de Mila.

I-3 Méthodologie d'analyse

Les analyses doivent être faites le plus tôt possible après le prélèvement pour permettre d'avoir des résultats représentatifs.

I-4 Analyses microbiologique

I-4-1 Matériels utilisés (voir Annexe).

I-4-2 Prélèvement et transport des échantillons

Les échantillons doivent toujours être prélevés avec toutes les conditions d'asepsie nécessaires dans des contenants stériles de verre ou de polypropylène à large ouverture, de capacité d'environ 250 ml, en laissant un espace d'air d'au moins 2,5 cm.

Par ailleurs, une étude réalisée dans laboratoires sur les eaux de consommation a permis d'établir que le délai maximal admissible pour l'analyse était de 48 heures après le prélèvement et que l'échantillon doit être protégé contre les effets de la température à l'aide d'un isolant thermique ou être réfrigéré pendant le transport.

À leur réception au laboratoire, les échantillons qui ne sont pas analysés dans les 4 heures qui suivent leur arrivée doivent être placés au réfrigérateur jusqu'au moment de leur analyse.

Les échantillons reçus congelés dans des contenants non conformes ou selon des délais de prélèvement inacceptables (> 48 heures), ne doivent pas être analysés [72].

I-4-3 Préparation des dilutions décimales

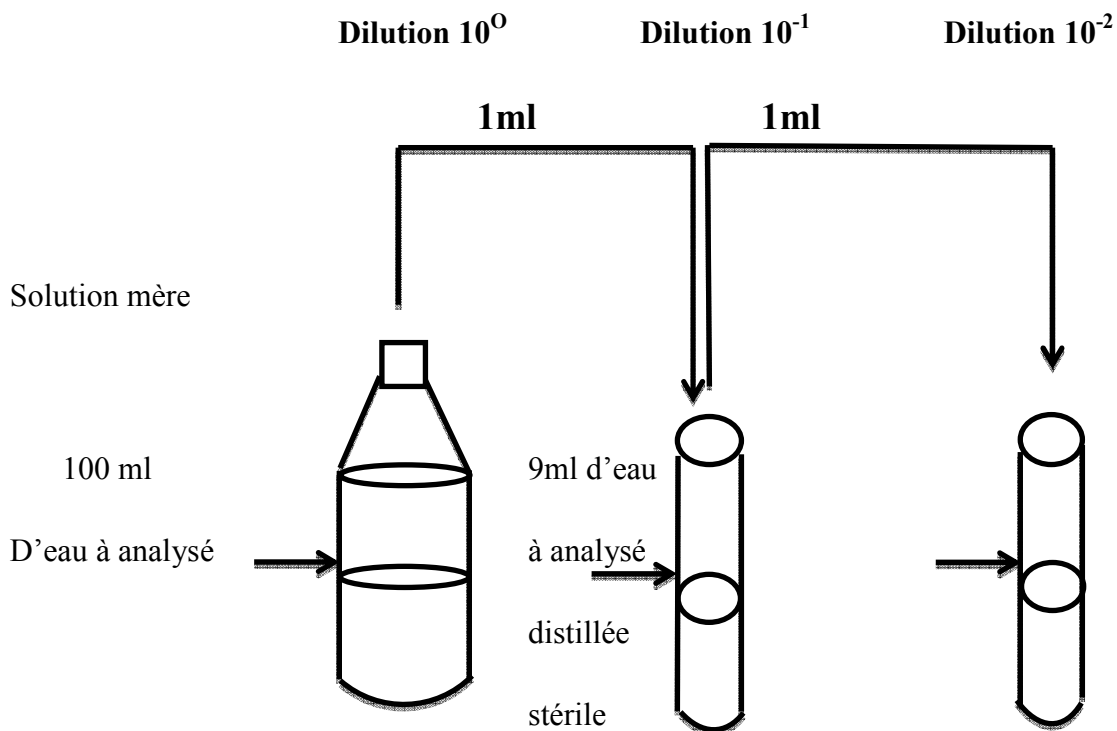


Figure 09 : préparation des dilutions.

Conformément aux normes AFNOR NF VO8-010 et ISO 6887-1, on effectue des dilutions décimales pour chaque échantillon à l'aide d'eau distillée stérile; ou tampon phosphate. Elles doivent être effectuées dans des conditions aseptiques et minutieuses. Les dilutions suivent des séries logarithmiques dont les termes sont en progression géométriques : 0.1 ; 0.01 ; 0.001 ;...etc.

***Les dilutions :**

- ✓ Dilution 10^0 : consiste à la prise directe de la solution mère.
- ✓ Dilution 10^{-1} : dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1ml d'eau à analyser (10^0).
- ✓ Dilution 10^{-2} : Dans un deuxième tube à essai, on ajoute 1ml de la dilution 10^{-1} à 9ml d'eau distillée stérile

NB : l'agitation du contenu est nécessaire avant de préparer chaque dilution [73].

I-4-4 Recherche et dénombrement des coliformes :

La colimétrie comporte deux tests:

- ❖ Un test présomptif.
- ❖ Un test confirmatif. Le dénombrement est effectué suivant la méthode du nombre le plus probable (NPP) de la table de Mac Grady .

Les méthodes de colimétrie actuelles nécessitent un délai excessif dans la plupart des cas (48 ou 72 heures), car elles recourent à la pratique du test présomptif (coliformes totaux) et du test confirmatif (coliformes fécaux) [74].

Il consiste à utiliser des milieux liquides de bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB), dans des tubes munis de cloches de Durham. La présence des germes recherchés se traduit par :

- Un virage de couleur dans toute la masse liquide.
- Un dégagement de gaz dans les cloches

Les dénombrements sur milieu liquide ont été effectués par la méthode de Mac Grady (méthode de dénombrement par détermination du nombre le plus probable (NPP)) .

I-4-4-1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants et recherche d'*Escherichia coli* :

➤ Test présomptif: Recherche et dénombrement des coliformes totaux:

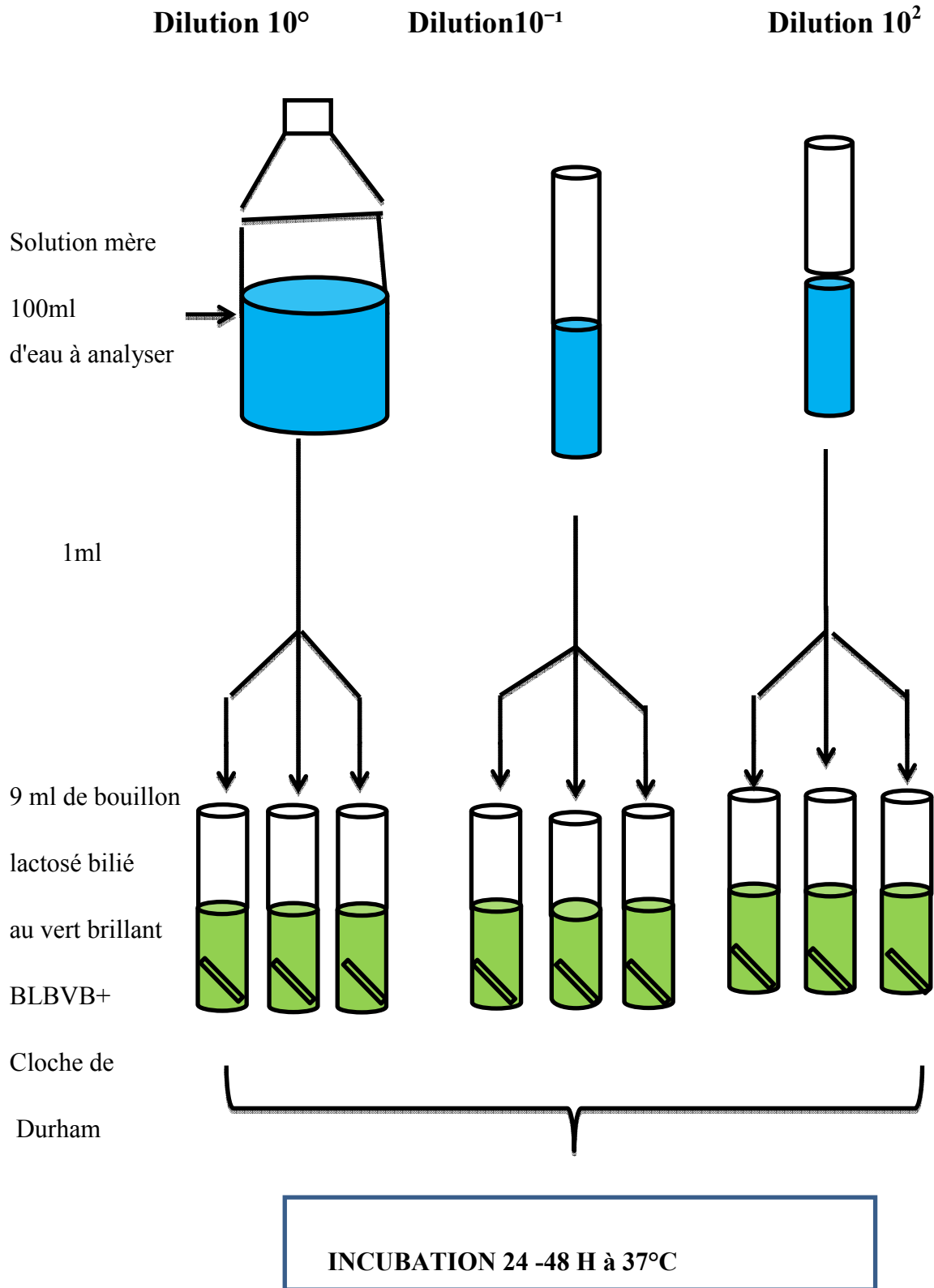


Figure10 : Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux (Test présomptif).

On prépare 3 séries de 3 tubes chacun contenant 9 ml de bouillon lactose bilié au vert brillant simple concentration, munis de cloches de Durham. Chacun des 3 tubes de la première série reçoit 1 ml de la dilution 10^0 (solution mère). Les tubes de la deuxième et troisième série reçoivent respectivement 1 ml de la dilution 10^{-1} et 1 ml de la dilution 10^{-2} . Nous agitons pour homogénéiser, sans faire pénétrer l'air dans la cloche de Durham. L'ensemble des tubes ainsi préparé² est incubé à 37° C pendant 24 à 48 h (fig.09).

❖ **Remarque** : cette phase de la colimétrie se base sur la propriété commune des Coliformes à fermenter le lactose tout en produisant du gaz ; elle ne permet que de présumer de la présence des coliformes dans l'eau à analyser. De ce fait, l'application du test confirmatif s'impose.

✓ **Lecture** :

On considère comme un tube positif les tubes qui présentent un virage de couleur ainsi qu'un dégagement de gaz dans la cloche de Durham.

➤ **Test confirmatif : Identification des Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli*)**

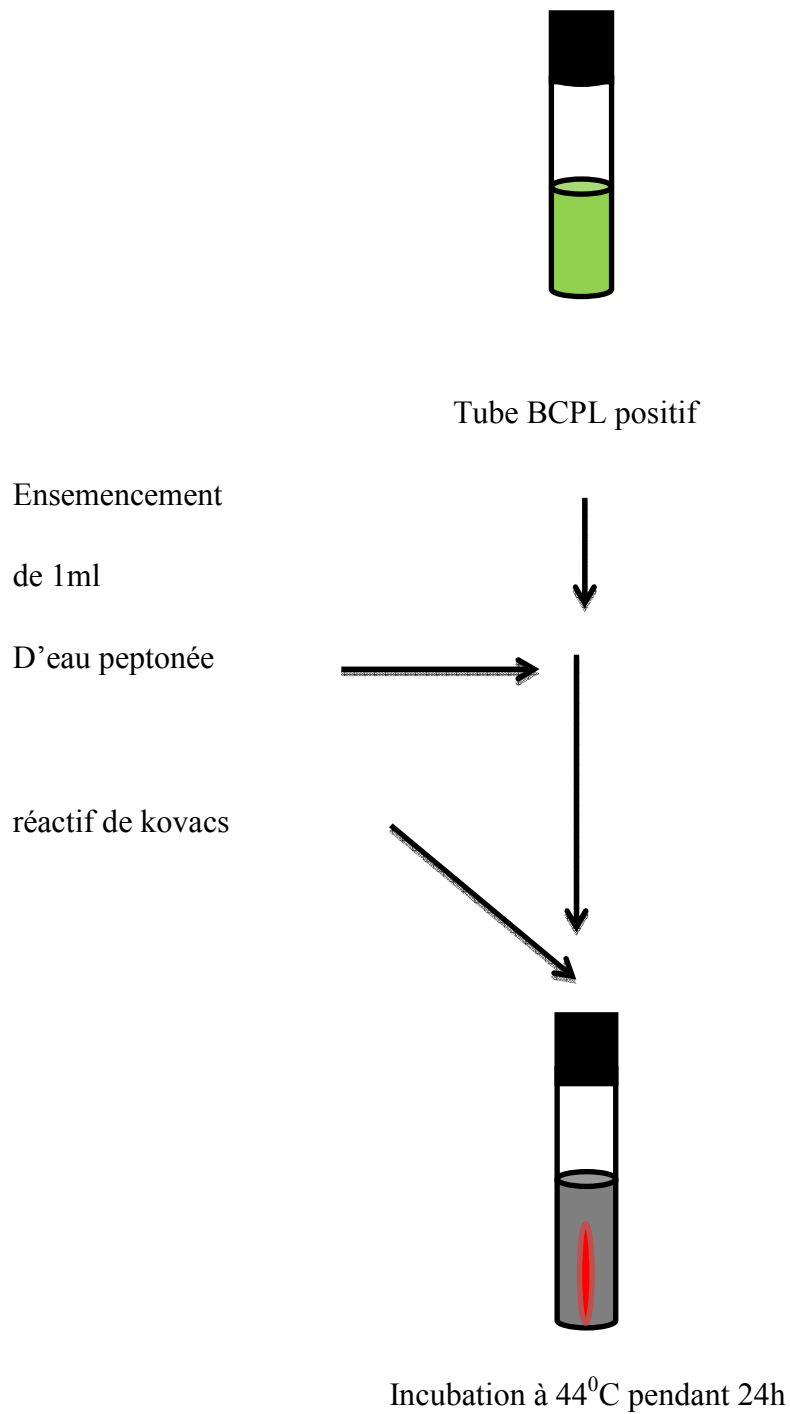


Figure 11 : recherche et dénombrement des coliformes fécaux.

Les tubes positifs présentent un virage de couleur ainsi qu'un dégagement de gaz dans la cloche de Durham ; ces derniers sont réensemencés dans des tubes d'eau peptonée exempte d'indole (épreuve Deikman). Pour cela nous prélevons 2 à 3 gouttes que nous rajoutons dans des tubes contenant de l'eau peptonée exempte d'indole. Les tubes sont refermés et incubés à 44° C pendant 24 à 48 h (fig11.).

✓ **Lecture :**

- Formation d'anneau rouge à la surface des tubes d'eau péptonée après addition de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs témoignant de la production d'indole par *E.coli*, suite à la dégradation du Tryptophane grâce à la Tryptophanase. - Production de gaz dans les cloches des tubes de Durham.

* Nous notons le nombre de tubes positifs et nous exprimons le nombre le plus probable de germes dans 100 ml d'échantillon d'eau, selon la table de Mac Grady.

I-4-4-2 Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :

Le principe se résume à la recherche et au dénombrement des Streptocoques du groupe D en milieu liquide. Alors que les tubes primaires contiennent déjà une certaine quantité d'azide de sodium (milieu de Rothe), le repiquage des tubes positifs se fait sur un milieu nettement inhibiteur avec une concentration plus élevée en azide de sodium et de cristaux violets (milieu Litsky), ne laissant se développer que les Streptocoques ou Entérocoques.

▪ Test présomptif : Recherche et dénombrement des *Streptocoques totaux* :

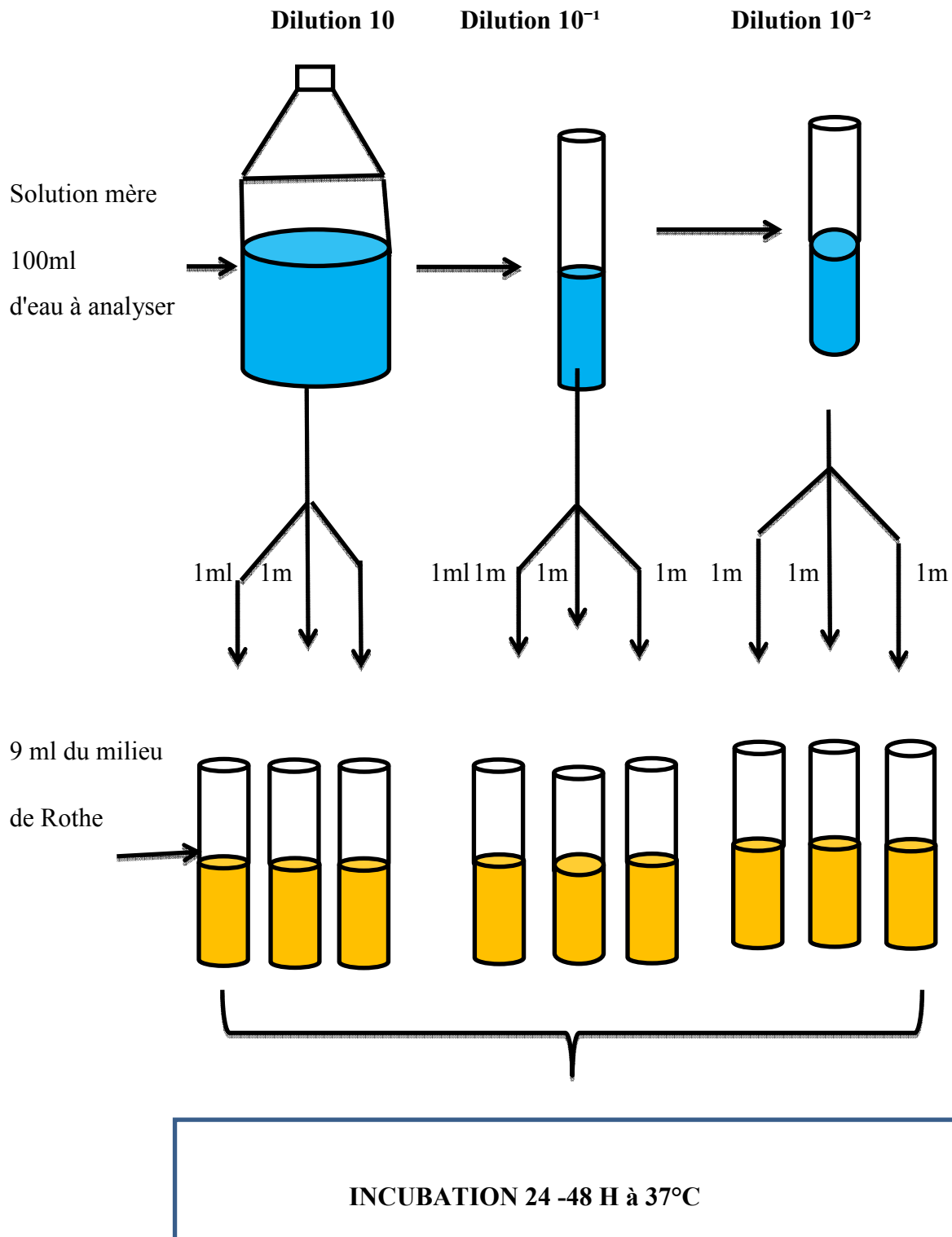


Figure 12 : Recherche et dénombrement des *Streptocoques totaux* dans l'eau (Test présomptif).

On prépare 3 séries de 3 tubes contenant chacun 9 ml de milieu Rothe (simple concentration). Dans la première série de tubes nous rajoutons 1ml de la solution mère (10^0). On réalise la même opération avec les 2 autres séries en ajoutant aux 3 premiers 1 ml de la dilution 10^{-1} et aux 3 autres 1 ml de la dilution 10^{-2} , l'ensemble des tubes ainsi préparés sont incubés à 37° C pendant 24 à 48 h (fig.12).

✓ **Lecture :**

Les tubes présentant un trouble bactérien sont considérés comme positifs.

- **Test confirmatif: Identification des Streptocoques du groupe sérologique D .**

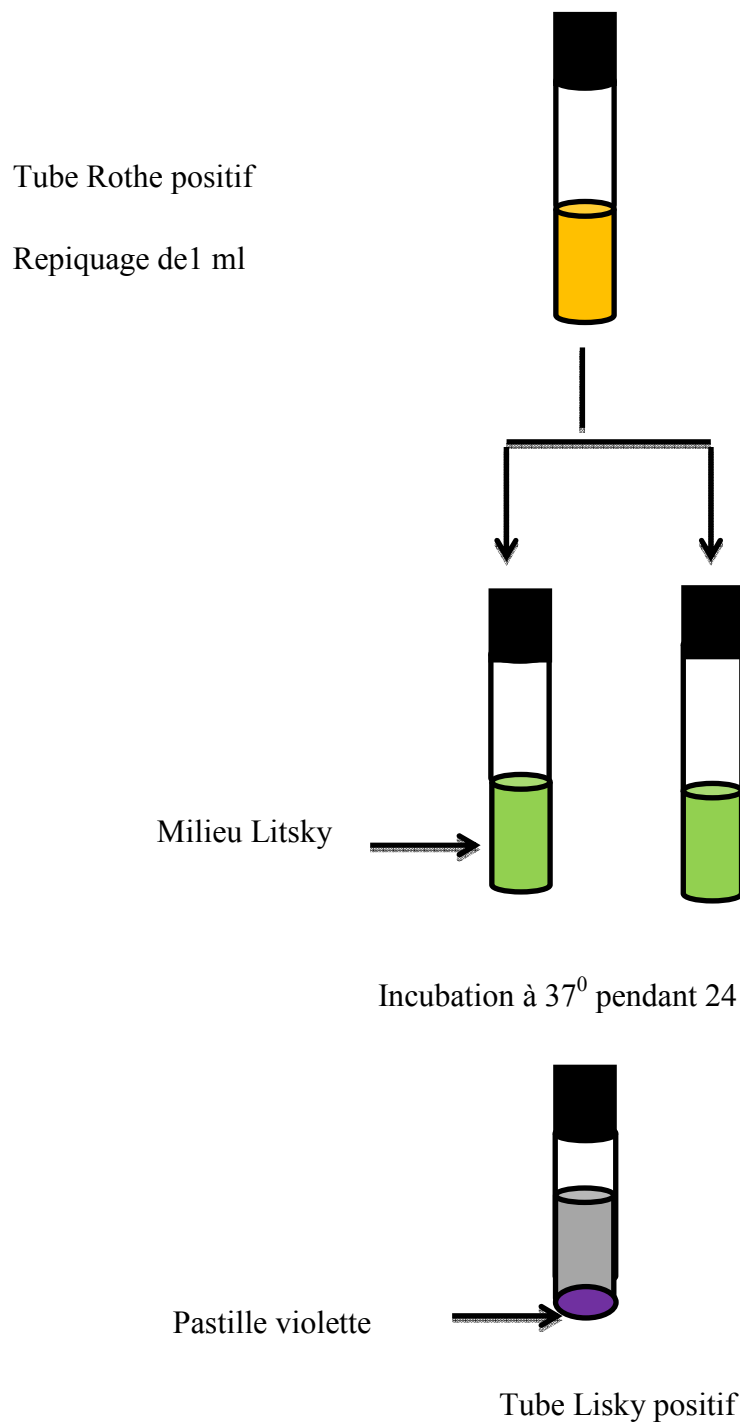
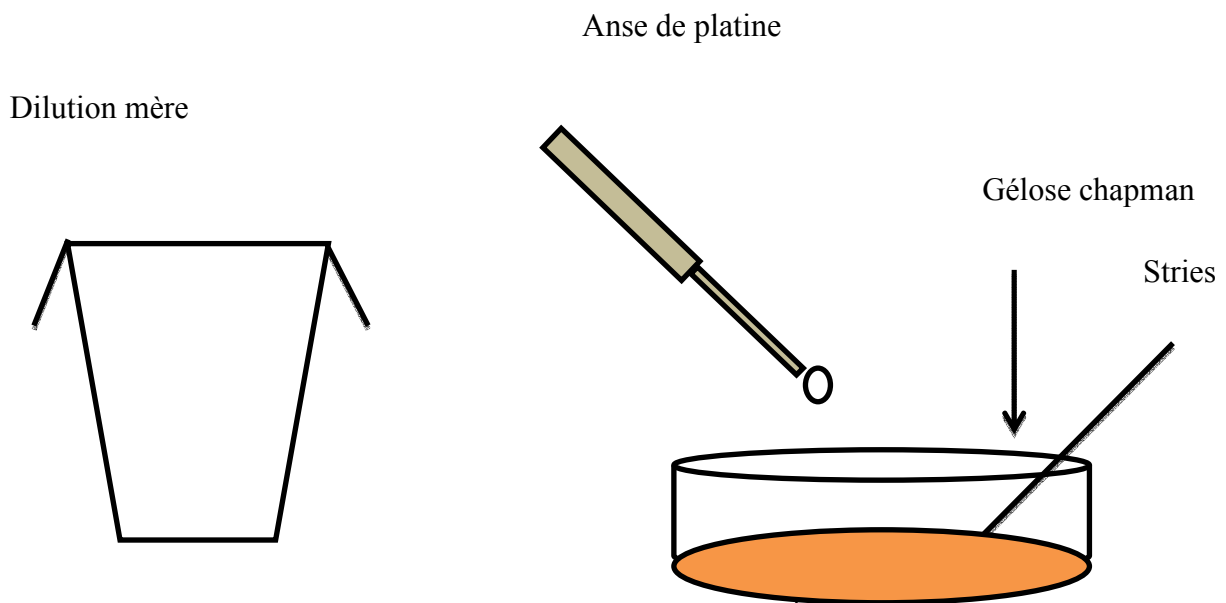


Figure 13 : Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau (Test confirmatif)

Nous prélevons 2 à 3 gouttes de chaque tube positif présentant un trouble bactérien, que nous repiquons dans des tubes contenant 9 ml de milieu Litsky. Par la suite les tubes sont incubés à 37° C pendant 24 à 48h (fig. 13).

✓ **Lecture :**

Nous considérons comme positifs les tubes dans lesquels il y a apparition d'un trouble bactérien qui confirme la présence des streptocoques fécaux; parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble bactérien.

I-4-4-3 Recherche et dénombrement des Staphylocoques

Incuber 24 à 44h \pm 4h à 36 \pm 2°C Couvercle en bas.

Figure 14 : Recherche des Staphylocoques pathogènes.

Le milieu Chapman est un milieu classique, il permet d'une part l'isolement sélectif des staphylocoques sur la base de leur tolérance à de fortes teneurs de NaCl, et d'autre part à la différenciation de souche *Staphylococcus aureus*, par la mise en évidence de la dégradation du mannitol.

Le milieu Chapman doit être considéré essentiellement comme milieu d'isolement.

Prélever un volume précis de 0,1 ml à l'aide de la pipette graduée de 1 ml stérile, puis déposer ce volume au centre de la gélose Chapman. Étaler à l'aide d'une pipette râteau, d'un étaleur plastique, ou de bille de verre le volume sur toute la gélose. Attention à ne pas trop étaler pendant le volume sur la paroi de la boîte ce qui gênera pour la suite des analyse au dénombrement des UFC.

✓ **Lecture :**

Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus aureus* s'entourent d'un halo jaune du à l'attaque du mannitol et élaborent souvent leur propre pigment dont la production s'accroît après la sortie de l'étuve. Les autres espèces de *Staphylococcus* donnent des colonies généralement plus petites, rosées et n'entraînant pas de virage du milieu. Le milieu Chapman permet la sélection des *staphylocoques* et une orientation pour l'identification de *Staphylococcus aureus*, mais il ne s'agit que d'un test de présomption et une confirmation par des tests plus spécifiques (coagulase, DNase, ...etc.) reste obligatoire. D'autres bactéries, *Streptococcus D*, *Bacillus*, peuvent se développer sur ce milieu.



Résultats

Et Discussion

I-Résultats microbiologiques quantitatives

Les résultats sont présentés dans le tableau et les courbes suivants :

Tableau 07 : Les résultats d'analyses microbiologiques

Station	Coliformes totaux (cellules /100ml)	Coliformes fécaux (cellules /100ml)	Streptocoques fécaux (cellules /100ml)	Staphylocoques
Prélèvement 1 (24/04/2016)				
1	07	03	2400	+
2	75	2400	93	+
3	0	0	0	-
Prélèvement 2 (01/05/2016)				
1	07	0	210	-
2	0	93	23	+
3	0	0	0	-
Prélèvement 3 (08/05/2016)				
1	0	0	0	-
2	0	0	0	-
3	0	0	0	-

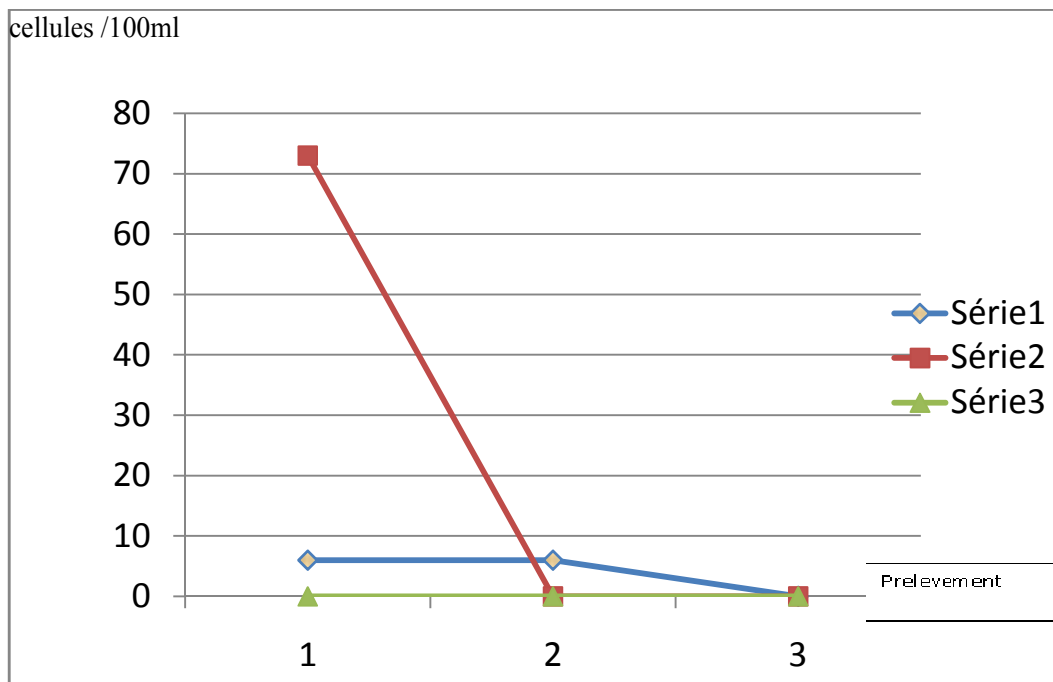


Figure 15 : Courbe d'évaluation de Coliformes totaux.

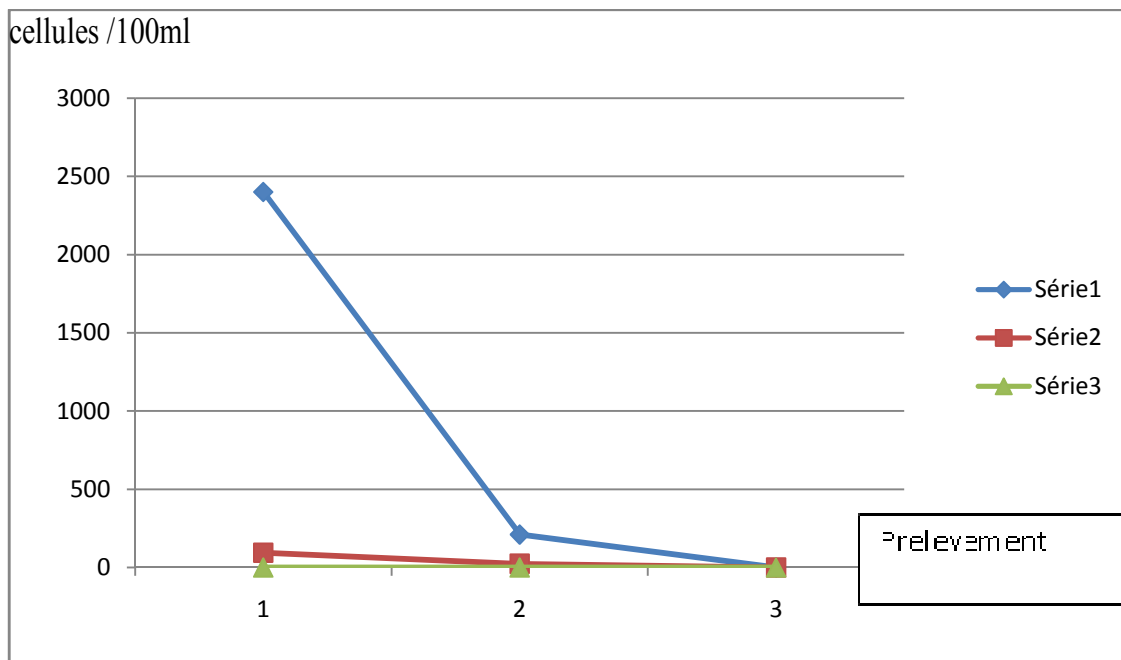


Figure 16 : Courbe d'évaluation de Streptocoques fécaux.

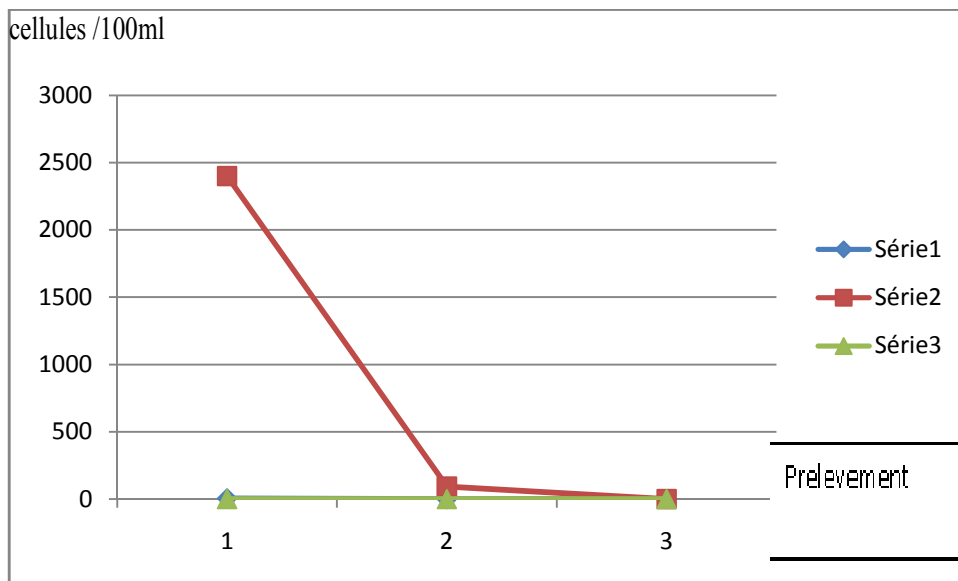


Figure17 : Courbe d'évaluation de Coliformes fécaux.

II- Interprétation des résultats et discussion

❖ Les coliformes totaux

Les résultats de la station 1 varient de 0 à 7 cellule /100 ml, nous enregistrons des valeurs de 07 cellule /100 ml qui est une faible valeur par rapport aux 2 aux 2 autre stations. Cette valeur en Coliformes totaux est inférieur aux valeurs guides « <10 germes/100ml ».

Mais après traitement au l'eau de javel en note l'absence des coliformes après le 3eme prélèvement.

En notant l'absence totale de ces coliformes durant le troisième prélèvement.

Les résultats de la station 2 varient de 0 à 73 cellule /100 ml ; les résultats de la station 2 variaient de 0 a 73 confirment une contamination fécale de cette station.

L'adition de l'eau de javel a éliminé tout les coliformes malgré la quantité élevé pressante dans cette station.

Toutefois une absence de coliformes totaux a été enregistrée dans la station 3.

❖ Les coliformes fécaux

En notant des valeurs de coliformes fécaux plus élevé ; ces valeurs ont dépassé largement les valeurs de guides(0) ce qui nécessite l'ajout de l'eau de javel avec des concentrations plus élevées.

❖ Les streptocoques fécaux

Pour les streptocoques fécaux les valeurs marquées varient de 210 à 2400 cellule /100ml pour la station 1 ; et de 23 à 93 cellule /100ml pour la station 2.

Une absence de streptocoques fécaux a été enregistrée dans la station 3.

Ces valeurs sont supérieures aux valeurs guides (0germes/100ml), dans les stations 1 et 2 pendant les deux premiers prélèvements.

❖ Les staphylocoques

Les staphylocoques sont présents au niveau de station 1 et 2 durant le premier prélèvement ; ce germe reste présent dans la station 2 durant le deuxième prélèvement et absent à la station 1 ; en notant l'absence totale de staphylocoque durant le troisième prélèvement dans les deux stations.

On ce qui concerne la station 3 une absence totale de staphylocoque durant les 3 prélèvements

- En notant l'hygiène complète de la station 03 au différents germes pathogènes durant les trois prélèvements, ce qui reflète la potabilité d'eau de cette station.
- Contrairement à la station 3 l'eau des stations 1 et 2 est contaminée lors de premier et deuxième prélèvement mais lorsque les stations sont traitées par l'eau de javel nous avons noté une potabilité de ces eaux pendant les 3 prélèvements.

Conclusion

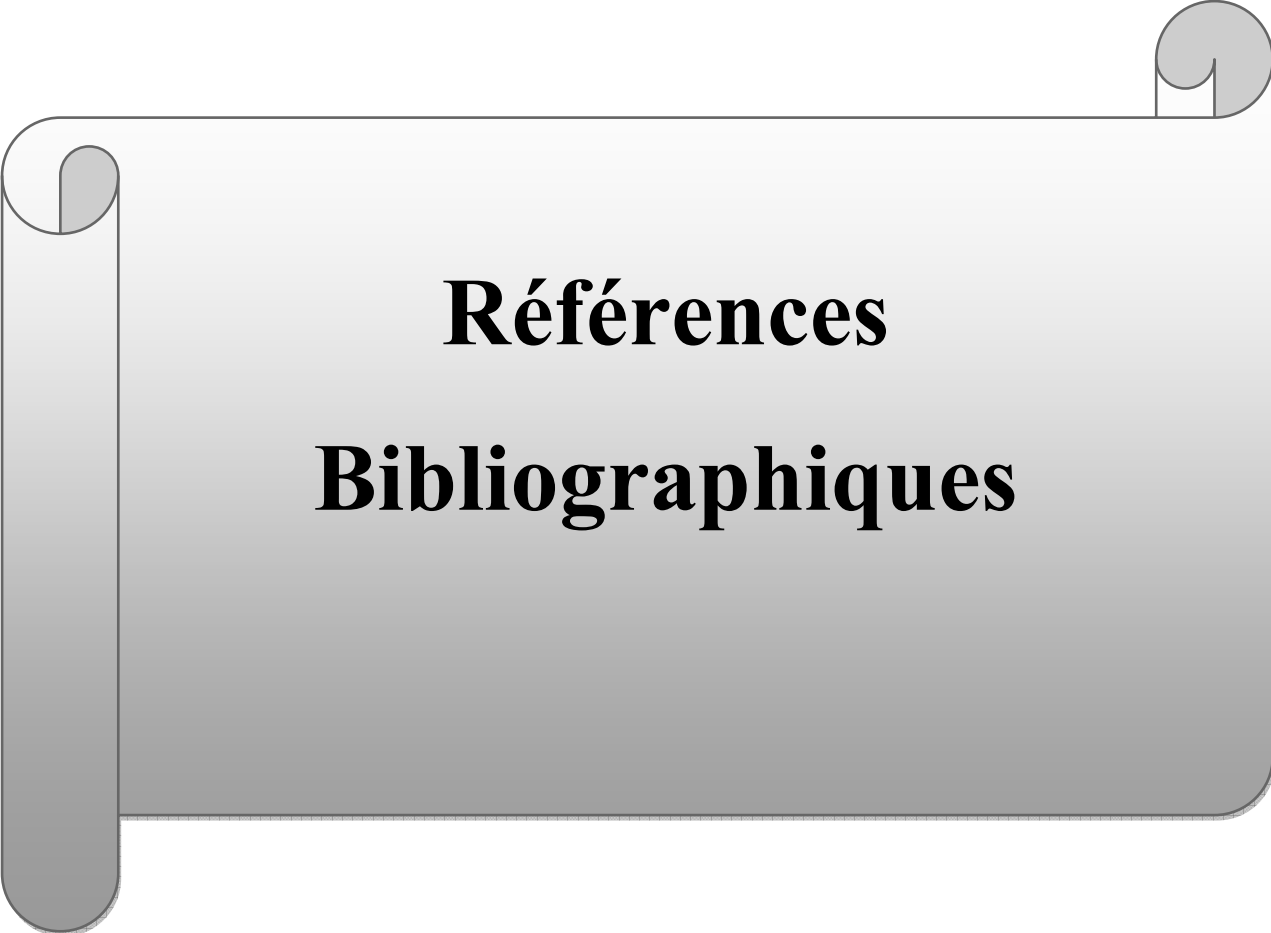
Pour conclure ce travail, il convient de rappeler que l'objectif principal de ce travail est de déterminer la pollution bactérienne des eaux et d'identifier les bactéries pathogènes dans l'eau polluée.

L'eau de 3 stations déferents a été traité la station 3 a montré une potabilité par l'absence de tous les germes cherché

Tant disque les stations 1 et 2 ont montré une contamination par les coliformes, les streptocoques et les staphylocoques durant le 1^{er} et la 2^{em} prélèvement

Le traitement par l'eau de javel avec des quantités et des concentrations adéquates a conduit à l'élimination des germes en question ce qui a été prouvé par une potabilité des eaux après le 3eme prélèvement.

Dans ce cadre, toutes les mesures possibles doivent être mise en œuvre pour réduire les effets anthropiques notamment les déversements des eaux usées ou autre eaux chargées en microorganismes dans cet écosystème. Par ailleurs, la mise en service de la station d'épuration des eaux usées devrait réduire d'une manière considérable la contamination et contribuera à rendre conforme aux normes de rejets dans le milieu récepteur.



Références
Bibliographiques

Les références :

[01] Nathalie Gadin-Goyon 2002. Qualité bactériologique de l'eau et l'impact en élevage bovin laitier université claud bernard-lyon 1.

[02] Chérif Ibrahima Khalil Diop2006. Etude de la qualité microbiologique des eaux de boisson conditionnées en sachet et vendues sur la voie publique dans la région de dakar. Université cheikh antadiop de dakar. Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales.

[03] Anie Bras 2005. Evaluation des risques sanitaires des ookystes de Cryptosporidium dans l'eau destinée à la consommation humaine distribuée dans la zone métropolitaine de Port-au-Prince, Haïti. Université de Quisqueya.

[04] Module 5. Gestion de l'eau dans le processus de préparation et de vente des aliments de rue p 84.

[05] Mohamed Ben Ali Rim 2014. Evaluation de la pollution des eaux issue de la zone industrielle de Skikda. Thèse de magister en Ecologie et Environnement.

[06] Abdessamad Dris 2005. L'eau matière stratégique et enjeu de sécurité au 21ème siècle Université Paris 10.

[07] Ouafae El Hachemi 2012 .Traitement des eaux usées par lagunage naturel en milieu désertique (oasis de figuig) : performances épuratoires et aspect phytoplanctonique. Université Mohammed Premier Faculté des Sciences Oujda.

[08] Mme Mechai Née Debazza Manel 2005. Analyse microbiologique des eaux des plages de la ville d'Annaba.Université Badji-Mokhtar- Annaba. Thèse de Magister.

[09] Abdessamad Dris2005. L'eau matière stratégique et enjeu de sécurité au 21ème siècle Université Paris 10 - DEA Sciences Politiques.

[10] Pierre Servais 2009.La contamination microbienne dans le bassin de la Seine p 7-8 Numéro ISBN : 978-2-918251-08-8.

- [11] Ana Aguilar-Galvez ; Robin Dubois-Dauphin et all 2011. Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie 16(1), P:67-76.
- [12] Walid & Yacine Bougattoucha&Boudelaa 2010.L'examen cytobactériologique des urines .Ecole de formation paramédicale de Skikda Algérie - Laborantin diplômé d'état.
- [13] Maja Weisser, Andreas F. Widmer 2012 .Entérocoques multirésistants 12(42). P : 805.
- [14] Mohamed Salim Hamdi et Malik Ait Kaci Ismal 2008. Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques et bactériologiques de l'embouchure de l'oued Béni-Messous DEUA sciences de la mer.
- [15] Cindy-Love Tremblay 2012. Étude de la résistance aux antibiotiques des entérocoques d'origine animale du Québec .Université de Montréal. Thèse de doctorat.
- [16] D.Descamps 2009. Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG).
- [17] M. Laurent Hebert 2008. Etude de la résistance au lysozyme chez *Enterococcus faecalis*. Université de caen. P:16 – 20.
- [18] PM Giridhara Upadhyaya, KL Ravikumar, BL Umapathy 2009. Review of virulence factors of enterococcus: an emerging nosocomial pathogen doi: 10.4103/0255-0857.55437. Vol: 27. P : 301-302.
- [19]Xiang Qin, Jessica R Galloway-Peña et all 2012 .Complete genome sequence of *Enterococcus faecium* strain TX16 and comparative genomic analysis of *Enterococcus faecium* genomes doi: 10.1186/1471-2180-12-135.
- [20] Guillermo D; Repizo1, Martín Esparizet all 2014. Genomic comparative analysis of the environmental enterococcus mundtii against enterococcal representative species P: 7-9.

[21] Dr Katia Stucki 2014. Infections à entérocoques : Du plus simple au plus complexe. P: 1920 .Rev Med Suisse 2014 ; 10 : 1918-23.

[22] Vincent Gendrin 2006. Efficacité d'une décolonisation digestive par streptomycine per os chez les patients porteurs d'entérocoques résistants à la vancomycine au niveau digestif. Université henripoincarenancy 1.P : 4-7.

[23] Souhila Boubrit et Nafaa Boussad 2007. Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou - Ingéniorat d'état en biologie.

[24] Pr Jean-Philippe Lavigne – DFGMS2 ‘Infectieux’.

<http://science.howstuffworks.com/environmental/life/cellular-microscopic/cell1.htm>

[25] <http://www.about-ecoli.com>

[26] Olivier Tenaillon, David Skurnik, Bertrand Picard and Erick Denamur. Mars 2010. The population genetics of commensal Escherichia coli ; Vol 8; P:207.

[27] P.Mariani-Kurkdjian ; E-Bingen. 2012 Physiopathologie et virulence d Escherichia coli producteur de shiga toxine ; P279.

[28] Hubert Brugère et al. E.coli producteurs de shigatoxines (STEC) ; P 23-28.

[29] Mainil J 2003. Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli P : 106-113.Vol :147.

[30] Alpha Amadou Diallo 2013. Escherichia colipathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale. Thèse En vue de l'obtention du doctorat de l'université de toulouse ; P : 29.

- [31] Estelle, Marion Kern-Benaibout 2006. *Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'homme. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- [32] Frederick R. Blattner et al. 5 septembre 1997. The Complete Genome Sequence of *Escherichia coli* K-12 P: 1453; Vol:277.
- [33] David Ussery, Thomas Schou Larsen et al 2000 .Génome organization and chromatin structure in *Escherichia coli*; P:205-206.
- [34] Estelle Loukiadis 2007. Facteurs de virulence et dissémination dans l'environnement *via* les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC). Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université toulouse III.
- [35] Vounba Passoret 2012 .Prévalence des gènes de virulence et d'antibiorésistance des *Escherichia coli* dans les fermes de poulets de chair de la zone péri-urbaine de Dakar. Université cheikh antadiop de dakar mémoire de diplôme de master p :05 .
- [36] Drs Evangelia Tzika, Donato Ferrara Et al 2015. Surinfection de plaie chronique par *Pseudomonas aeruginosa*; P: 770 .
- [37] Gracia Morales , Lutz Wiehlmann et al 2004. Structure de *Pseudomonas aeruginosa* populations analysées par Single Nucléotide Polymorphisme et en champ pulsé Electrophorèses génotypes ; P : 4228 à 4237. V:186 (13).
- [38] Dr C. Cattoen – Valenciennes 2009. Epidémiologie des infections à *Pseudomonas*.
- [39] María-Victoria, Grosso-Becerra, Christian Santos-Medellí et al 2014. *Pseudomonas aeruginosa* clinical and environmental isolates constitute a single population with high phenotypic diversity doi: 10.1186/1471-2164-15-318.
- [40] Benoît Valot, Christophe Guyeux and al 2015 .What It Takes to Be a *Pseudomonas aeruginosa*. The Core Genome of the Opportunistic Pathogen Updated 2015; 10(5): e0126468.

<http://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0126468>.

[41] CK Stover, XQ Pham et all 2000. Nature 406, Séquence complète du génome de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, un pathogène opportunist ; P : 959-964 doi: 10.1038 / 35023079.

[42] Raymond Ruimy 2002. Pathogénicité de *pseudomonas aeruginosa*. En dehors de la mucoviscidose; vol : 139. P : 15-21.

[43] Docteur Levent Mars 2007. Unité Opérationnelle d'Hygiène Hospitalière-Référent en antibiothérapie.

[44] Danielle Clave 2011. Fiche technique : *Pseudomonas aeruginosa* .Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse P 1.

[45] M.strobel, B. Martinez aussel, nov.2003. Infection et sepsis à staphylocoque .P : 10.

[46] Konrad Plata, Adriana E. Rosato and Grzegorz Węgrzyn 2009 . *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity; P : 597. Vol:56.

[47] Dr christophe constant chechomkammogne 2010. Profil bactériologique des infections en stomatologie et chirurgie maxillo-faciale UFR de sciences médicales-Abidjan-Côte d'Ivoire - mémoire.

[48] Amina Bendimerad 2010. Effet de la supplémentation en sélénim sur la réponse immune au cours de l'infection à sarm. Université Abou BekrBelkaid TLEMCEM - Master 2 en Biologie moléculaire option Microbiologie.

[49] H.F.L. Wertheim, Den Haag 2005 .Staphylococcus aureusinfections : Lead by the nose
Dissertation Erasmus University Rotterdam.

[50] Carmelo Bisognano ; Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur
l'adhérence à la fibronectine de Staphylococcus aureus : étude fonctionnelle et mécanismes
moléculaires. Université de Genève thèse de doctorat.

[51] Tadashi Baba, TaeokBae, and all 2007. Genome Sequence of Staphylococcus aureus
Strain Newman and Comparative Analysis of Staphylococcal Genomes: Polymorphism and
Evolution of Two Major Pathogenicity Islands;doi: 10.1128/JB.01000-07. P: 300–310.

[52] Kouï Alexandre Veh 2014. Validation de marqueurs de virulence de staphylococcus
aureus comme outils de pronostic de persistance intramammaire. Faculté des sciences
.Université de Sherbrooke; P : 9-13

[53] Claire Lays 2012. ARN régulateurs de Staphylococcus aureus .Thèse de l'université de
Lyon ; P : 29.

[54] Guillaume Vieu 2014. Diversité génétique des isolats de staphylococcus aureus
producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse .Thèse de doctorat ; P :
11-12.

[55] Geneviève Pelletier-Jacques 2012. Etude de la virulence et de la résistance aux
antibiotiques des staphylococcus aureus résistants à la méthicilline chez le porc à l'abattoir au
Québec .Université de Montréal
P : 11.

[57] Cécile Trotot-Voilliot 2012. Aspect clinique des infections cutanées à staphylocoques
Aureus sécrétant de la leucocidine de Panton-Valentine à propos de 15 cas université de
Lorraine .Thèse de doctorat ; P : 44.

[58] Pr. B. Jaulhac. Laboratoire de bactériologie Staphylocoques

[59] Pr Jean-Philippe Lavigne DFGMS2 'Infectieux 'Staphylocoques.

[60] Service de Bactériologie 2002 - 2003 Bactériologie Niveau DCEM1 Université Pierre et Marie Curie.

[61] Kadi Diafi 2010. Le niveau de contamination microbienne du couvoir et son influence sur la qualité du poussin dans la filière chair .Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger - Thèse de magistère.

[62] Ali Bettach 2013. Traitement des eaux usées domestiques par biodénitrification : effet du nitrate Université Chouaib Doukkali - Maroc - Licence

[63] Ben Abdelmoumene Naàma; Ahed Messaoud Leàla 2011. Contribution à la valorisation de boues de station d'épuration par l'appréciation d'une nouvelle méthodologie de l'essai au bleu méthylène Université des sciences et de la technologie d'Oran – Licence.

[64] Yahiatene Sofiane et Tahirim El Tiadj 2010. Réflexion sur la caractérisation physico-chimique des effluents liquides rejetés dans la grande sebkha d'Oran Université d'Oran - Licence bâtiment.

[65] Soror Wahiba Dekhil 2012. Traitement des eaux usées urbaines par boues activées au niveau de la ville de Bordj Bou Arreridj en Algérie effectué par la station d'épuration des eaux usées ONA. Université Mohamed El Bachir Elibrahimi - Master de chimie et microbiologie de l'eau.

[66] Solène Moulin; David Rozen-Rechels et all 2013. Traitement des eaux usées P3.

[67] Organisation mondiale de la Santé 2013. Traitement de l'eau de boisson au point d'utilisation dans les situations d'urgence ; P2.

[68] Freddy Shukuru Salumu 2010. Approvisionnement en eau dans la ville de Bukavu et son impact sur les maladies de mains sales. Université officielle de Bukavu - Licence en santé publique.

[69] Waris Kéwouyèmi Chouti 2007. Evaluation de la qualité des eaux des puits couverts munis de pompe dans la commune de Porto-Novo Université d'Abomey-Calavi (Institut de Mathématiques et de Sciences Physiques).

[70] Kouessi Joachim Dalohoun 2010. controle de la qualité des eaux dans les industries agro-alimentaires : cas de la Sobebra. Haute école de commerce et de management de Cotonou (HECM) - Licence professionnelle

[71] Mr Aissaoui Azzedine 2013. Evaluation du niveau de contamination des eaux de barrage hammam Grouz de la région de Oued Athmania (wilaya de mila) par les activités agricoles. Mémoire de magister en biologie ; P: 30.

[72] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec 2009. Méthodes de prélèvement de conservation et d'analyse des échantillons relatifs à l'évaluation de la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels ; P 11-13.

[73] Mme Dahel Zanat Amina-Tania 2009. Analyse de la qualité bactériologique des eaux du littoral Nord-Est algérien à travers un bioindicateur la moule *Perna perna*. Université badji-mokhtar, Annaba .Thèse de magister p: 17.

[74] Jean Mazieres, Brigitte Richard et Sylviane Mazieres 1980. Une méthode de recherche rapide
Des coliformes fécaux Dans les eaux de mer et les coquillages ; P : 289.

[75] Melle. Hafsa Tourab 2013. Contribution à l'étude de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux souterraines dans la plaine du Haouz. Mémoire de fin d'études. Licence des sciences et techniques « Eau et Environnement Université Cadi Ayyad.



Les Annexes

Annexe

1-Matériels utilisés

- Tubes à essai
- Portoir pour tubes à essai
- Pipettes pasteur
- Pipettes graduées
- Plaquons stériles pour échantillons
- Boîtes de pétri stériles
- Bec bunsen
- Anse de platine

2-Milieus de culture

❖ Bouillon Lactosé bilié au vert brillant / cloche (BLBVB)

1-Usage

Milieu de dénombrement des coliformes totaux (48 h à une température de 37°C).

2-Composition

- Peptone 10,0g
 - Lactose 10,0g
 - Bile déshydratée 20,0ml
 - Vert brillant 13,0 mg
- (pH = 7,4)

3-Préparation

40 g par litre d'eau distillée. Stérilisation classique.

4-Lecture

La cloche de Durham permet le recueil des gaz signant la présence de coliformes, à condition que le milieu ait été agité correctement pour que les bactéries soient bien réparties, y compris sous la cloche. Il est conseillé d'agiter légèrement le milieu plusieurs heures avant la lecture

pour favoriser le dégagement de gaz sous la choche de Durham, qui, autrement, peut ne pas être observé pour les dilutions limites.

Si plusieurs essais sont effectués, on utilise la table statistique de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes le plus probable (NPP).

On peut déterminer la présence de coliformes thermotolérants ou fécaux en réalisant le test de Mackenzie : repiquage d'une anse de 9 microlitres de chaque tube positif BLBVB à 37 °C dans un nouveau tube BLBVB et un tube d'eau peptonée qui seront incubés à 44 °C). Les tubes positifs à 44 °C permettent de dénombrer les coliformes totaux en utilisant la table de Mac Grady. Si les tubes d'eau peptonée permettent de lire de surcroît la production d'indole, on peut conclure à la présence d'*Escherichia coli* et réaliser de même son dénombrement.

❖ Eau peptonée exempt d'indole (Tryptone water)

1-Usage

Recherche de l'indole.

2-Composition

-Peptone exempte d'indole 10,0 g

-Chlorure de sodium 5,0 g

(pH=7,2)

3-Préparation

15 grammes par litre d'eau distillée. Stérilisation classique.

4-Lecture

L'addition de réactif de Kovacs montre la production d'indole par un anneau rouge.

❖ Litsky (Bouillon glucosé à l'azide de sodium de l'éthyl violet- bouillon EVA)

1-Usage

Milieu de confirmation d'*Enterococcus*.

2-Composition

- Peptone 20,0g
- Glucose 5.0g
- Azide de sodium 0,2g
- Ethyl-violet 0.5g
- NaCl 5,0g
- Hydrogénophosphate de potassium 2,7g
- Dihydrogénophosphate de potassium 2.7g (pH = 6,8)

3-Préparation

35.7g par litre d'eau distillée. Autoclave classique.

4-Lecture

Il sert au dénombrement des Streptocoques fécaux. C'est un test confirmatif qui se fait suite au test présomptif au milieu de Rothe La lecture des tube se fait grâce au trouble formé et à l'éventuelle formation d'une pastille violette.

❖ Rothe (Bouillon Glucosé à l'azide de sodium)

1-Usage

Milieu d'enrichissement en Enterococcus.

2-Composition

- Peptone 20.0g
 - Glucose 5.0g
 - Azide de sodium 5.0g
 - NaCl. 5.0g
 - Hydrogénophosphate de potassium 2.7g
 - Dihydrogénophosphate de potassium 2.7g
- (pH = 6.8)

3-Préparation

36,2 g par litre d'eau distillée (simple concentration) ou 72,4 (double concentration). Autoclavage classique.

4-Lecture

Ce milieu permet l'enrichissement en Entérocoques d'un inoculum de produit alimentaire. Un trouble signe la présence éventuelle de ces bactéries qu'il faudra ensuite confirmer par le test de Litsky, l'isolement et l'isolement des colonies.

❖ Milieu de Chapman au mannitol

La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles (vivant normalement dans un milieu très salé) et plus particulièrement fermentant le mannitol. C'est un milieu semi-synthétique.

1-Usage

Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus*. Dans les pays anglo-saxons, une variante de ce milieu est appelée MSA (mannitol-salt-agar = gélose au mannitol et au sel).

2-Composition

Composition pour la préparation d'un litre de milieu.

Peptone : 10,0 g

Extrait de viande de bœuf : 1,0 g

Chlorure de sodium : 75,0 g

Mannitol : 10,0 g

Rouge de phénol : 0,025 g

Agar-Agar : 15,0 g

Eau distillée : qsp 1 Litre (pH = 7,4)

4-Préparation

111 g par litre de milieu Autoclavage classique.

5-Caractéristiques

Une base nutritive ordinaire.

Une teneur élevée en NaCl qui permet la sélection des bactéries halophiles (comme les *Staphylococcus*) et inhibe la grande majorité des autres bactéries.

Un critère de différenciation : la fermentation du mannitol révélé grâce au virage de l'indicateur coloré de pH : le rouge de phénol qui permet une orientation vers certaines espèces (comme l'espèce *Staphylococcus aureus*).

6-Lecture

On cultive sur ce milieu les Micrococcaceae et quelques autres (*Bacillus*, *Enterococcus*) et même très rarement des bacilles gram-négatif.

Pas de virage (le milieu reste rouge) : les colonies **mannitol** - car elles ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.

- ✓ virage au jaune du milieu : les colonies sont **mannitol** + car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.
- ✓ remarquons que Chapman est une gelose selective des staphylococcus.

Dans tout les cas, les microorganismes cultivant sur ce milieu ont mis en évidence leur caractère halophile.

3-Réactifs

✓ Kovacs

-Alcool amylique ou isomylique 150ml

-P.diméthylaminobenzaldéhyde 10.0g -Acide chlorhydrique concentré 50ml Conserver à +4°C.

Tableau 1 : Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (Eau).

Nombre de tubes positifs	Nombre de germes/100ml	Nombre caractéristique	Nombre de germes/100ml
001	3	300	23
10	3	301	39
100	4	302	64
101	7	310	43
110	7	311	75
111	11	312	120
120	11	320	93
200	9	321	150
201	14	322	210
210	15	330	240
211	20	331	460
220	21	332	1100
221	28	333	>2400

NB : Le nombre de germes pris du tableau sera multiplier par 10, la chair et de liquide intervallaire ont été dilués à 1/10.

Tableau02 : des paramètres de potabilité bactériologique des eaux [75].

Recherches Pratiques	Méthodes utilisées	Valeurs indicatives
Coliformes totaux /100ml	NM 03-7-003	< 10
Coliformes fécaux /100ml	NM 03-7-003	0
Streptocoques fécaux /100ml	NM 03-7-006	0

Année universitaire : 2017/2018

présenté par : Boucenina Houda

Analyse bactériologique des eaux de certaines écoles à la wilaya de Mila

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Résumé : Cette étude porte sur la pollution bactérienne des eaux. Pour cela nous avons étudié la pollution de 3 stations différentes au niveau de la wilaya de Milla. La recherche des germes par des méthodes spécifiques a montré la contamination des deux stations (1 et 2) et la propreté de la 3^{ème} station. La station 2 est principalement contaminée par les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux avec un nombre qui peut aller jusqu'à 2400 cellules/100ml et 93 cellules/100ml respectivement. Une valeur de 2400 cellules/100ml de streptocoque fécaux est enregistrée au niveau de la station 1. Les staphylococcus et les coliformes totaux sont faiblement pressants dans les 2 stations contaminées. Nous avons noté que l'addition de l'eau de javel est le meilleur moyen pour nettoyer et éliminer les germes pathogènes.

Mots clefs : pollution, coliformes fécaux, staphylocoques, maladies hydriques.

Laboratoire de recherche : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Jury d'évaluation :

Président : REZGOUNE Mohamed Larbi - MCA- Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadreur : GHARZOULI RAZIKA - MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Co-Encadreur : KHACHA Amina –Doctorante- Université de Annaba

Examineur : ZIADA Hadia - MCB- Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Date de soutenance : 01/07/2018