

République Algérienne Démocratique et Populaire

العلمي والبحث العالي التعليم وزارة

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

قائمة 1945 ماي 8 جامعة

Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la
Terre et de l'Univers

Département : Ecologie et Génie de l'Environnement



Mémoire En Vue de diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de le vie

Filière : Science biologique

Spécialité /Option : Microbiologie Appliquée

Thème

ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU

- Réaliser par
 - Hadji Feyrouz
 - Boucceredj Imane
- Devant la commission de jury composée de :
 - Président: Mr Gueroui Yacine M.C.A Université de Guelma
 - Examineur : Mr Bara Mouslim M.C.A Université de Guelma
 - Encadreur : Mme Torche Esma M.C.B Université de Guelma

Septembre 2020

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah tout puissant qu'il nous a guidé tout au long de nous vie, qu'il nous a donné courage et patience pour passer tous les moments difficiles, qu'il nous a permis d'achever ce travail et de pouvoir le mettre entre vos mains aujourd'hui.

Tout d'abord, nous sincères remerciements et respects vont à notre encadreur Mme Torche A. Nous la remercions de tout cœur pour sa patience et sa confiance qu'elle a toujours accordée durant notre travailles. Nous la remercions également pour sa disponibilité sans faille, des précieux conseils et ses encouragements qui nous a aidé notre travaille, de nous avoir assistés en mettant à notre disposition tous les moyens et les ressources nécessaires à la réalisation de ce travail

Nous sincères aux remerciements tous les membres du jury :

Monsieur Gueroui Yacine d'avoir accepté l'honneur de présider ce jury et évaluer ce modeste travail.

Monsieur Bara Mouslim d'avoir d'accepter à participer à ce jury et d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier tous les enseignants de Faculté des Sciences de la Nature et de la vie et Sciences de la terre et d'univers depuis la première année.

Enfinement, nous sincères gratitudes vont également à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.



DEDICASE

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents à qui je dois tous, je les
Remercier à leurs encouragements, aides et les sacrifices
Qu'ils ont fait pour moi. A ma mère ma source d'énergie
et mon père, qui ont veillé sur mon parcours éducatif de ma
première année jusqu'à maintenant.*

*A mes chers et adorables frères Badri, Daïa Eddine,
Et Chokri et surtout mon frère Salah Eddine*

*A ma cousine Maroua Mahmoudi,
et Selma Bouhalite, et ma copine Zahra*

A tous ceux qui nous chers

A tous la promotion



Feyrouz

DEDICASE

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents à qui je dois tous, je les
Remercier à leurs encouragements, aides et les sacrifices*

Qu'ils ont fait pour moi que dieu les protèges

A mes chers et adorables sœurs et frères surtout

Mon frère Hassen

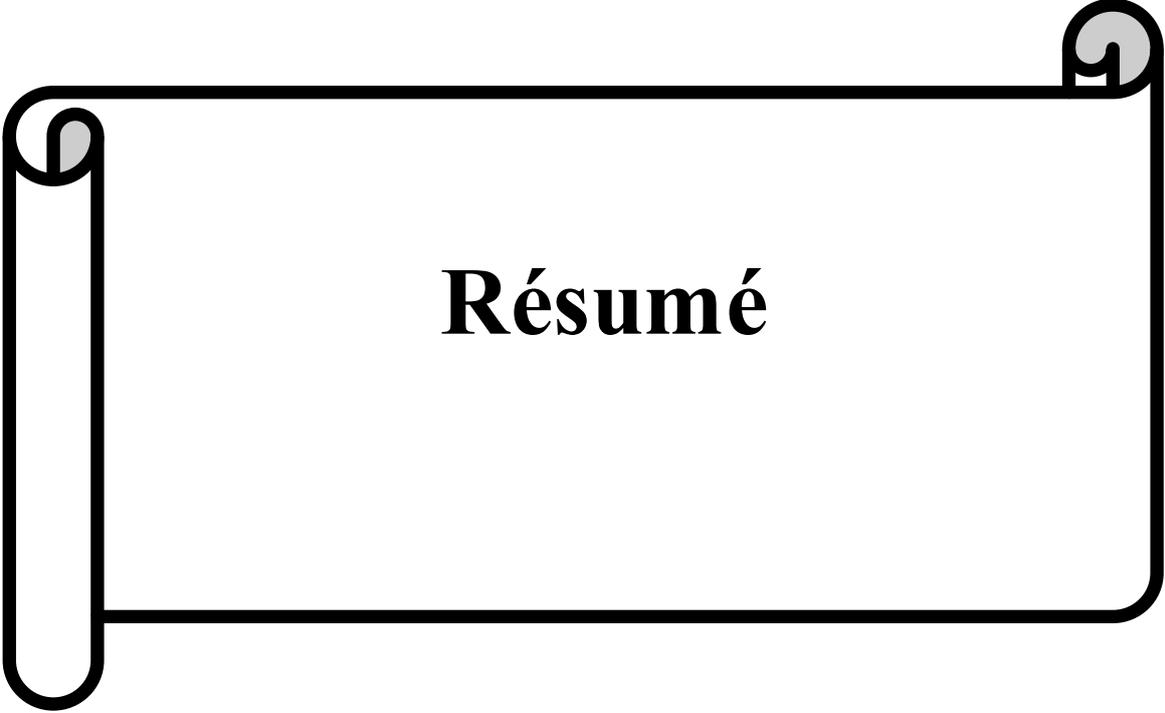
A ma binôme feyrouz et toute sa famille

A tous ceux qui nous chers

A toute la promotion



Jmane



Résumé

Résumé

L'eau est un élément essentiel à la vie. La pollution de l'eau est toute modification chimique, physique ou biologique de la qualité de l'eau qui a un effet nocif sur les êtres vivants. Plusieurs maladies sont liées à la pollution et la contamination de l'eau, ce sont les maladies à transmission hydriques. Pour évaluer la qualité de l'eau plusieurs analyses sont à effectuer. Les analyses physico-chimiques de l'eau informent sur la localisation et l'évaluation d'un niveau de pollution, en fonction d'un ensemble de paramètres physiques et chimiques tels que la turbidité, transparence, température, conductivité et salinité, pH, sels minéraux, oxygène dissous et nutriments (nitrites, nitrates, ammonium, phosphate, silice). Les analyses microbiologiques de l'eau permettent de fournir des informations sur la qualité sanitaire de l'eau c'est à dire l'absence du risque d'ingestion des micro-organismes qui causent des maladies, provenant généralement d'une contamination par des matières fécales humaines ou d'autres animaux à sang chaud. Ces micro-organismes pathogènes incluent notamment les virus, les bactéries et les protozoaires. L'étude et l'identification de ces germes sont réalisées par des méthodes traditionnelles quantitatives et qualitatives en plus des techniques moléculaires. Ces dernières permettent d'assurer une surveillance plus complète et plus réactive de la qualité microbiologique de l'eau.

Les mots clés : eau, la pollution, l'analyse physico-chimique, l'analyse microbiologique, qualité de l'eau.

الملخص

الماء عنصر ضروري للحياة . تلوث المياه هو أي تغير كيميائي أو فيزيائي أو بيولوجي في نوعية المياه له تأثير ضار على الكائنات الحية. ترتبط عدة أمراض بتلوث المياه، وهي أمراض تنقلها المياه. لتقييم جودة المياه، يجب إجراء العديد من التحليلات.

توفر التحليلات الفيزيائية والكيميائية للمياه معلومات عن موقع و مستوى التلوث، بناءً على مجموعة من العوامل الفيزيائية والكيميائية مثل التعكر والشفافية ودرجة الحرارة والناقلية والملوحة ودرجة الحموضة ، الأملاح المعدنية والأكسجين المذاب والعناصر الغذائية (النيتريت والنترات والأمونيوم والفوسفات والسيليكا).

تسمح التحليلات الميكروبيولوجية للمياه بتوفير معلومات عن الجودة الصحية للمياه، أي عدم وجود خطر ابتلاع الكائنات الحية الدقيقة التي تسبب الأمراض ، والتي تأتي عمومًا من التلوث الناتج عن براز البشر أو الحيوانات ذوات الدم الحار. وتشمل هذه الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض على وجه الخصوص الفيروسات والبكتيريا والأوليات. تتم دراسة هذه الجراثيم والتعرف عليها بالطرق التقليدية الكمية والنوعية بالإضافة إلى التقنيات الجزيئية. هذه الأخيرة تسمح بمراقبة أكثر اكتمالاً وأكثر فاعلية للجودة الميكروبيولوجية للمياه

الكلمات المفتاحية: الماء, التلوث, التحليل الفيزيائي والكيميائي, التحليل الميكروبيولوجي, جودة المياه.

Abstract

Water is essential for life. Water pollution is any chemical, physical or biological change in the quality of water that has a harmful effect on living organisms. Several diseases are linked to pollution and contamination of water, these are waterborne diseases. To assess the quality of the water, several analyzes must be carried out. The physico-chemical analyzes of water provide information on the location and evaluation of a pollution level, depending on a set of physical and chemical parameters such as turbidity, transparency, temperature, conductivity and salinity, pH, mineral salts, dissolved oxygen and nutrients (nitrites, nitrates, ammonium, phosphate, silica). The microbiological analyzes of the water make it possible to provide information on the sanitary quality of the water, i.e. the absence of the risk of ingestion of microorganisms that cause disease, generally coming from contamination by faeces of humans or other warm-blooded animals. These pathogenic microorganisms include in particular viruses, bacteria and protozoa. The study and identification of these germs are carried out by traditional quantitative and qualitative methods in addition to molecular techniques. These allow a more complete and more responsive monitoring of the microbiological quality of the water.

Key word: Water, Pollution, The physico-chemical analyzes, The microbiological analyze, the quality of the water.

Table des matières

Résumé

الملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 1

Chapitre 01 : Généralité Sur L'eau

1-Définition de l'eau..... 4

2- Cycle de l'eau..... 4

2-1- Evaporation 5

2-2- Condensation..... 5

2-3- Précipitations..... 5

2-4- Ruissellement..... 6

3- Origine de l'eau..... 6

3-1- Eaux souterraines 6

3-2- Eaux de surfaces..... 6

4- Importance de l'eau 8

5- Pollution de l'eau 9

5-1-Origine de la pollution de l'eau..... 9

5-1-1-Phénomènes naturels10

5-1-2- L'activité humaine10

5-2- Les principaux polluants11

5-2-1- Les polluants physiques12

5-2-2- Les polluants chimiques12

5-2-3- Les polluants biologiques.....12

5-2-4-les composés toxiques.....12

Chapitre 02 : Les maladies à transmission hydrique

1- Définition des maladies à transmission hydrique.....15

2- Les maladies d'origine bactérienne16

2-1- Le cholera.....16

2-2- La fièvre typhoïde et paratyphoïde18

2-3-La dysenterie bacillaire19

2-4- La gastro-entérite aigue et diarrhée.....	19
3- Les maladies d'origine virale.....	20
3-1- Les hépatites virales.....	20
3-2- La poliomyélite.....	20
3-3- Viroses des Entérovirus.....	21
4 - Les maladies d'origine fongique.....	21
4-1- La candidose.....	21
4-2- Les dermatophytose.....	22
5 - Les maladies d'origine parasitaire.....	22
5-1- Les amibiases.....	22
5-2- Cryptosporidiose.....	23
5-3- Les giardases.....	23
5-4 Les helminthes.....	23
6 - Les principaux facteurs de M.T.H.....	24

Chapitre 03 : Analyse de l'eau

1 - Prélèvements de l'eau.....	26
1-1- Matériel de prélèvement.....	26
1-2- Mode de prélèvement.....	27
1-3- Prélèvement d'eau potable.....	27
1-4- Prélèvement en milieu naturel.....	27
1-4-1- Une rivière ou une nappe ouverte.....	27
1-4-2- Un lac ou une retenue d'eau.....	28
1-4-3- Dans le cas de prélèvement à un robinet.....	28
1-4-4- Dans le cas d'une eau souterraine.....	28
1-5- Prélèvement automatique.....	29
2- Identification des échantillons d'eau.....	29
3 - Transport et conservation des échantillons d'eau.....	29
4 - Analyses physico-chimiques de l'eau.....	30
4-1- Les propriétés physico-chimiques de l'eau.....	30
4-2- Analyses sur sites.....	31
4-2-1- La Température.....	31
4-2-2- Le potentiel d'hydrogène (pH).....	32
4-2-3- La Conductivité électriques (CE).....	33

4-2-4-	L'oxygène dissous.....	33
4-2-5-	La salinité.....	34
4-2-6-	Taux des sels dissous (TDS).....	34
4-3-	Analyse au laboratoire.....	35
4-3-1-	Dureté de l'eau.....	35
4-3-2-	La turbidité.....	36
4-3-3-	La matière en suspension (MES).....	36
4-3-4-	La résistivité.....	37
4-3-5-	Alcalinité.....	37
4-3-6-	Le Calcium (Ca ²⁺).....	38
4-3-7-	Magnésium (Mg ²⁺).....	38
4-3-8-	Le Chlorure(Cl ⁻).....	39
4-3-9-	Les nitrites (NO ₂ ⁻).....	39
4-3-10-	Ion ammonium (NH ₄ ⁺).....	40
4-3-11-	Ortho-phosphate (PO ₄ ⁻).....	40
5-	Analyses Microbiologique.....	41
5-1-	Analyses bactériologiques.....	41
5-1-1-	Recherche et dénombrement des germes aérobies revivifiables (Germes totaux).....	44
5-1-2-	Recherche et dénombrement des germes indicateur de contamination fécale.....	45
5-1-3-	Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réducteurs (ASR).....	51
5-1-4-	Recherche des germes pathogènes.....	53
5-1-5-	Tests d'identifications complémentaires de l'analyse bactériologique.....	62
5-2-	Analyses fongiques.....	75
5-2-1-	La détection des champignons par culture.....	75
5-3-	Analyses virologiques.....	78
5-3-1-	Méthodes de concentration de l'échantillon.....	79
5-3-2-	Méthode de détection.....	82
5-4-	Analyses parasitaires.....	84
5-4-1-	Prélèvement de l'échantillon.....	84
5-4-2-	Filtration de l'échantillon et élution.....	84
5-4-3-	Concentration et séparation de l'échantillon.....	85
5-4-4-	Identification des kystes et des oocytes.....	85
6-	Techniques moléculaires.....	86

6-1- Réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	86
6-2- Réaction de ligature en chaîne (LCR).....	87
6-3- Amplification par déplacement de brin SDA.....	88
Conclusion.....	91
Refe rences bibliographiques.....	94
Annexes.....	113

Liste des abréviations

AEP : Approvisionnement en eau potable

ADN : Acide Désoxyribo- Nucléique

AFNOR : Association Française De Normalisation

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

ARN : Acide Ribo- Nucléique

ASR : Anaérobies sulfite réducteurs

BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.

Ca+2 : Calcium

CE : conductivité électrique

CF : Coliformes fécaux

Cl- : Chlorure

CT : Coliformes totaux

D/C : Double concentration.

DGGE: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

E. coli: *Escherichia coli*

ECP : Effet cytopathique

EDTA: Ethylène-Diamine Tétra Acétique

EPA : eau peptone alcaline

°F : Degré française

FeS : sulfite de fer

FISH: Fluorescent In Situ Hybridization

g/l : Gramme par litre

GN: Gélose nutritive

GNAB: Gélose Nutritive Alcaline et biliée

GT : Germes totaux

H₂S : Hydrogène sulfureux

HCO₃⁻ : Hydrogène Carbonate

IFA : Immuno fluorescence

IND : Indole.

INSP : Institut National de Santé Publique

ISO : Organisation Internationale de Standardisation

LCR : ligase chain reaction

MES : Matière en suspension

Mg⁺²: Magnésium

MTH: maladies à transmission hydrique

NPP : Nombre le plus probable.

NR1 : Nitrate Réductase 1

NR2 : Nitrate Réductase 2

NTU : Unité de turbidité Néphélométrique

O₂ : oxygène dissous

OH⁻ : hydroxyde

OMS : Organisation mondiale de santé.

ONPG: Ortho-Nitrophényle-B-D –Galactosidase.

PCR : Polymerase Chain Reaction

PEG : Polyéthylène glycol

pH : Potentielle Hydrogène.

PO₄ : Ortho phosphate

q PCR : Quantitative Polymerase Chain Reaction

RM : Rouge de méthyle

RTase : Reverse Transcriptase

RT-PCR : Transcription Inverse Polymérase Chain Réaction

S/C : Simple concentration.

SC : Sélénite- Cystéine

SDA : Strand displacement amplification ou amplification par déplacement de brin

SF : streptocoque fécaux

Sf: Solution fille

SFB : Sélénite-F Broth

SIM : Séparation immune-magnétique

Sp: espèce

SS : salmonelle -shigelle

T° : Température

TA : titre alcalimétrique

TAC : titre alcalimétrique complet

Tab : Tableau

TDA : Tryptophane décarboxylase.

TDS : taux des sels dissous

TGEA : Gélose tryptonée-glucose-Extrait de levure.

TH : titre hydrotimétrique

TSI : Triple Sagar Iron.

UFC : Unité formant colonie

UV : Ultra-violet

V : Volume

VHA : Virus de l'Hépatite A

VHE : Virus de l'Hépatite E

VF : Viande Foie.

VP : Voges Proskauer

µm : micromètre

µs : micro-siemens

µs/cm : micro-siemens par centimètre

Ω-cm : l'ohms- centimètre

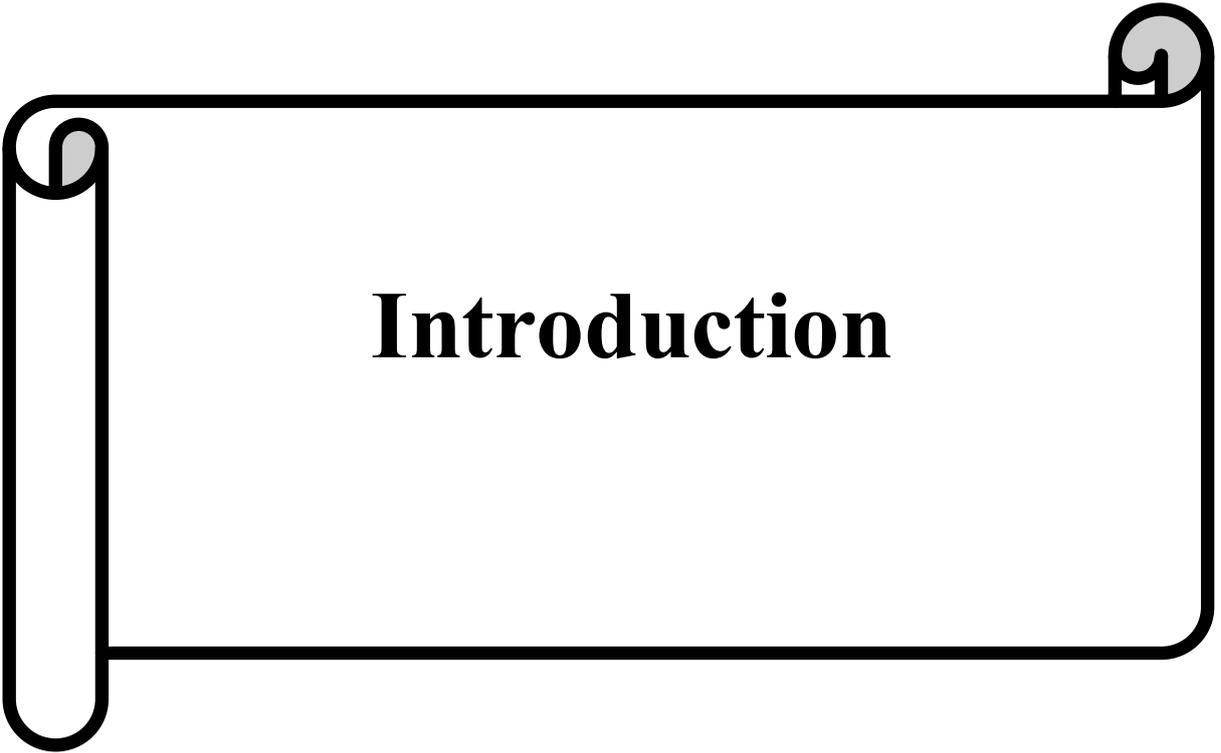
Liste des tableaux

Numéro	Titre	Pages
Tableau 1	Salinité des différents océans et mers	8
Tableau 2	Principales maladies d'origine hydriques et leurs agents responsables	15
Tableau 3	Classification des eaux d'après leur Ph	32
Tableau 4	Guide de la conductivité d'une eau destinée à la consommation humaine	33
Tableau 5	Classement des eaux suivant leur dureté	35
Tableau 6	Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI	71
Tableau 7	Critères d'identification macroscopique	77
Tableau 8	Critères d'identification microscopique	78
Tableau 9	Principes, objectifs et applications de quelques techniques de biologie moléculaire	89

Liste des figures

Numéro	Titre	Pages
Figure 1	La molécule d'eau	4
Figure 2	Cycle de l'eau dans la nature	5
Figure 3	L'incidence de Choléra dans le monde	17
Figure 4	L'incidence du Cholera en Algérie (1981-2001)	17
Figure 5	Evolution de l'incidence annuelle de la fièvre typhoïde en Algérie (2000-2015)	18
Figure 6	L'incidence de dysenterie en Algérie (2000-2011)	19
Figure 7	L'incidence des Hépatites en Algérie (1985-2007)	20
Figure 8	protocole de dilution	44
Figure 9	Dénombrement des micro-organismes revivifiables à 22 et à 37°C dans les eaux	46
Figure 10	Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et les Coliformes thermotolérants	49
Figure 11	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux	51
Figure 12	Recherche et de dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite réducteurs (ASR)	53
Figure 13	Recherche et identification des <i>Salmonelles</i> dans les eaux	55
Figure 14	<i>Salmonella</i>	56
Figure 15	la Recherche et l'identification des <i>Shigella</i> dans les eaux	57
Figure 16	<i>Shigella</i>	58
Figure 17	Recherche et identification du staphylocoque pathogène (<i>S aureus</i>)	59
Figure 18	<i>Staphylococcus aureus</i>	59
Figure 19	<i>Vibrio cholerae</i>	60
Figure 20	La recherche des <i>Vibrio cholerae</i> .	61
Figure 21	<i>Pseudomonas</i>	62
Figure 22	Galerie API 20 ^E	64

Figure 23	L'enzyme catalase	66
Figure 24	l'enzyme oxydase	67
Figure 25	l'enzyme coagulase	67
Figure 26	le test ONPG	68
Figure 27	l'enzyme tryptophane désaminase TDA	69
Figure 28	Citrate Simmons.	70
Figure 29	Le milieu mannitol mobilité.	70
Figure 30	le milieu Triple Sugar Iron	72
Figure 31	bouillon nitrate réductase	73
Figure 32	Le test indole.	73
Figure 33	l'urée d'indole	74
Figure 34	Le test Voges Proskauer	75
Figure 35	Le test rouge de méthyle	75



Introduction

Introduction

La terre est généralement appelée la «planète Bleue» car l'eau représente trois quarts de sa surface (Kherifi et Achi, 2016). L'eau représente un pourcentage très important dans la constitution de tous les êtres vivants. Les eaux de surface occupent la plus grande partie du globe terrestre. Environ 98% de ces eaux sont des eaux marines. Les 2% restants constituent les eaux continentales représentées par les rivières, les lacs et les étangs (Gleick, 1993 ; Gerard, 1999).

L'eau est un élément essentiel de la vie biologique et dans l'activité humaine. Elle participe à toutes les activités quotidiennes et est impliquée aussi dans de nombreuses fonctions physiologiques essentielles telles que la digestion, l'absorption, la thermorégulation et l'élimination des déchets (Kirkpatrick et Fleming, 2008 ; Laidani et *al.*, 2009).

L'eau est une épée à double tranche, elle donne la vie mais elle donne la mort car la plupart des rejets issue des activités humaines sont évacués dans les proches cours d'eaux qui avec un manque de station d'épuration aboutit à une pollution qui prend des dimensions de plus en plus importantes (Remini, 2005). La pollution des eaux peut être minérale ou microbiologique. Les eaux de surface sont très polluées contrairement aux eaux souterraines, qui sont bien protégées. En Algérie comme dans la plupart des pays en voie de développement ou industrialisés, la dégradation de la qualité de l'eau aussi bien de surface que souterraine est de plus en plus préoccupante (Ayacha et *al.*, 20010). Le risque de contamination des eaux de surface représente un problème environnemental majeur. Plusieurs types de pollution peuvent affecter un cours d'eau tel que la pollution physique se traduisant en une altération de la transparence de l'eau (présence de matières en suspension), la pollution chimique due à la présence de substances chimique indésirable (détergent) ou toxiques (métaux) et la pollution biologique qui résulte de la présence des bactéries et des virus pouvant affecter la santé humaine (Rebetafika et *al.*, 2006 ; Rimini, 2005)

Les eaux polluées doivent subir différents traitements physiques, chimique et biologique, selon le degré et la nature de la pollution(Cuq, 2007). Le contrôle de la qualité de l'eau est cependant devenu impératif, il joue un rôle important dans la santé publique car celle-ci est susceptible d'engendrer des altérations catastrophiques sur le sol, sur l'organisme humaine et même de toucher à la santé de toute une population (Roux, 1987).

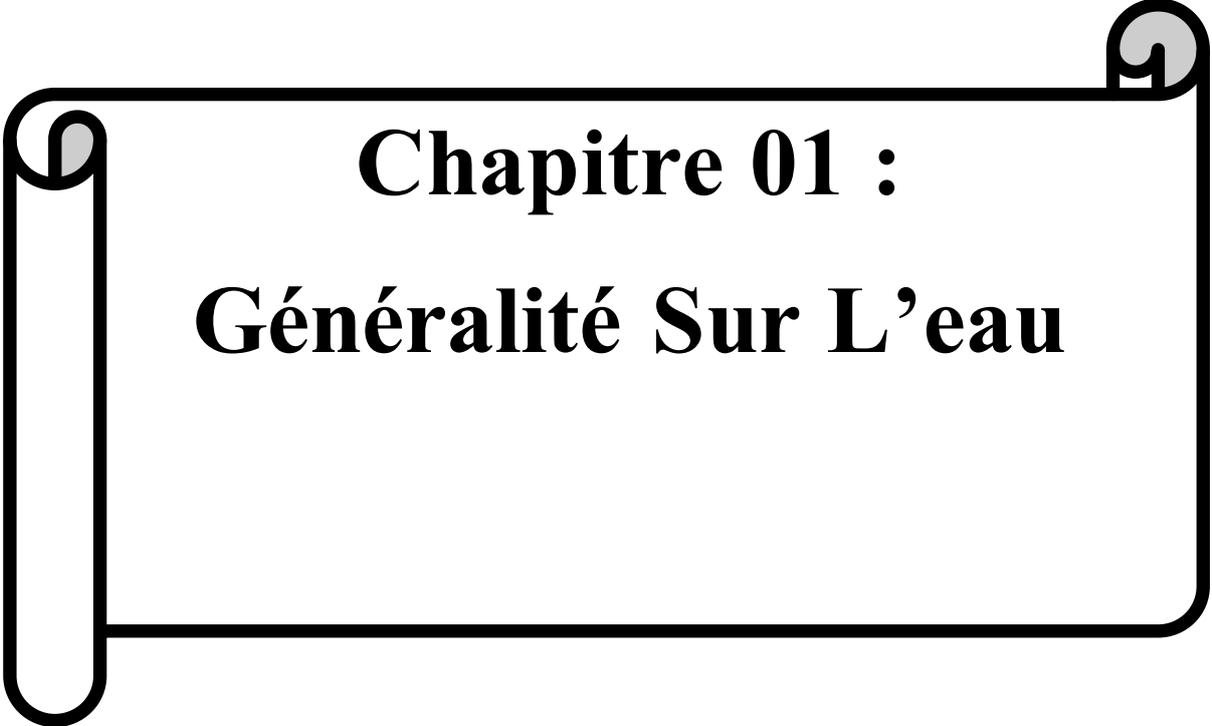
Introduction

L'objectif de notre étude est la détermination des différentes méthodes d'analyses physico-chimiques et microbiologiques de l'eau.

Le travail est organisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est une revue générale sur l'eau, ses origines, importance et pollution. Le second chapitre rassemble les maladies à transmission hydriques. Alors que le dernier chapitre est consacré sur les différentes analyses de l'eau et les méthodologies suivies.

La dernière partie présentera une conclusion qui récapitule les connaissances acquises lors de ce travail.



Chapitre 01 :
Généralité Sur L'eau

1-Définition de l'eau

L'eau, élément indispensable à la vie, essentiel pour tous les organismes vivants connus. Est un composé chimique ubiquitaire sur terre, composé sous sa forme pure de molécule qui associe deux atomes d'hydrogène et un atome d'oxygène sous la forme H_2O (Figure 01). C'est notamment un solvant efficace pour la plupart des corps solides trouvés sur terre, l'eau est quelque fois désigné sous le nom de «solvant universel » [1]

L'eau est une part essentielle du patrimoine mondial, mais aussi essentielle aux activités humaines (Agricultures, industrielles, domestiques...). Une eau est dite potable ou eau de consommation quand elle satisfait un certain nombre de caractéristiques la rendant propre à la consommation humaine (Chelli et Djouhri, 2013).

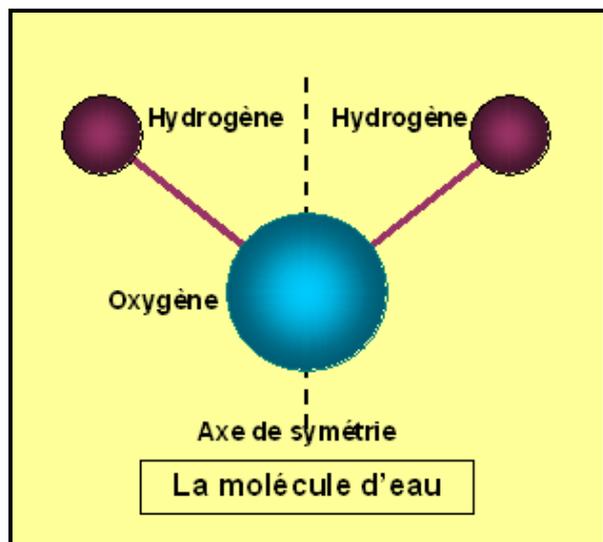


Figure 01 : la molécule d'eau (Chelli et Djouhri, 2013)

2- Cycle de l'eau

L'eau est partout présente autour de nous et constitue un des éléments fondamentaux de notre planète. Toute cette eau se transforme et circule en permanence dans l'atmosphère, la surface et dans le sous-sol de notre terre : c'est le cycle de l'eau (Vilagines, 2003). Le moteur de ce cycle est le soleil, grâce à l'énergie thermique qu'il rayonne, il active et maintient constamment les masses d'eau en mouvement. Ce cycle se divise en deux parties intimement liées (Figure 02). Une partie atmosphérique qui concerne la circulation de l'eau dans l'atmosphère, sous sa forme de vapeur d'eau essentiellement et une partie terrestre qui

concerne l'écoulement de l'eau sur les continent, qu'il soit superficiel ou souterrain (Chelli et Djouhri, 2013).

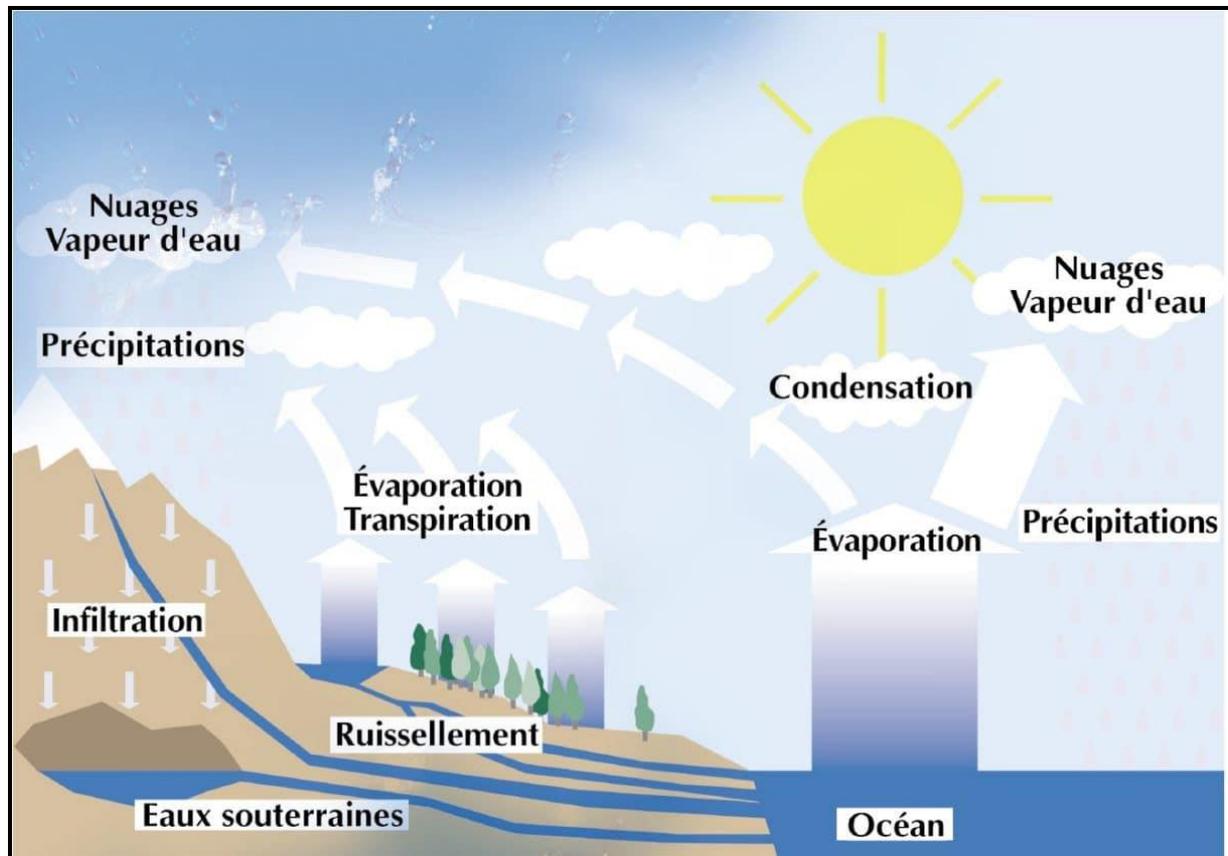


Figure 02 : cycle de l'eau dans la nature [2]

Le cycle de l'eau se décompose en plusieurs étapes et résumé comme suites :

2-1- Evaporation

Grâce à l'énergie solaire, l'eau des mers et des océans s'évapore dans l'atmosphère en se débarrassant de son sel et ses impuretés. [2].

2-2- Condensation

Au contact des couches d'air froid de l'atmosphère, la vapeur d'eau se condense en minuscules gouttelettes qui, poussées par les vents, se rassemblent et forment des nuages [2].

2-3- Précipitations

Les nuages déversent leur contenu sur la terre, forme de pluie, neige ou grêle (Chelli et Djouhri, 2013)

2-4- Ruissellement

La plus grande partie de l'eau tombe directement dans les océans. Le reste s'infiltré dans le Sol (pour former des nappes souterraines qui donnent naissance à des sources) ou ruisselle pour aller grossir les rivières qui à leur tour, vont alimenter les océans. Et le cycle recommence (Chelli et Djouhri, 2013)

3- Origine de l'eau

Selon le mode de gisement, deux sources principales d'eau ; **les eaux superficielles** (les eaux des oueds, des lacs, des océans et des mers) ; et **les eaux souterrains** (l'eau accumulée dans les nappes).

3-1- Eaux souterraines

Les eaux souterraines sont la principale source d'eau douce de l'humanité. Les eaux souterraines représentent 30% de l'eau douce de la planète. Le reste constitue les calottes polaires (69%) ainsi que les fleuves et les lacs (1%) [3]. Les eaux souterraines sont toutes les eaux se trouvant sous la surface du sol, dans la zone de saturation et en contact direct avec le sol ou le sous-sol et se caractérise par une turbidité faible ou leurs eaux bénéficient de filtration naturelle importante (Chelli et Djouhri, 2013).

Comme elle se caractérise par une contamination bactérienne faible, car elle est habituellement à l'abri des sources de pollution. Par conséquent la dureté est élevée, et les eaux souterraines peuvent être en contact avec des formations rocheuses contenant des métaux bivalents comme le calcium ou magnésium. En plus, dans les eaux souterraines, le fer et le magnésium présentent une concentration élevée (Degremon, 2005).

3-2- Eaux de surfaces

Par opposition aux eaux souterraines les eaux de surface sont des eaux qui circulent ou qui sont stockées à la surface des continents. Elles proviennent soit par des nappes souterraines dont l'émergence constitue une source, soit par les eaux de ruissellement (fleuves, rivières, barrages, mares, marigots).Elles sont caractérisées par une surface de

contact eau-atmosphère toujours en mouvement et une vitesse de circulation appréciable (Degremont, 2005). Sa température varie en fonction du climat et des saisons. Ces matières en suspension sont variables selon la pluviométrie, la nature et le relief des terres à son voisinage. Sa composition en sels minéraux est variable en fonction du terrain, de la pluviométrie et des rejets. Une eau de surface est ordinairement riche en oxygène et pauvre en dioxyde de carbone (Degremont, 2005).

Et sans empiéter encore sur les études particulières portant sur les types d'eau, lesquelles établissent précisément une certaine corrélation entre composition et origine, nous pouvons distinguer :

Eaux potable

La notion de potabilité est liée directement à l'alimentation humaine. Une eau naturelle est dite potable si elle présente les qualités suivantes :

Fraîcheur et limpidité;

Absence d'odeur et de couleur ;

Goût agréable ;

Suffisamment douce, aérée ;

Minéralisation raisonnable ;

Absence de matières organiques et de germes pathogènes (Degremont, 2005)

Eaux douce

L'eau douce, par opposition à l'eau de mer, est une eau dont la salinité est suffisamment faible pour pouvoir être consommée [4].

Les eaux plates

Ce sont des eaux caractérisées par un manque total de saveur, pourvus en oxygène, sans fraîcheur naturelle (Degremont, 2005)

Eaux dures

Une eau dure incruste à froid ou chaud les récipients qui la contiennent. La dureté est engendrée par la présence des ions calcium ; magnésium, et un à degré moindre le fer et l'aluminium (Degremont, 2005).

Eaux de marais

Les eaux de « marais ou « tourbier » sont des eaux douces caractérisées par une faible valeur de pH, due à la présence d'acides organiques et qui les rend très corrosives. On les

appelle parfois « eaux rouges » en raison de la présence des particules à base d'oxyde de fer en suspension (Degremon, 2005)

Eaux de mers et saumâtres

La salinité observée dans les différents océans ou mers du globe résulte d'un équilibre entre évaporation, pluies et apport des fleuves (salinité faible) d'une part et d'échange d'eau avec les autres mers ou océans auxquels ils sont reliés d'autre part. Elle est donc très variable comme l'illustre le tableau 01:

Tableau 01: Salinité des différents océans et mers (Degremont, 2005).

Origine	Salinité (g.L-1)
Mer Baltique	17
Mer Noir	22 à 25
océans atlantique et pacifique	32 à 38
Mer Méditerranée	37 à 40
Mer rouge-Golfe arabique	40 à 47
Mer Morte	270

Une eau saumâtre est une eau dont la teneur en sel est sensiblement inférieure à celle de l'eau de mer. La concentration totale de sel dissous est généralement comprise entre 1 et 10 g/l alors qu'elle est (en moyenne) de 35 g/l pour l'eau de mer. Dans les estuaires maritimes, la conjonction des courants d'eau douce avec l'eau de mer donne naissance à des poches d'eau saumâtre (Chelli et Djouhri, 2013).

4- Importance de l'eau

L'eau est un élément essentiel à la vie et au fonctionnement global de la planète terre, car elle atteint 70-80% de la surface totale de la terre. L'eau est au cœur des écosystèmes naturels et de la régulation climatique. Le cycle hydrologique est le nom donné au mouvement continu de l'eau en dessous, au-dessous et à la surface de terre, qui sans début ni

fin, travers les états liquide, gazeux et solide. Presque 98% de l'eau salée, impropre à la consommation et moins de 1% de l'eau est potable sont disponibles à l'utilisation, la majorité est enfermée dans les neiges et dans les pôles (Lassoued et Touhami, 2008).

L'eau est essentielle à la vie : il s'agit d'une ressource vitale pour l'humanité et le reste du monde vivant. Tout le monde en a besoin, et pas uniquement pour boire. C'est la plus abondante de la matière vivante (jusqu'à 90% du poids pour certains êtres vivants, animaux et végétaux....).

L'eau est le principal constituant des corps humains, la quantité moyenne d'eau contenue dans un organisme adulte est de 65%, ce qui correspond à environ 45 litres d'eau pour une personne de 70 kilogrammes.

Outre d'être le constituant des cellules, l'eau remplit les fonctions :

- Participe aux nombreuses réactions chimiques dans le corps humain
- Assure le transit d'un certain nombre de substances dissoutes indispensables aux cellules
- Permet l'élimination des déchets métaboliques.
- Aide au maintien d'une température constante à l'intérieur du corps (Monod, 1989)

5- Pollution de l'eau

La pollution de l'eau est actuellement placée en tête des problèmes de l'environnement car l'eau est une interface entre l'air et le sol, donc la dégradation de ces deux milieux (Bouziani, 2000). On appelle pollution de l'eau toute modification chimique, physique ou biologique de la qualité de l'eau qui a un effet nocif sur les êtres vivants la consommant. Quand les êtres humains consomment de l'eau polluée, il y a en général des conséquences sérieuses pour leur santé. La pollution de l'eau peut aussi rendre l'eau inutilisable pour l'usage désiré [5].

5-1-Origine de la pollution de l'eau

Souvent anthropique, c'est-à-dire due directement ou indirectement à l'activité humaine, la pollution peut cependant résulter de phénomènes naturels tels qu'une éruption volcanique ou solaire [6].

5-1-1-Phénomènes naturels

Certains phénomènes naturels peuvent être à l'origine de la pollution des eaux et sont identifiés en relation avec les éruptions volcaniques, des épanchements sous-marins, d'hydrocarbures, le contact avec les filons, ou gisements d'éléments toxiques et la présence d'une thermo-minérale (Chibani, 2009).

5-1-2- L'activité humaine

C'est une pollution qui est due suite à la forte activité urbaine, domestique, industrielle et agricole

5-1-2-1- Pollution domestique

Elle est généralement liée aux rejets d'eaux usées. Les eaux usées issues de l'utilisation d'eau quotidien (toilettes, cuisine, douche...) contiennent des déchets organiques ou de la matière fécale. Les habitations mal ou non raccordées au réseau d'assainissement collectif peuvent ainsi engendrer une pollution bactériologique de l'eau.

Les produits ménagers que nous utilisons sont chargés des polluants chimiques nocifs pour l'environnement. Mélangé à l'eau, ils terminent dans nos canalisations ou dans la nature et engendrent une pollution chimique. Difficilement traités par les réseaux d'assainissement. Les résidus de ces produits viennent enrichir les cours d'eau en substances chimiques [7].

5-1-2-2- Pollution industrielle

Un grand nombre d'opérations industrielles et manufacturières rejettent des agents polluants directement ou indirectement dans les sources d'eau environnantes (Chibani, 2009) Ces polluants sont caractérisés par une grande diversité, suivant l'utilisation de l'eau dans le processus de refroidissement, de lavage, d'extraction, de mise en solution et de l'activité des usines (Benchabane et Merzoug, 2015)

Selon le type d'industrie on distingue divers matières polluants :

- Matières organiques et graisses (abattoirs, industrie agroalimentaires...) ;
- Hydrocarbures (industrie pétrolières, transport) ;
- Métaux (traitement de surface, métallurgie) ;
- Acides, bases, produits chimiques divers (industries chimiques, tanneries....) ;
- Eaux chaudes (circuits de refroidissements des centrales thermiques) ;

- Matières radioactives (centrales nucléaires ; traitement des déchets radioactifs) (Boucherit et Hakimi, 2016).

5-1-2-3- Pollution urbaine

En milieu urbain les sources de pollution sont facilement identifiables, ce sont essentiellement les eaux pluviales, les résidus de traitement de la pollution domestique ainsi que les résidus de traitement des ordures managers. Elle est caractérisée par :

- Une teneur importante de matières minérale en suspension (sable, gravier, poussière) ;
- La présence de nombreux détritiques solides ;
- Des fortes concentrations en toxiques et hydrocarbures provenant essentiellement des livraisons des parkings, résidus d'échappement des véhicules, résidus de corrosion des équipements métalliques (Boucherit et Hakimi, 2016)

5-1-2-4- Pollution agricole

La pollution liée à l'agriculture est causée par l'utilisation anarchique d'engrais, de pesticides et d'herbicides ou de fongicides. Les méthodes modernes exigent parfois des labourages profonds et violents, ce qui favorise l'infiltration directe des polluants (NO_3 , NO_2 , SO_4 , PO_4 et Cl) vers la nappe phréatique (Boucherit et Hakimi, 2016). L'agriculture, l'élevage et l'aviculture sont des activités responsables de rejets de nombreux polluants organiques et inorganiques. Ces polluants atteignent les cours d'eau par le ruissellement de surface ou par l'écoulement souterrain (Bouras et Sekfali, 2013)

Le caractère rural de la population est derrière le nombre élevé des éleveurs, ce qui provoque une forte utilisation des engrais et des produits phytosanitaires et un taux élevé des excréments d'animaux, augmentant ainsi le taux de la pollution dans les ressources hydriques que ce soit souterraines ou superficielles (Bouchaala, 2010)

5-2- Les principaux polluants

L'expansion et l'intensification des activités humaines sont à l'origine de l'accroissement de la dispersion des polluants dans les milieux naturels. Les polluants sont émis dans l'environnement sous forme de gaz et de substances dissoutes ou particulaires. Ils atteignent les milieux aquatiques par des voies diverses telles que les retombées atmosphériques, le ruissellement, le lessivage des sols ou le déversement direct des déchets (Chibani, 2009).

5-2-1- Les polluants physiques

La pollution physique représente les éléments solides entraînée par l'eau où les trois principaux agents physique de la pollution sont : la chaleur, le transport des matières en suspension et la radioactivité (Boucherit et Hakimi, 2016 ; Chibani, 2009).

5-2-2- Les polluants chimiques

La pollution chimique d'une eau est la plus complexe et peut avoir plusieurs sources. On distingue selon la nature de la pollution chimique :

5-2-2-1- Les éléments chimiques minéraux

De très nombreux minéraux sont rejetés dans les continentales ou marines par l'industrie et l'agriculture (engrais chimiques). Les composés minéraux et organiques du phosphore et de l'azote constituent les éléments nutritifs les plus importants et sont généralement considérés comme les facteurs principaux de l'eutrophisation (Boucherit et Hakimi, 2016 ; Chibani, 2009).

5-2-2-2- Les éléments chimiques organiques

Les composés organiques peuvent être naturels ou de synthèse. Ils constituent le principal polluant aquatique et il est de multiples sources : agricole, industrielle et humaine. (Boucherit et hakimi, 2016 ; Chibani, 2009).

5-2-3- Les polluants biologiques

Ils constituent les organismes libres et des agents pathogènes :

5-2-3-1- Les organismes libres

Parmi les organismes libres présents dans l'eau, le plancton et les macros invertébrées. (Chibani, 2009)

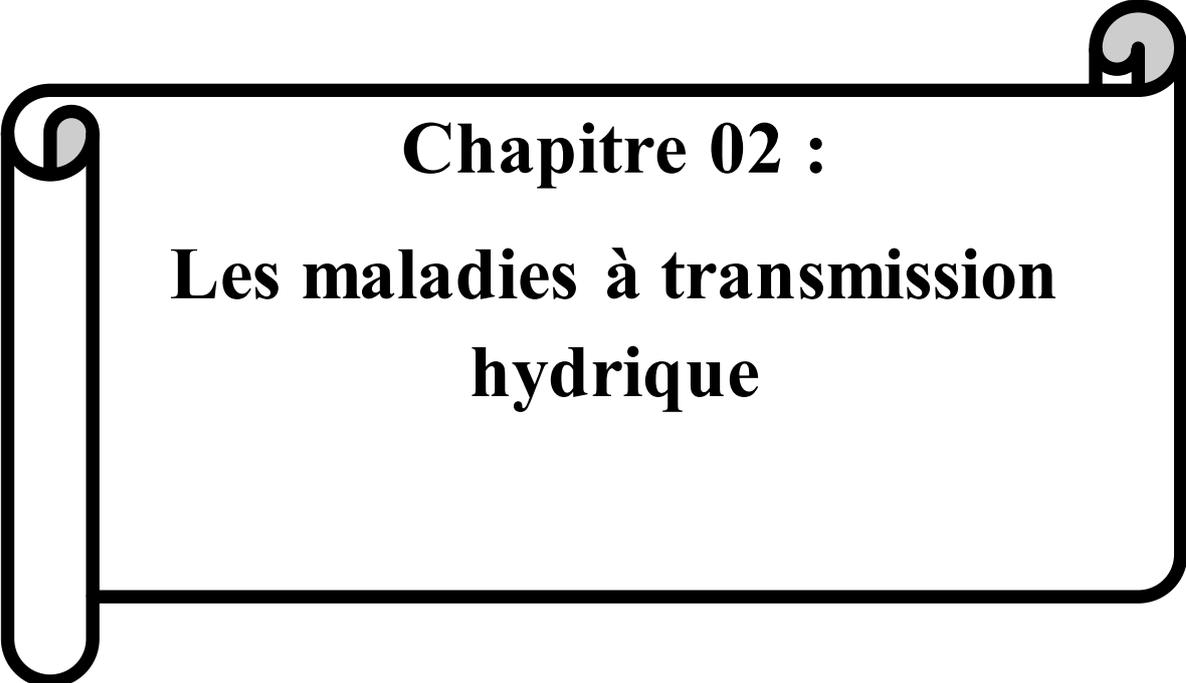
5-2-3-2- Les agents pathogènes

Ils comprennent : les virus, les bactéries et les parasites. Ils sont dangereux pour la santé humaine, et limitent donc les usages que l'on peut faire de l'eau (Chibani, 2009 ; Boucherit et Hakimi, 2016)

5-2-4-les composés toxiques

Ce sont essentiellement :

- Les métaux lourds (Mercure, Plomb, Zinc, Vanadium, Chrome IV ... ect) ;
- Les minéraux d'origines agricoles (organochloré, organophosphorés et les organométalliques) ;
- Les métaux d'origines industrielles (Chibani, 2009).



Chapitre 02 :
**Les maladies à transmission
hydrique**

1- Définition des maladies à transmission hydrique

Au cours du 19^{ème} siècle, les maladies d'origine hydrique ont été responsables dans le monde de vastes épidémies de dysenteries, fièvre typhoïde, choléra...etc. Aujourd'hui, l'OMS considère que la mauvaise qualité microbiologique des eaux consommées reste la première cause des problèmes de santé (Lesne, 1998).

Les maladies à transmission hydrique (MTH) recouverts un large éventail de manifestation pathologiques d'origine bactérienne, parasitaire ou virale dont l'élément commun est le mode de contamination de l'eau (Kreisel, 1991 ; Bazine et Bournane, 2011). La majorité des symptômes induits par les agents pathogènes d'origine hydrique sont d'ordre entérique (nausées, vomissement et diarrhées et plus rarement, colites). D'autres symptômes peuvent cependant être d'ordre neurologique, cardiovasculaire, respiratoire (*Legionella*), oculaire (toxoplasmose), hématologique (septicémie causé par *E coli* O157 : H7) ou dermatologique (Payment et pintar, 2006)

Tableau 02 : principale maladies d'origine hydriques et leurs agents responsables (Bazine et Bournane, 2011)

Maladies	Agents
Origine bactérienne	
La typhoïde et la paratyphoïde	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi A et B</i>
La dysenterie bacillaire	<i>Shigella sp</i>
Le choléra	<i>Vibrio cholerae</i>
La Gastro-entérite aiguë et la diarrhée	<i>Escherichia coli Entérotoxique</i> <i>Amylobacter</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella sp.</i>
Origine fongique	
Candidose	<i>Candida albicans</i>

Dermatophytose	<i>Epidermo-phyton, Microsporum Trichophyton</i>
Origine virale L'hépatite A et E La poliomyélite La Gastro-entérite aiguë et Chronique	Virus de l'hépatite A et E Virus de la poliomyélite Virus de Norwalk Rotavirus Entérovirus Adénovirus
Origine parasitaire Dysentérie amibienne Giardiase	<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>

2- Les maladies d'origine bactérienne

Généralement transmises à l'homme par voie digestive liée à la consommation d'eau ou d'aliment contaminés (Maiga, 2005)

2-1- Le cholera

Le choléra est une maladie infectieuse diarrhéique à caractère épidémique, d'origine bactérienne. L'agent pathogène de choléra est un bacille à Gram négative : *Vibrio cholerae*. Il s'agit d'une bactérie appartenant à la famille des *Vibrionaceae* et au genre du *Vibrio* (Ayad, 2017), découverte par Pacini en 1854 et découverte par Koch en 1883 (Bouras et Sekfeli, 2013). C'est une maladie à transmission oro-fécale (par voie digestive) due par *Vibrio cholera* qui libère une exotoxine thermolabile et entraîne une hypersécrétion d'eau. Le volume d'eau éliminé peut atteindre 15 à 20 L par jour. La dose infectante est importante, de l'ordre de 10^8 bactéries (Tourab, 2013). C'est une maladie contagieuse qui provoque des infections intestinales aiguës, dont les symptômes sont diarrhées fréquentes, vomissements incontrôlables, soif intense et une déshydratation rapide. Cette maladie peut entraîner la mort dans 80% des cas non traités (Sari, 2008)

L'organisation mondiale de la santé OMS estime dans l'année 2000 près de 140.000 cas causent approximativement 5000 morts, l'Afrique comptait 87%de ces cas (Figure 03) (N'diaye, 2008 ; (Baziz, 2008).

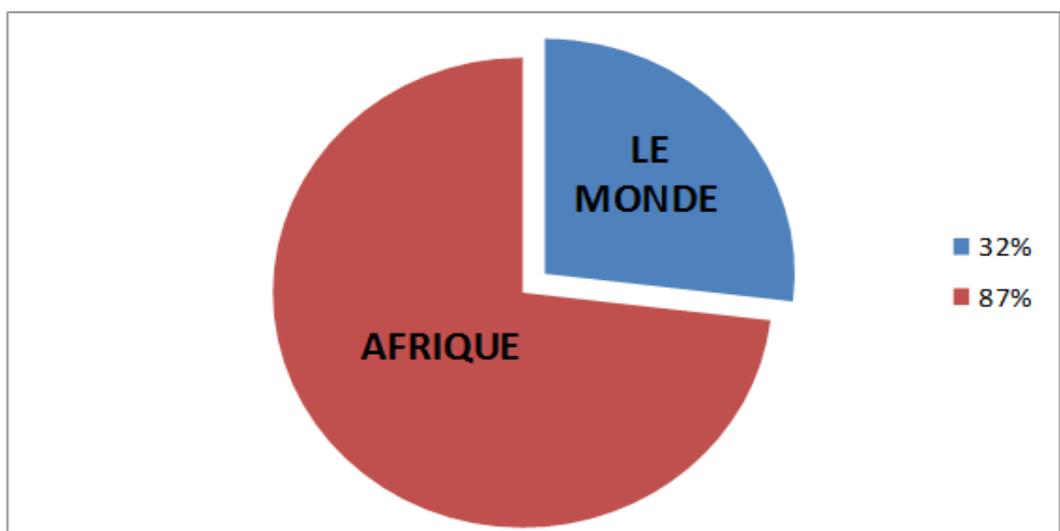


Figure 03 : L'indice de choléra dans le monde (Baziz, 2008)

En Algérie, ce pire est revenu. Le choléra, introduit en 1971 et constater 1332 cas et 110 décès, le pic choléra peut être considéré comme une catastrophe épidémiologique national en 1986 (8000 cas clinique de choléra et 450 décès), le nombre de cas de cette maladies est à diminué sensiblement depuis le début des années 1990 (N'diaye, 2008 ; (Baziz, 2008)(Figure 04)

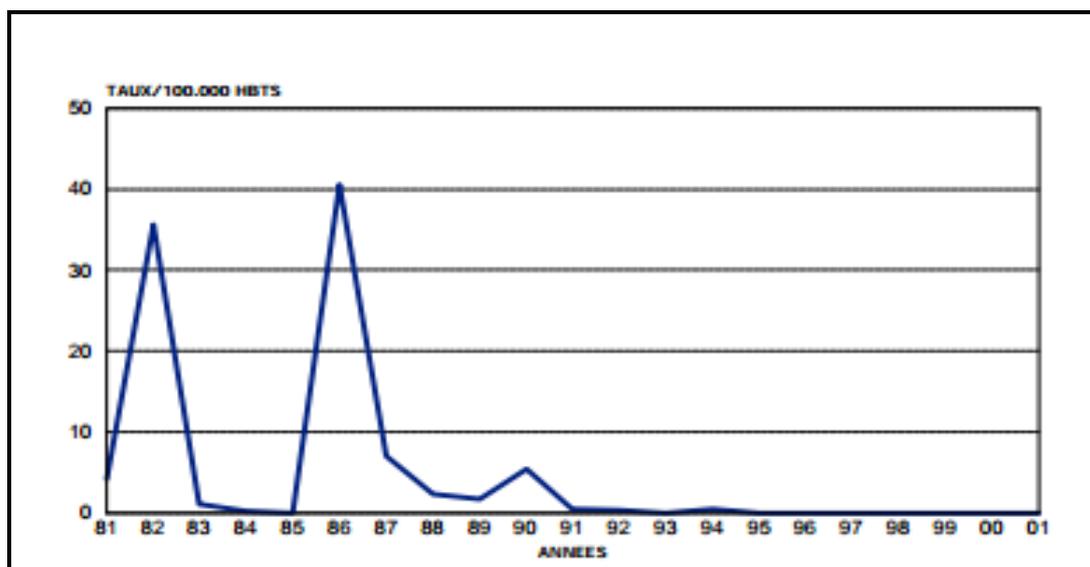


Figure 04 : L'indice du choléra en Algérie (1981-201) (Baziz, 2008)

2-2- La fièvre typhoïde et paratyphoïde

La fièvre typhoïde (du grec tufhos, torpeur) ou typhus abdominal est une maladie bactérienne infectieuse découverte en 1818 par Pierre Bretonneau, causée par une bactérie de la famille *Enterobacteriaceae*, du genre *Salmonella* dont les espèces responsables sont: *Salmonella enterica*, *Salmonella typhi* ou *Salmonella paratyphi* A, B et C'est une maladie bactérienne transmissible strictement humaine. Elle est provoquée par des salmonelles que l'on trouve dans le lait, la nourriture ou l'eau contaminée (Ayad, 2017). La fièvre typhoïde et paratyphoïdes dues à des salmonelles (*salmonella typhus* et *paratyphus*), peuvent à partir de l'intestin envahir les tissus de l'hôte et provoquer une septicémie accompagnées avec fièvre élevé, une céphalée, diarrhée, douleurs abdominales abattement extérieur (le typhus) (Baziz, 2008).

La situation épidémiologique de la fièvre typhoïde en Algérie s'est nettement améliorée au cours de ces dernières années. On relève un infléchissement à partir de 2002 avec une baisse plus marquée en 2010 (inférieure à 1 cas pour 100.000 habitants (Kherifi et Bekiri, 2016).

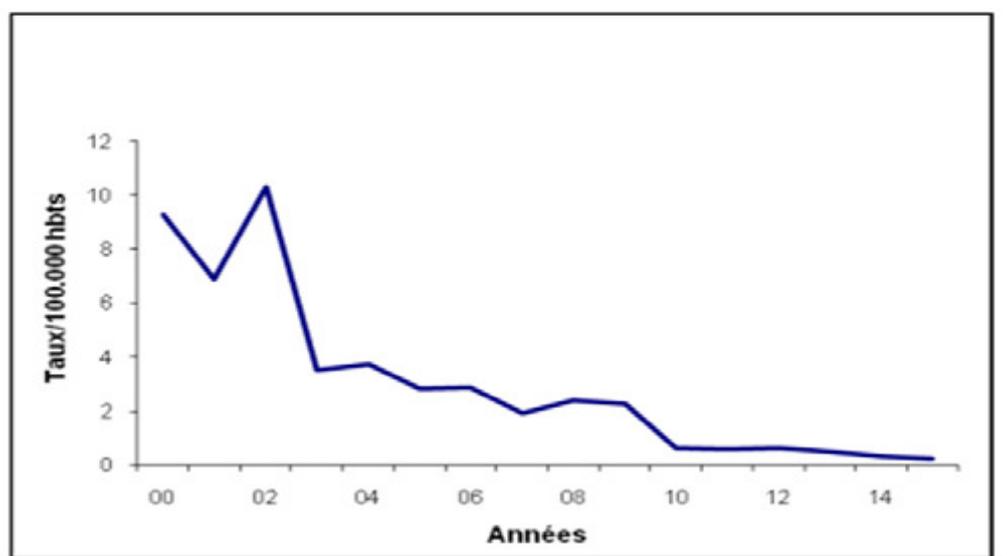


Figure 05 : Evolution de l'indice annuelle de la fièvre typhoïde en Algérie (2000-2015) (Source INSP.2015)

2-3-La dysenterie bacillaire

L'infection est caractérisée par une diarrhée sanglante extrêmement abondante résultant de l'invasion de la muqueuse intestinale par *Shigella dysenteriae* et *S. flexneri* (Cherif, 2006). En Algérie, la situation épidémiologique concernant les dysenteries s'est nettement améliorée avec une nette diminution du taux d'incidence passée de 1,57 % en 2010 à 1,44 % de cas pour 100.000 habitants en 2011 (Baziz, 2008). Pendant l'année 2011 la dysenterie représente 7,4% de l'ensemble des cas de MTH (figure 06).

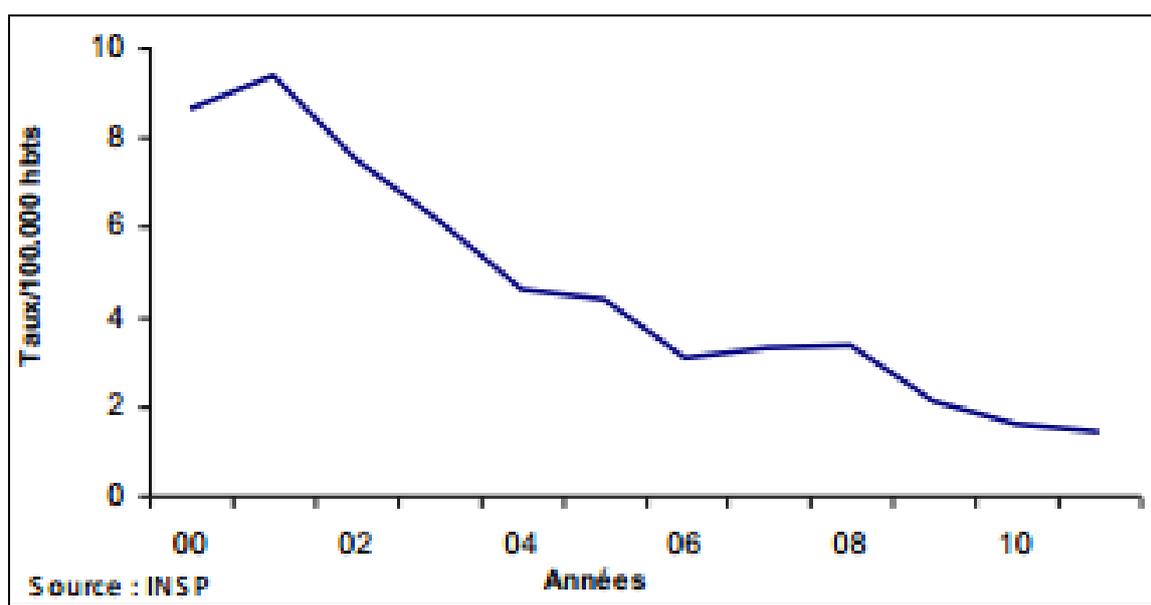


Figure 06 : L'indice de dysenterie e Algérie (2000-2011) (Baziz, 2008)

2-4- La gastro-entérite aigue et diarrhée

Une gastro-entérite est une infection inflammatoire du système digestif qui touche les muqueuses présentes dans l'estomac et l'intestin. Elles peuvent être d'origine bactérienne, virale, ou dues à des parasites internes, protozoaires ou amibes pathogènes. La gastro-entérite bactérienne est généralement transmise par l'eau ou par les aliments souillés et causée par des salmonelles, des staphylocoques et des shigelles. Elle se manifeste essentiellement par les symptômes suivants : des nausées, des vomissements, des crampes abdominales, des flatulences et de la diarrhée, ainsi que de la déshydratation, de la fièvre et de la céphalée (Amaramadi et Touati, 2013 ; Ayad, 2017).

3-Les maladies d'origine virale

3-1- Les hépatites virales

Les deux principaux virus responsables d'hépatites virales aiguës sont le virus de l'hépatite A (VHA) et le virus de l'hépatite E (VHE). Tous deux sont transmis par voie féco-orale et peuvent provoquer de grandes épidémies. L'eau joue un rôle majeur dans leur transmission. Toutefois, ils correspondent à deux modèles épidémiologiques différents. (Manceur et Djaballah, 2016). Les épidémies ne s'observent que dans les pays à niveau d'hygiène insuffisant et sont généralement liées à une contamination massive de l'eau. Elles se caractérisent par un taux de létalité élevé (Manceur et Djaballah, 2016). Elle se manifeste par une infection du foie s'accompagnant de vomissement, de céphalées et de fièvre pouvant entraîner la mort par insuffisance hépatique (Cherif, 2006).

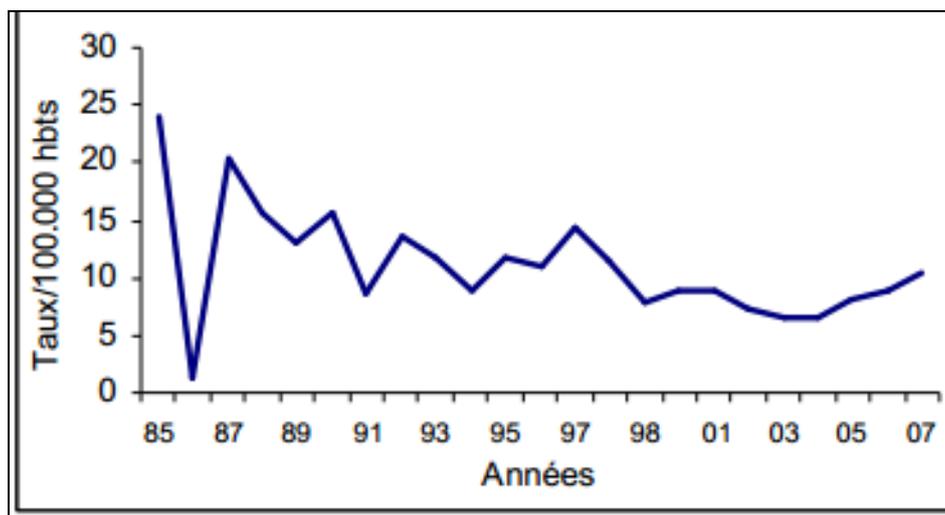


Figure 07 : L'indice des Hépatites en Algérie (1985-2007) (Manceur et Djaballah, 2016).

3-2- La poliomyélite

C'est une maladie strictement humaine considéré comme une paralysie infantile, causé par un virus appelé poliovirus qui infecte la substance grise de la moelle épinière (polio=couleur grise et myélite= moelle). Elle se transmet par voie oro-fécale (voie digestive), ou par voie or-orale (la salive et la sécrétion respiratoire).

La maladie se caractérise par deux formes :

Poliomyélite non paralytique : qui dure 10 à 14 jours avec des signes respiratoires (toux, fièvre, cas de vomissements) et digestives (douleurs abdominales, nausée, vomissement, constipation et rarement des diarrhées) cette forme se disparaît en quelques jours.

Poliomyélite paralytique : où le virus détruit les nerfs qui contrôlent les muscles et donc paralyse. Pas de traitement à cette maladie mais il existe deux types de vaccins oraux et injectables (Boouras et Sekfeli, 2013)

Les cas de polio ont diminué de plus de 99% depuis 1988. La réduction est le résultat d'un effort global pour éradiquer cette maladie (N'diaye, 2008). L'institut National de Santé Publique (I.N.S.P) estime un taux d'indice de 5,6% pour la poliomyélite parmi les MTH-2011 (Baziz, 2008)

3-3- Viroses des Entérovirus

Les entérovirus sont des agents infectieux communs divisés en 4 espèces (entérovirus humains, espèces A à D) qui regroupent actuellement 108 sérotypes [8]. Membres de la famille des *Picornaviridae*, ce sont des virus à ARN monocaténaire, dont la taille varie de 20 à 30 nm. Leur transmission est soit directe soit indirecte par des eaux souillées ou des aliments contaminés. Leur domaine pathologique est très étendu car ils sont capables de provoquer des lésions du système nerveux, du tractus gastro-intestinal, de l'appareil respiratoire, des muscles, de la peau et des yeux (Schwartzbrod, 2000).

4 – Les maladies d'origine fongique

On trouve fréquemment dans les sédiments marins, et en particulier dans les points les plus exposés à une contamination humaine, des champignons ou levures dont certains peuvent être pathogènes pour l'homme et provoquer notamment des affections cutanées. Quelques-uns de ces microorganismes peuvent avoir une origine fécale, tel *Candida albicans* ; la plupart sont des champignons dermatophytes ayant une origine cutanée.

4-1- La candidose

La candidose est une infection fongique provoquée par un champignon (mycose) des muqueuses et de la peau. Ce champignon appartient au genre *Candida*. *Candida albicans* est

la souche la plus fréquente, mais d'autres espèces existent : *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosiskrusei*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida glabrata*... [9]. *Candida albicans* se manifeste différemment selon sa localisation. Il entraîne de façon générale une fatigue de l'organisme, fatigue physique mais aussi psychique avec un manque d'envie, des ballonnements, des céphalées de fin de journée avec l'impression d'avoir la tête enserrée dans un étaux, une envie constante de manger du sucre [10].

4-2- Les dermatophytose

La dermatophytose est une infection fongique, à base de champignons filamenteux logés dans la kératine (notre peau, les ongles, poils ou cheveux). Ce dernier comprend de nombreuses espèces réparties à l'intérieur de trois genres : *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*. Ce sont les "teignes", des lésions de la peau ou du cuir chevelu. Elle se manifeste aussi bien chez l'homme que chez l'animal, et est contagieuse. La dermatophytose entraîne des lésions et teignes très visibles sur la peau ou le cuir chevelu [11].

5 - Les maladies d'origine parasitaire

5-1- Les amibiases

L'amibiase (la dysenterie amibienne) est une infection parasitaire qui provoque une maladie intestinale (Lassoued et Touhami, 2008). De nombreuses espèces d'amibe vivent dans le gros intestin de l'homme, seule l'une d'elles *Entamoeba histolytica*, est susceptible de déclencher une amibiase, c'est la seule qui possède en effet la capacité de traverser la muqueuse de l'intestin et d'en détruire la paroi où nourrit exclusivement d'hématies où il provoque une nécrose locale et des ulcères. Ce parasite est présent sous sa forme enkystée dans l'eau ou les aliments souillés qui sont très résistants. Les symptômes habituels de la maladie sont la diarrhée, la fièvre et des crampes abdominales, l'infection peut se compliquer. L'amibe change alors de biotope, gagne d'autres organes et elle entraîne diverses manifestations intestinales et extra intestinales (hépatique, pulmonaire,...) (Manceur et Djaballah, 2016).

5-2-Cryptosporidiose

La *cryptosporidiose* est une maladie intestinale grave, notamment chez plusieurs animaux comme les bovins et les oiseaux. Elle est transmissible à l'humain. Chez le veau, elle donne lieu à des diarrhées sévères et une faiblesse intense. La maladie est causée par des parasites protozoaires du genre *Cryptosporidium*.

Cryptosporidium est un protozoaire appartenant à la famille des *Cryptosporidiidae*. Son cycle de multiplication se déroule dans les cellules épithéliales intestinales. Les oocystes sont excrétés dans les fèces. Il existe une vingtaine d'espèces (*C. parvum*, *C. bovis*, *C. canis*...) mais *C. parvum* est généralement considéré comme étant le principale agent responsable des symptômes clinique chez les humains. C'est un parasite caractérisé par la présence de quatre sporozoïtes dans l'oocyste mature dont la taille varie de 4 à 6 µm. (Rodier, 2009)

5-3- Les giardases

La giardase est le plus commun au cours des infections intestinales humaines. Les manifestations les plus fréquents débutent 1 à 3 semaines après la contamination et marquées par une diarrhée, des vomissements et une anorexie (Lassoued et Touhami, 2008).

Giardia un protozoaire flagellé, parasite de l'intestin des mammifères, appartenant à la famille des *Hexamitidae*. Il existe de nombreuses espèces (*G. muris* *G. lamblia*...). Lorsqu'il est dans l'intestin, il est appelé trophosoïte. Il s'enkyste lors de l'excrétion. À ce stade, le kyste de *Giardia* a une forme ovoïde de 8 à 14 µm de longueur sur 7 à 10 µm de largeur). Ces parasites provoquent des gastro-entérites, fièvres. On constate des pathologies plus sévères pour les personnes immunodéprimées (Rodier, 2009)

5-4 Les helminthes

Les helminthes sont des vis sans fin parasites qui alimentent sur un hôte vivant à l'alimentation et à la protection de gain, tout en entraînant l'absorption, la faiblesse et la maladie nutritives faibles dans l'hôte. Ces vis sans fin et larves vivent dans l'intestin grêle et désigné sous le nom des parasites intestinaux.

Les groupes suivants de vis sans fin sont classés comme helminthes :

Nématodes ou ascarides lombricoïdes

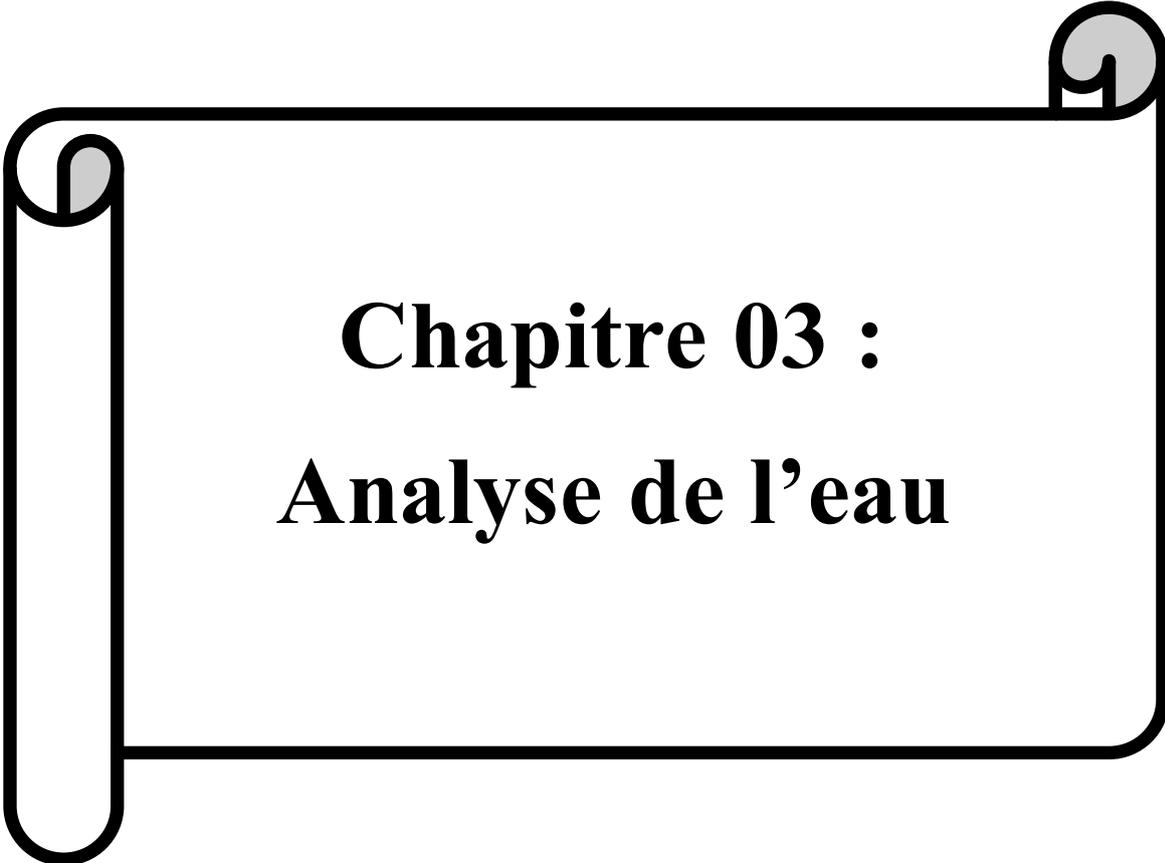
Trématodes, qui comprennent des flets ou des plathelminthes

Cestodes ou vers solitaires

Monogenans, aussi membres du phylum de plathelminthe. [12].

6 -Les principaux facteurs de M.T.H

La vétusté des réseaux en milieu urbain qui provoque fréquemment des cross-connexions entre les réseaux d'approvisionnement en eau potable (AEP) et l'assainissement. L'accroissement des besoins en eau qui est liée d'une part à un forte poussée démographique et d'autre part en développement économique et industriel. Les facteurs sociaux, comme l'exode rural massif des populations, la multiplication autour de grandes villes du pays : Alger, Annaba, Constantine, Oran..... Urbanisation anarchique. La dégradation de l'environnement (N'diaye, 2008)



Chapitre 03 :
Analyse de l'eau

1 - Prélèvements de l'eau

Le prélèvement d'un échantillon est une opération délicate, à laquelle le plus grand soin doit être apporté. Pour ce faire, il doit satisfaire aux conditions ci-dessous

Les échantillons doivent être homogènes et représentatifs ;

Les échantillons doivent être recueillis, conservés et expédiés dans des flacons stérilisés adéquats s'il s'agit d'analyse bactériologique ;

Le volume recueilli doit être suffisant pour permettre une analyse précise ;

Tous les renseignements utiles sur les échantillons doivent être indiqués et le flacon doit être étiqueté correctement pour éviter les erreurs (Rodier et *al.*, 2009) ;

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à visse métallique (Guiraud, 1998).

1-1- Matériel de prélèvement

1-1-1-Pour l'analyse microbiologique

Les prélèvements microbiologique se fait à l'aide des flacons en verre Pyrex munis d'un bouchon à vis métallique, d'une contenance de 250 ml, stériles pour faciliter les prélèvements et éviter tout type de contamination (Bouchair et Benalia, 2015). Avant l'usage, ces flacons doivent être soigneusement lavés, puis rincés avec une eau déminéralisée car il ne doit rester aucune trace d'un éventuel détergent ou antiseptique. La manipulation et le même pour les bouchons. Par la suite les flacons sont séchés à l'abri de l'air puis bouchés (Oughidni et Sebti, 2015). Pour éviter les risques de contamination, les flacons d'échantillonnages ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement. Une fois l'échantillon est prélevé, les flacons doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse (Bouchair et Benalia, 2015).

1-1-2-Pour l'analyse physico-chimique

Pour l'analyse physico-chimique on utilise des bouteilles en plastiques (polyéthylène) qui doivent être propre et préalablement rincées (Bouras et Sekfali, 2013).

1- 2- Mode de prélèvement

Les prélèvements pour l'analyse bactériologique nécessitent de nombreuses précautions de façon à ne pas contaminer l'échantillon lors de sa prise. Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vis métallique. Le mode de prélèvement varie suivant l'origine de l'eau à analyser (Guiraud, 1998). Une étude précise sur les courants, les marais, les volumes, les types et les emplacements des rejets ainsi que sur les vents dominants aideront à déterminer les lieux d'échantillonnage (Merzoug, 2009). Les lieux de prélèvement d'échantillons sont généralement choisis aux endroits où la profondeur de l'eau se situe entre 1 et 1.5m. Le flacon peut être plongé dans l'eau (Ferdes et Merchela, 2012).

1-3- Prélèvement d'eau potable

Les échantillons destinés à une analyse bactériologique, en eau potable, sont prélevés en flacons stériles contenant du thiosulfate de sodium pour neutraliser le chlore, ne les ouvrir qu'au moment du prélèvement. Pour le remplissage des flacons plusieurs protocoles spécifiques sont à suivre [13].

Pour le prélèvement des échantillons d'eau potable destinés à une analyse bactériologique il faut flamber le point de prélèvement et laisser couler l'eau à débit constant pendant une à deux minutes sous la protection de la flamme avant de prélever. Attention, de l'air doit être présente dans le flacon et pour cela ce dernier ne sera pas totalement rempli. Pour les flacons contenant des additifs (acide...), il faut veiller à ne pas faire déborder le flacon lors du remplissage et il n'est pas non plus nécessaire de les remplir complètement [13].

1- 4- Prélèvement en milieu naturel

1-4-1- Une rivière ou une nappe ouverte

La bouteille sera plongée à une certaine de distance du fond (50 cm) et de la surface,

assez loin des rives ou des bords ainsi que des obstacles naturels ou artificiels, en dehors des zones mortes ou des remous, et en évitant la remise en suspension des dépôts (Rodier *et al.*, 2009).

1-4-2- Un lac ou une retenue d'eau

Il y a lieu de choisir plusieurs points de prélèvements et, en chacun d'eux, de prélever plusieurs échantillons à différentes profondeurs pour tenir compte de l'hétérogénéité verticale et horizontale. S'il est nécessaire de se servir d'un vase intermédiaire pour le prélèvement, ce vase sera au préalable lavé et rincé soigneusement. Il existe des dispositifs permettant d'ouvrir les flacons à un niveau déterminé et ainsi de prélever l'eau en un point donné. Le mélange de plusieurs échantillons ainsi recueillis peut donner un échantillon moyen (Rodier *et al.*, 2009).

1-4-3- Dans le cas de prélèvement à un robinet

Si le but est le contrôle de l'eau distribuée, il est indispensable d'attendre que l'eau en stagnation dans les canalisations soit éliminée. En pratique, il convient d'ouvrir le robinet à un débit maximum pendant 5 à 10 secondes puis de le ramener à un débit moyen pendant 2 minutes. Par contre, si le but de l'analyse est de contrôler la concentration de certains éléments relargués par la canalisation, tels que zinc, plomb, cuivre, il convient de laisser l'eau stagner dans celle-ci pendant toute la nuit et de prélever l'eau immédiatement à l'ouverture du robinet (Rodier *et al.*, 2009).

1-4-4- Dans le cas d'une eau souterraine

1-4-4-1- L'eau des puits

Le prélèvement est effectué en plongeant un flacon stérile menu d'un cordon dans le puits à condition de ne pas toucher le fond, et le maintenant en évitant de toucher les bords pour ne pas contaminer notre échantillon. Puis nous détachons le cordon et nous refermons le flacon aseptiquement (Guiraud, 1998).

1-4-4-2- L'eau des Forages

Les forages sont munis d'un robinet d'arrêt, pour faire un prélèvement dans les conditions aseptiques, il faut respecter les étapes suivantes :

1. lavage des mains.
2. fermer et stériliser l'extrémité du robinet en le chauffant quelque secondes
3. Ensuite ouvrir le robinet et laisser couler l'eau normalement jusqu'à le refroidissement de son extrémité.

4. Dévisser le bouchon du flacon stérile avec la main droite et remplir avec la main gauche le flacon jusqu'à 1 cm du goulot.

5. Refermer le flacon en évitant de toucher le goulot (Amaramadi et Touati, 2013)

1-5- Prélèvement automatique

Le prélèvement d'eau automatique permet de recueillir des échantillons durant un temps plus ou moins long et selon un processus programmé relié soit à un pas de temps défini, soit à un débit.

Le prélèvement d'échantillons d'eau et d'eaux usées avec préleveurs automatiques est simple et tout à fait fiable : il suffit d'entrer l'intervalle de temps ou de volume passé devant le préleveur ainsi que le volume d'échantillon souhaité dans le menu et le préleveur s'occupe du reste - en totale conformité avec les réglementations internationales en matière d'eau. Les stations de prélèvement refroidissent vos échantillons et les protègent contre le vandalisme. [14].

2- Identification des échantillons d'eau

Pour faciliter le travail et l'exploitation des résultats tout en évitant les erreurs, Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles (Rodieret *al.*, 1996).

Chaque flacon doit porter une étiquette indiquant :

- Nom de l'opérateur qui a effectué les prélèvements ;
 - Site du prélèvement ;
 - Lieu et la nature
 - Mode de prélèvement (ponctuel ou moyen 24 heures, proportionnel au débit ou au temps)
 - Date et heure (du début de prélèvement) et durée ;
 - Des informations sur une éventuelle technique de conservation de l'échantillon
- [13].

3 - Transport et conservation des échantillons d'eau

Les échantillons soigneusement étiquetés sont placés dans une glacière à 4°C et transportés ensuite au laboratoire. Si le transport doit dépasser une heure, il faut utiliser une

boite isotherme muni d'élément réfrigérant dont la température doit être comprise entre 4 à 6°C. L'analyse bactériologique doit débiter dans un délai maximal de huit heures, après le recueil de l'échantillon. En aucun cas l'analyse ne doit être effectuée lorsque le délai dépasse 24 heures (Rodier et *al.*, 1996)

4 - Analyses physico-chimiques de l'eau

Les analyses physico-chimiques font références à toutes les actions de détermination d'une valeur sur un échantillon, qu'il s'agisse d'analyses, de mesures, d'observations, ect... Faites en laboratoire ou sur le site de la station de mesure [15].

4-1- Les propriétés physico-chimiques de l'eau

La liaison hydrogène est à l'origine des propriétés chimiques et physiques particulières de l'eau. L'eau peut se trouver sous trois états : liquide, solide et gazeux. L'état gazeux correspond exactement à la formule classique de la molécule d'eau H₂O. Les deux autres états, liquide et solide, sont plus compliqués, et c'est cette complexité qui leur confère leurs propriétés exceptionnelles. [16].

4-1-1- Un liquide mobile

L'eau est un corps continu, sans rigidité, qui coule facilement, remplit tous les interstices, puis s'étale en surface. L'eau possède un fort pouvoir mouillant qui lui donne des propriétés capillaires particulièrement importantes. [17].

4-1-2- Un formidable solvant

L'eau est le plus formidable solvant naturel à la surface de la terre. L'eau est capable de dissoudre quasiment n'importe quel substrat. [17].

4-1-3- Une chaleur spécifique élevée

L'eau est l'élément naturel (à part l'ammoniaque NH₄⁺) dont la chaleur spécifique est la plus élevée sur terre. La chaleur spécifique étant la quantité d'énergie qu'il faut fournir à une masse d'eau donnée pour élever sa température de 1°C, cela revient à dire que l'eau est difficile à chauffer, tout autant qu'elle est difficile à refroidir [17].

4-1-4- Une chaleur latente de fusion et de vaporisation élevées

Les chaleurs latentes de fusion et de vaporisation représentent les quantités de chaleur qu'il faut fournir soit pour fondre de la glace, soit pour produire de la vapeur d'eau. L'énergie

nécessaire est prélevée sur le substrat, cela revient à dire, par exemple, que si la majeure partie de la vapeur d'eau atmosphérique vient de l'océan, celui-ci est constamment refroidi par ce mécanisme de vaporisation. [17].

4-1-5- Une molécule particulièrement stable

La molécule d'eau est particulièrement stable pour la raison que les atomes d'hydrogène et l'atome d'oxygène qui la constituent mettent chacun en commun un électron pour établir leur liaison. De fait, les atomes d'hydrogènes possèdent deux électrons et celui d'oxygène possède huit électrons sur sa couche périphérique. C'est cette saturation de la couche externe de la molécule qui lui confère sa grande stabilité [17].

Les substances présentes dans l'eau peuvent être classées selon deux modes différents :

- Suivant leur nature chimique : organique ou minérale ;
- Suivant leur état physique : matières dissoutes, colloïdes ou en suspension (Merzoug, 2009).

4-2- Analyses sur sites

Les mesures in situ sont des analyses réalisées sur place tels que la température, pH, l'oxygène dissous, la conductivité électrique, et la salinité à l'aide d'un multi-paramètre, en plongeant directement le matériel dans l'eau. Ces paramètres sont très variables et très sensibles aux conditions de milieu et ils permettent une estimation de la qualité générale de l'eau. Susceptible de varier dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur sites (Abdelloui et *al.*, 2012 ; Sayad, 2008)

4-2-1- La Température

La température est le paramètre le plus important dans les analyses de l'eau. Elle a une influence directe sur le comportement de différentes substances contenues dans l'eau et à une grande influence sur l'activité biologique (Roux, 1987). La température de l'eau dépend des échanges thermiques avec l'air ambiant et du rayonnement solaire, influence des paramètres comme l'oxygénation, la conductivité, la solubilité de différentes substances, ect...

La température de l'eau joue un rôle non négligeable dans l'intensité de la sensation de l'eau. Elle est le facteur le plus apprécié pour une eau destinée à la consommation humaine, et aussi dans l'augmentation de l'activité chimique bactérienne et de l'évaporation des eaux. Elle varie en fonction de la température extérieure (l'air), des saisons, de la nature géologique et de

la profondeur du niveau d'eau par rapport à la surface du sol (Gregorio et Pierre-Marie, 2007 ; Rodier, 1996)

La mesure de la température s'effectue sur le terrain à l'aide d'un thermomètre ou d'un multi-paramètre en plongeant immédiatement les sondes dans l'eau à analyser. La lecture s'affiche sur l'écran exprimée en degré Celsius (°C) (Rodier et *al.*, 2009 ; Rodier, 1996 ; Boukrouma, 2008). Généralement, les appareils de mesure de la conductivité ou du pH possèdent un thermomètre intégré (Rodier et *al.*, 2009)

4-2-2- Le potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH mesure la concentration en ion H⁺. Il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14, 7 étant le pH de neutralité. Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique et dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau. (Castany et Margot, 1977). Il joue aussi un rôle primordial dans les processus biologiques qui exigent des limites très étroites de pH (Zeddouri, 2003). Sans oublier que la mesure du pH donne des renseignements importants sur la nature des eaux (Detay, 1993). D'une façon générale, le pH des eaux naturelles est lié à la nature de terrains traversés, il varie habituellement entre 7,2 et 7,6, il est calculé à partir du nombre d'ions hydrogène présents. Il est recommandé de déterminer le pH de l'eau in situ de façon à ne pas modifier les équilibres ioniques par suite d'un transport ou d'un séjour plus ou moins prolongé des échantillons d'eau dans des flacons (Rodier, 1996).

Le pH doit être impérativement mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre ou par Colorimétrie (DeVillersi et Squilbin, 2005)

Tableau 03 : Classification des eaux d'après leur pH [18].

pH	Nature de l'eau
pH<5	Acidité forte : présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
pH=7	PH neutre
7 <pH<8	Neutralité approchée : majorité des eaux de surface
5,5<pH<8	Majorité des eaux souterraines
pH>8	Alcalinité forte, évaporation intense

4-2-3- La Conductivité électriques (CE)

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement, la mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau (Rodier et *al.*, 1996 ; Detay, 1993). Selon Rejsek (2002), la température et viscosité influent également sur la conductivité car la mobilité des ions augmente avec l'augmentation de la température et diminue avec celle de la viscosité.

La conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre ou d'un multi-paramètre de terrain, en plongeant l'électrode de l'appareil dans l'eau à analyser. Elle s'exprime en micro siemens par centimètre (Agrigon, 2000 ; Detay, 1993). La conductivité est très utile pour mettre en évidence la qualité de l'eau (Dahel Zanat, 2009).

Tableau 04 : Guide de la conductivité d'une eau destinée à la consommation humaine (Aouissi, 2010)

Conductivité à 20°C (µS/cm)	Qualité de l'eau
50 à 400	Qualité excellente
400 à 750	Bonne qualité
750 à 1500	Qualité médiocre mais eau utilisable
>1500	Minéralisation excessive

4-2-4- L'oxygène dissous

L'oxygène dissous est un composé essentiel de l'eau car il conditionne la vie des microorganismes aquatiques et généralement le fonctionnement de cet écosystème (Rodier, 1996). La diminution de sa teneur génère un milieu favorable à la fermentation et aux dégagements d'odeurs. Sa solubilité est en fonction de la température, la pression partielle dans la l'atmosphère et de la salinité (Aouissi, 2010). La mesure de l'oxygène dissous est importante car elle permet de fournir des informations concernant la dégradation de substances organiques, la provenance de l'eau, la mobilisation potentielle de certains métaux,etc. (Thierrin et *al.*, 2001).

La détermination de l'oxygène dissous (O₂) est réalisée sur terrain à l'aide d'un oxymètre portatif, en plongeant l'électrode de l'appareil dans l'eau à analyser et procéder à la mesure sans délai. Le temps de stabilisation de mesure est d'environ 1 minute. La concentration en oxygène dissous varie de manière journalière et saisonnière, car elle dépend de nombreux facteurs ; tels que la pression partielle en oxygène de l'atmosphère, la température de l'eau, la salinité, la pénétration de la lumière, l'agitation de l'eau et la disponibilité en nutriment (Merabt, 2010). La concentration en oxygène dissous dans l'eau est communément exprimée en milligramme par litre (mg/l) ou en pourcentage de saturation. (Hedahdia et Aliouche, 2017)

4-2-5- La salinité

La salinité est la masse de sels (composés ioniques) dissous dans un litre d'eau. (Rodier et *al.*, 2009). Est un facteur écologique majeur, une salinisation du milieu entraîne une modification importante de la biocénose, sans qu'il s'agisse forcément d'un appauvrissement, donc d'une pollution. La présence de sel dans l'eau modifie certaines propriétés (densité, compressibilité, point de congélation, température du maximum de densité). D'autres (viscosité, absorption de la lumière) ne sont pas influencées de manière significative. En fin, certaines sont essentiellement déterminées par la quantité de sel dans l'eau (conductivité, pression osmotique) (Aberkane, 2011).

Le chlorure de sodium (NaCl) n'est qu'un de très nombreux sels composant l'eau. Pour la mesure de la salinité en utilise un multi-paramètre. [19].

De nos jours, la détermination de la salinité par leur méthode dite «par titrage de la chlorinité» est abandonnée au profit d'une mesure de conductivité de l'eau, plus facile à mettre en œuvre (Boukrouma, 2008).

4-2-6- Taux des sels dissous (TDS)

La quantité des sels minéraux dissous influence la conductivité, la mesure qui permet de déterminer la quantité totale des sels minéraux dissous dans l'eau qui est appelée le TDS [19]. La minéralisation est fonction de la géologie des terrains traversés. D'une façon générale, elle est plus élevée dans les eaux souterraines que dans les eaux superficielles. Une eau, dont la minéralisation est inférieure à 600 mg/l, est généralement considérée comme

bonne. La mesure de la TDS se fait à l'aide d'un multi-paramètre ou un TDS- mètre en mettant une quantité de l'eau à analyser dans une cuve stérile et introduire cette eau dans l'une des appareils (Rodier, 1996)

4-3- Analyse au laboratoire

Les analyses physico-chimiques effectuées au laboratoire sont : la dureté de l'eau, la turbidité, la matière en suspension, la résistivité, l'alcalinité, le dosage de calcium(Ca^{2+}), le magnésium(Mg^{2+}), le chlorure(Cl^-), les nitrites(NO_2^-), l'ammonium(NH_4^+), l'Ortho-phosphate sont réalisées par plusieurs méthodes tels que : la complexométrie par titrage de (l'EDTA), titrimétrie, centrifugation, spectrophotométrie (Bengrait et al., 2012)

4-3-1-Dureté de l'eau

La dureté de l'eau est due principalement à la présence de sels de calcium et de magnésium sous forme de bicarbonates, de sulfates et de chlorures. C'est donc la concentration en ions alcalino-terreux, que l'on mesure globalement par le titre hydrotimétrique TH (Detay, 1993)

La dureté s'exprime souvent en ppm m/V (ou mg/L) de CaCO_3 ou en degré français ($^\circ\text{f}$) en France selon le classement suivant :

Tableau 05 : Classement des eaux suivant leur dureté (Aouissi, 2010)

Dureté (F°)	Qualification de l'eau
0 à 7°	Eau très douce
7 à 14°	Eau douce
14 à 20°	Eau moyennement dure
20 à 30°	Eau assez dure
30 à 50°	Eau dure

50° et plus	Eau très dure
-------------	---------------

Le dosage de la dureté totale est effectué par la méthode titrimétrique à l'EDTA. Cette méthode n'est pas applicable aux effluents et aux eaux de mer et aux eaux ayant une forte teneur en sels, donc applicable pour les eaux souterraines, les eaux de surfaces et les eaux potables (Ayad, 2017)

4-3-2- La turbidité

La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspension finement divisées : argiles, limons, grains de silice, matières organiques, algues, micro-organismes, ect. C'est un paramètre important dans le contrôle de la qualité des eaux (Rodier, 1984 ; OMS, 1986). La mesure de la turbidité de l'eau peut s'effectuer en utilisant l'effet Tyndall ou l'opacimétrie. L'effet Tyndall est utilisé plus spécialement pour la mesure des faibles turbidités (eau de boisson), et l'opacimétrie est appliquée aux eaux de fortes turbidités (eaux brutes, eaux résiduaires) (Rodier et al., 2009). On mesure la turbidité à l'aide d'un turbidimètre. Cet instrument envoie un rayon de lumière à travers un échantillon d'eau et mesure la quantité de lumière qui passe à travers l'eau par rapport à la quantité de lumière qui est réfléchiée par les particules dans l'eau. La valeur de la turbidité est obtenue directement en NTU (Unité de Turbidité Néphélométrique) (Ladjel, 2009).

La mesure de turbidité fut effectuée au laboratoire par la méthode spectrométrique. (Kerifi et Achi, 2016)

4-3-3- La matière en suspension (MES)

Ce sont des particules solides très fines et généralement visible à l'œil nu, ces particules peuvent être d'origine minérale (argile, limons, sables,...) ou organique (produits de la décomposition des matières végétales ou animales) (Charchar, 2009). La quantité de matières en suspension varie notamment selon les saisons et le régime d'écoulement des eaux. Les matières en suspension sont exprimées en mg/l (Lounnas, 2008). Cependant des teneurs élevées en MES peuvent affecter les propriétés habituel d'une eau :

Changement de coloration et augmentation de la turbidité ;
Empêcher la pénétration de la lumière, (diminution de la transparence de l'eau) ;
Élévation de la température (les MES absorbent l'énergie solaire) ;
Diminuer l'oxygène dissous et limiter alors le développement de la vie aquatique et déséquilibres entre diverses espèces ;

Elle peut être responsable de l'asphyxie des poissons par colmatage des branchies (Elafri, 2009)

La détermination des matières en suspension dans l'eau s'effectue par filtration ou par centrifugation. (Ayad, 2017 ; Reggam, 2015). L'eau est filtrée et le poids de matières retenus par le filtre est déterminé par pesée différentielle (Benfettoume, 2015)

4-3-4- La résistivité

La résistivité électrique est l'inverse de la conductivité et donne aussi une idée de la minéralisation globale de l'eau destinée à la consommation humaine. Une eau pure ou qui vient d'être distillée conduit mal au courant électrique (forte résistivité) mais dès que cette eau se charge en matières organiques ionisées, sa conductivité qui devient alors élevée. La mesure de la résistivité se fait dans laboratoire à l'aide d'un multi-paramètre. L'unité de la résistivité est l'ohm-cm. La relation entre la résistivité et la conductivité est la suivante : [20].

$$\text{Résistivité } (\Omega.\text{cm}) = 1000000 / \text{Conductivité } (\mu\text{s/cm})$$

4-3-5- Alcalinité

L'alcalinité d'une eau correspond à sa capacité à réagir avec les ions hydrogènes (H⁺) qui est due à la présence des ions hydrogénocarbonate (HCO₃⁻), carbonate (CO₃²⁻) et hydroxyde (OH⁻). Elle dépend aussi des rejets urbains (phosphate, ammoniacque, matières organiques,...) ou industriels (apport basique ou acides) (Rejsek, 2002)

On distingue deux titres alcalimétriques, le titre alcalimétrique simple (TA) et le titre alcalimétrique complet (TAC). Le titre alcalimétrique (TAC) d'une eau permet de connaître sa concentration en bicarbonates (HCO₃⁻) autrement dit son alcalinité. Cependant, Quand le pH augmente, les bicarbonates se transforment en carbonates. Ce dernier dépend de l'équilibre du pH et de la pression du CO₂.

Le titre alcalimétrique a été dosé en neutralisant les ions hydroxydes et transformation des ions bicarbonates en hydrogencarbonates par l'acide sulfurique (H_2SO_4 à 0,02N) en présence de phénolphtaléine (pour le TA) et de méthyle orange (pour le TAC) comme indicateur coloré (Selon la norme AFNOR T90-036) (Chaoui, 2013)

La détermination de l'alcalinité s'effectue par la méthode de la titrimétrie. Cette méthode est basée sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré (Rodier, 2005)

4-3-6- Le Calcium (Ca^{2+})

Le calcium est un composant majeur de la dureté de l'eau. Sa teneur est liée directement à la nature géologique des terrains traversés. Il existe à l'état d'hydrogencarbonates et en quantité moindre, sous forme de sulfates, chlorure...ect. Sa présence dans l'eau est liée principalement à deux origines naturelles, soit la dissolution des formations carbonatées $CaCO_3$, soit la dissolution des formations gypseuses ($CaSO_4$) (Berne et Jean, 1991). L'influence de calcium sur la santé de l'individu a été souvent discutée. Cependant, les chercheurs et les études statistiques ont montré qu'il n'y aurait pas de relation dose effet avec la teneur de cet élément dans l'eau. Les eaux potables, de bonne qualité, renferment de 100 à 140 mg/l de calcium soit 150 à 200mg/l en CaO ou 250 à 350 mg/l en $CaCO_3$ (Rodier, 1996)

Le calcium est dosé par méthode complexométrie par titrage à l'EDTA en présence d'un indicateur coloré (Murexide) et une solution d'hydroxyde de sodium 2N (Rodier, 2009), qui forme un complexe avec les ions calcium de coloration rouge. Lors du titrage, l'EDTA réagit avec les ions calcium. La fin de la réaction est visualisée par l'indicateur devenu libre, de couleur violette (Cardot et Gilles, 2013)

4-3-7- Magnésium (Mg^{2+})

Le magnésium est l'un des éléments le plus répandu dans la nature ; il constitue environ 2.1% de l'écorce terrestre. La plupart de ces sels sont très solubles dans l'eau. Il constitue un élément significatif de la dureté de l'eau (Rodier, 1996)

Les principales sources du magnésium contenu dans ces eaux sont les minéraux ferromagnésiens des roches ignées et les carbonates de magnésium des roches sédimentaires. Il constitue un élément significatif de la dureté de l'eau (Reggam, 2015)

Le magnésium est estimé par la différence entre la dureté et le calcium exprimés en mg/l. (Rodier, 2005)

$$[\text{TH}] = [\text{Mg}^{2+}] + [\text{Ca}^{2+}]$$

$$[\text{Mg}^{2+}] = [\text{TH}] - [\text{Ca}^{2+}].$$

Le dosage de magnésium a été effectué par utilisation de la méthode de complexométrie (Cardot et Gilles, 2013). Le titrage molaire des ions calcium et magnésium avec une solution aqueuse de sel disodique d'acide éthylène-diamine tétra acétique (EDTA) à un pH=10. Le Noir Eriochrome T qui donne une couleur rouge foncé au violette en présence des ions calcium et magnésium, est utilisé comme indicateur (Benfettoume, 2015). Le résultat est exprimé en mg/l. (Rodier, 1984)

4-3-8- Le Chlorure(Cl⁻)

Le chlorure est un sel mobile, non toxique, très répandu dans la nature sous forme de sels de sodium (Na Cl), de potassium (KCl) et de calcium (CaCl₂). Un surdosage en chlorure dans l'eau, peut être à l'origine d'une saveur désagréable surtout lorsqu'il s'agit de chlorure de sodium. Au-delà d'une concentration de 200 mg/l de chlorure, des risques peuvent s'apercevoir sur le plan sanitaire (Bouziani, 2000)

Le dosage des chlorures est effectué par l'utilisation de la méthode de « MOHR » (Ayad, 2017). Les ions chlorures réagissent avec les ions argent pour former un précipité blanc de chlorure d'argent. L'indicateur de réaction est le chromate de potassium (K₂CrO₄) qui donne avec les ions d'argent, en milieu neutre, un précipité rougeâtre (rouge brique) de chromate d'argent qui commence à apparaître lorsque les ions chlorures ont réagi (Bounab, 2016)

4-3-9- Les nitrites (NO₂⁻)

Ce sont des composés intermédiaires entre l'ammoniaque et les nitrates qui résultent de la réduction des nitrates par action bactérienne. Leur présence peut indiquer une pollution

organique (faible taux d'oxygénation) mais ils aussi exister dans des eaux bien oxygénées (Benmessaoud, 2007). Une eau contenant des nitrites est à considérer comme suspecte car cette présence est souvent liée à une détérioration de qualité microbiologique. (Rejsek, 2002)

Le dosage des nitrites est effectué par la méthode colorimétrie et la lecture se faite à l'aide d'un spectrophotomètre adapté (Rodier, 2009). Les ions nitrites réagissent en milieu acide avec la sulfamide en formant sel de diazonium qui avec le N-(1-naphtyl)-éthylènediamine-dichlorhydraté un colorant azoïque rouge (Benfettoume, 2015). La quantité des nitrites est exprimée en mg/l (Rodier, 1984)

4-3-10-Ion ammonium (NH_4^+)

L'ammonium dans l'eau traduit habituellement un processus de dégradation incomplet de la matière organique. L'ammonium provient de la réaction de minéraux contenant du fer avec des nitrates. C'est donc un excellent indicateur de la pollution de l'eau par des rejets organiques d'origine agricole, domestique ou industriel (Rodier et al., 20015)

Le dosage d'ammonium est effectué par la méthode colorimétrique et la lecture se fait à l'aide d'un spectrophotomètre adapté (Rodier, 2009). Le réactif de Nessler (iodo-mercurate de potassium alcalin) en présence d'ions ammonium est décomposé avec formation d'iodure de dimercure ammonium qui permet le dosage colorimétrique des ions ammonium. L'ammonium est exprimé en mg/l (Rodier, 1984)

4-3-11- Ortho-phosphate (PO_4^-)

Le phosphate est un élément assez rare mais indispensable à tous les êtres vivants. Il entre notamment dans les cycles énergétiques cellulaires les phosphates font partie des anions facilement fixés par le sol, leur présence naturelle dans les eaux est liée aux caractéristiques des terrains traversés et à la décomposition de la matière organique. (Ramade, 1982). Les phosphates proviennent principalement de l'activité agricole, les eaux usées domestiques et de l'activité industrielle (Morabbi et Souabni, 2013)

Le dosage de l'Ortho-phosphate est effectué par la méthode colorimétrie et la lecture se fait à l'aide d'un spectrophotomètre adapté (Rodier, 2009). Les ions ortho-phosphates en solution acide(H_2SO_4) et en présence de molybdate d'ammonium forment un complexe

phospho-molybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, donne un complexe de molybdène fortement coloré en bleu. Le développement de la coloration est accéléré par l'utilisation d'un catalyseur le tartrate double d'antimoine et de potassium (Rodier, 1996). Les ortho-phosphate exprimés en mg/l. (Rodier, 1984).

5-Analyses Microbiologique

Une analyse microbiologique doit permettre d'isoler et d'identifier un microorganisme spécifique (méthode qualitative) ou de quantifier une flore particulière dans un échantillon (méthode quantitative) [21]. Les analyse microbiologiques a pour le but de déterminé la présence ou non des bactéries susceptibles de modifier l'aptitude d'une eau a une utilisation donnée (Rodier, 2005)

Dans la plupart des examens usuels, l'analyse n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative, ces déterminations sont établies à partir soit d'un dénombrement direct des colonies après concentration par filtration ou par inoculation d'un volume donnée de l'échantillon en milieu solide. Soit d'une évaluation par calcul statistique du nombre plus probable (NPP). Le choix de méthodes ne dépendra pas seulement de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitée. (Rodier, 2005)

5-1-Analyses bactériologiques

Les méthodes d'analyse bactériologiques de l'eau sont l'étude de la variation de la population bactérienne globale, le dénombrement et la recherche des bactéries d'origine fécale et la recherche des bactéries pathogènes (Guiroud, 1998)

- **Les dilutions des échantillons d'eau**

Une dilution est une opération réalisée sur solution, elle consiste à y ajouter une quantité supplémentaire de solvant dans le but de faire diminuer la concentration des solutés [22].La dilution peut être importante lorsqu'il s'agit d'une substance inconnue, Une dilution peut être effectuée non seulement pour réduire la concentration de l'analyte testé de façon à ce qu'il rentre dans la plage, mais aussi pour aider à éliminer les interférences provenant d'autres

substances qui peuvent être présentes dans l'échantillon et modifier artificiellement l'analyse [23].

Une dilution s'accompagne toujours d'une diminution de concentration qui entraîne une modification des caractéristiques physico-chimiques. Ces dernières tendent à s'atténuer :

- La couleur s'éclaircit
- Le goût devient moins prononcé
- La masse volumique et la densité diminuent
- L'acidité ou la basicité diminue
- La conductivité diminue
- D'une manière générale les éventuelles transformations chimiques sont plus lentes [22].

Diluer une solution, c'est, en ajoutant un solvant, obtenir une nouvelle solution moins concentrée en soluté que la solution initiale. La solution initiale est appelée solution mère de concentration notée SM. Lorsqu'on dilue cette solution, on obtient une nouvelle solution appelée solution fille de concentration notée Sf. Lors d'une dilution, la concentration molaire diminue, mais la quantité de matière ne change pas [24].

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 (Boucenina, 2018). (Figure 08)

➤ **Les dilutions :**

- Dilution 10° : consiste à la prise directe de la solution mère
- Dilution 10-1 : dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1ml d'eau à analyser (10°) (solution mère).
- Dilution 10-2 : dans un deuxième tube à essai, on ajoute 1ml de la dilution 10-1 à 9ml d'eau distillée stérile l'agitation du contenu est nécessaire avant de préparer chaque dilution (Dahelzanat, 2009).

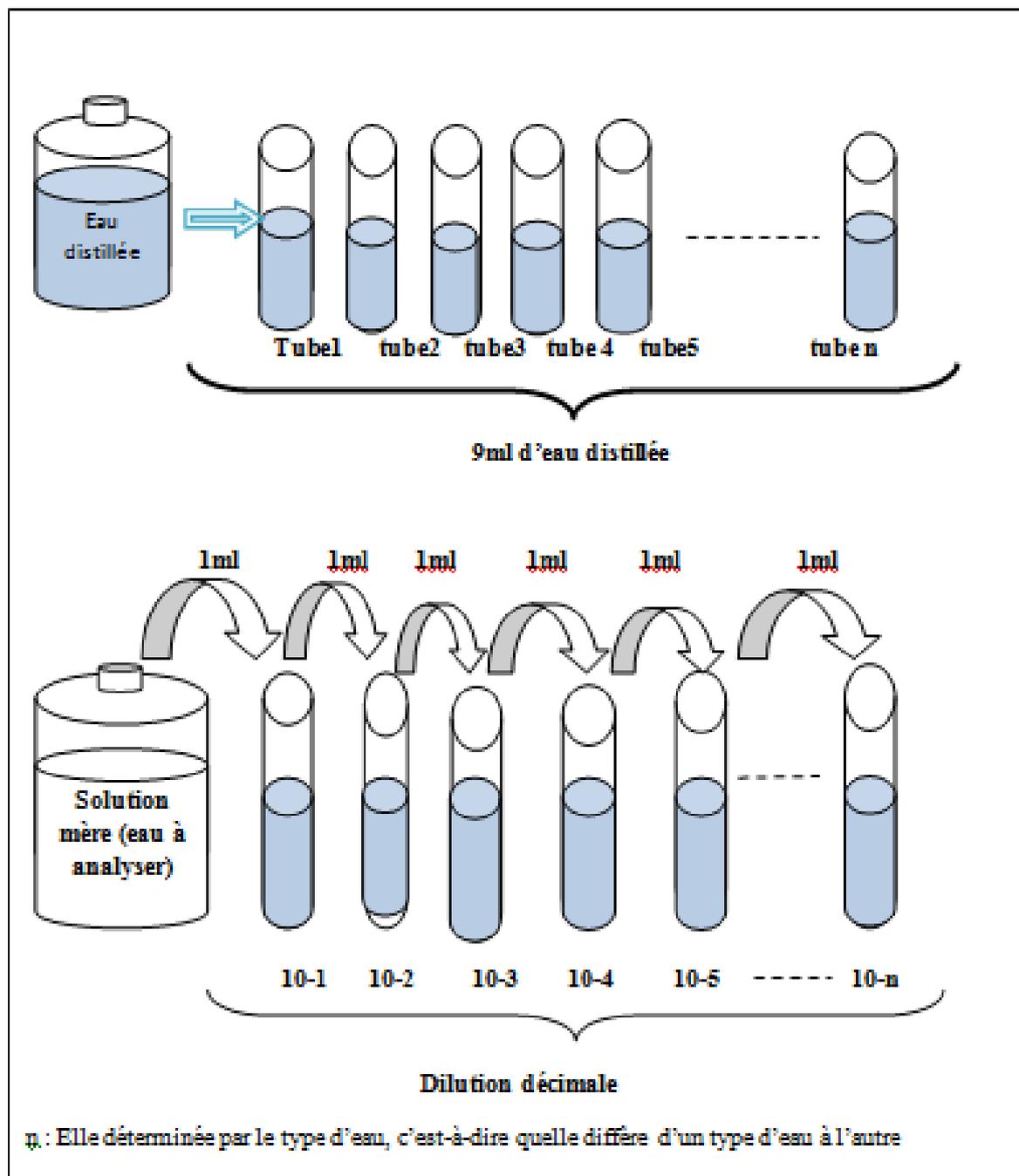


Figure 08 : Protocole de dilution [25].

5-1-1-Recherche et dénombrement des germes aérobies revivifiables (Germes totaux)

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits « revivifiables » permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle. Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique. (Lebres et *al.*, 2006 ; Raggam, 2015). Les microorganismes revivifiables ne sont pas des germes indicateurs de contamination fécale. Ils sont encore appelés « Germes totaux ou flore totale » (Delerras, 2003).

La recherche et le dénombrement des germes revivifiables se réalisent par la méthode d'incorporation qui vise à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre de microorganismes, en particulier de bactéries se développant dans les conditions aérobies habituelles de culture. Cette méthode est la plus employée pour les analyses à but sanitaire (Raggam, 2015)

L'eau est inoculée par incorporation dans un milieu strictement défini non sélectif. (Rodier et *al.*, 2009). L'incubation se réalise à deux températures différentes afin de cibler les micro-organismes psychrophiles (22°C) et les micro-organismes mésophiles (37°C) (Rejesk, 2002). Le milieu de culture est la gélose glucosée tryptonée à l'extrait de levure (TGEA) ou Gélose nutritif (GN)

Après la période d'incubation spécifiée, nous procédons, à l'aide d'un compteur, à la numération des colonies pour chaque boîte. Une première lecture se fera à 24 heures, une seconde à 48 heures, et une dernière à 72 heures, (les colonies se présentent sous forme lenticulaire en masse) (Terbeche, 2006)

Les germes totaux se présentent sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse ; Il s'agit de dénombrer les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies. Les résultats sont exprimés en unité formatrice de colonies (UFC) par ml d'eau à analyser à 22°C et 37°C (Lebres, 2002)

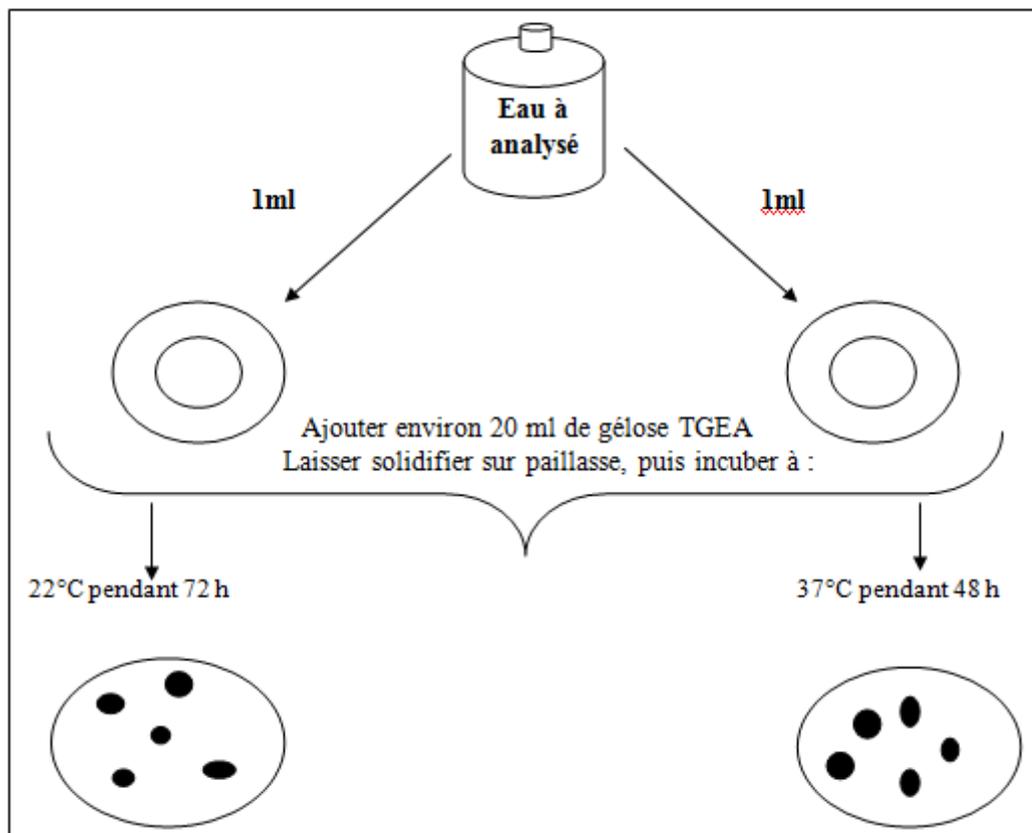


Figure9 : Dénombrement des micro-organismes révivifiables à 22°C et à 37°C dans les eaux (Lebres et Moffok, 2008)

5-1-2-Recherche et dénombrement des germes indicateur de contamination fécale

Les indicateurs de contamination fécale permettent d'apprécier, avec plus ou moins de sûreté ou de précocité, le risque d'une contamination par des matières fécales peuvent véhiculer des microorganismes pathogènes. On peut distinguer deux groupes de bactéries indicatrices de contamination fécale : les indicateurs spécifiques et les indicateurs non spécifiques (Rodier, 2009).

Les indicateurs spécifiques sont des espèces que l'on rencontre exclusivement dans les matières fécales : les streptocoques fécaux et les coliformes fécaux ou thermo-tolérants présents en concentration importante dans les selles des mammifères. Les indicateurs non spécifiques qui sont essentiellement les coliformes totaux et les clostridium sulfite-réducteurs,

peuvent se retrouver dans les matières fécales mais également vivre et se multiplier dans les milieux naturels (Rejesk, 2002)

5-1-2-1- Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d'*Escherichia coli*

Les coliformes sont des bacilles à Gram négatives, aérobies ou anaérobies facultatif, regroupe plusieurs espèces bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae*, non sporulé ne possédant pas d'oxydase, capable de se multiplier en présence des sels biliaires et capable de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37°C (Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998 ; Camille, 2003 ; Lebres et Mouffok, 2008)

Les coliformes totaux sont utilisés comme indicateurs de pollution d'origine organique (Merzoug, 2009)

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermo-tolérant, son un sous-groupe des coliformes totaux capable de fermenter le lactose à une température de 44°C. Et présentent les mêmes propriétés des coliformes après incubation à cette température (Edber et al., 2000). L'espèce la plus fréquemment associés à ce groupe bactériens est *Escherichia coli* (*E.coli*), dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Roux, 2003)

Escherichia coli ayant la particularité de produire l'indole à partir de tryptophane présent dans le milieu à une température comprise entre $42 \pm 2^\circ \text{C}$ (Bourgeois et Leveau, 1980 ; Denis et al, 2007).

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes détectés bien que la présence des coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale (Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998 ; Camille, 2003 ; Archibald, 2003).

La recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux et l'identification d'*E. coli* dans les eaux est effectués par la colimétrie qui se fait en deux étapes consécutives. Un test présomptif, réservé à la recherche des coliformes et un test confirmatif appelé test de Mac

Kenzie est réservé à la recherche des coliformes thermo-tolérants et d'*Escherichia coli*. (Lebres, 2002 ; Chaouche, 2007 ; Lebres et Mouffok, 2008)

❖ Test de présomption (Recherche des coliformes totaux)

Il est effectué en utilisant le bouillon lactose au Bromocrésole pourpre (BCPL). Tous les tubes sont munis de cloches de Durham pour déceler le dégagement éventuel du gaz dans le milieu. Avant d'ensemencer les tubes, il faut vérifier qu'il n'y a pas de bulles d'air sous la cloche, pour éviter de fausser les résultats (Mouffok, 2001 ; Lebres, 2002 ; Joffin Joffin, 1999). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (Lebres, 2006). Pour la lecture, seront considérés comme positifs les tubes présentent à la fois, un dégagement de gaz (supérieur au 1/10ème de la hauteur de la cloche) et un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (la fermentation du lactose se manifeste par la production d'acide entraînant le virage du bromocrésole pourpre au jaune) (Bougeois et Leveau, 1980). La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table Mac Grady NPP pour obtenir le nombre le plus probable de coliformes totaux dans 100 ml d'eau à analyser (Lebres et al., 2002)

❖ Test de confirmation

Le test de confirmation ou test de Mac Kenzie est basé sur la recherche de coliformes thermo-tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli* (Degremont, 2005). Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage dans le (ou les) milieu (x) de confirmation (Degremont, 2005 ; Rodier et al., 2009). Le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham et le milieu eau peptonée exempte d'indole sont les milieux utilisés pour le test de confirmation (Lebres et Mouffok, 2008). L'incubation se fait cette fois-ci à 44° pendant 24 à 48 heures (Lebres et Mouffok, 2008). Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un dégagement gazeux et un trouble dans le tube du milieu Schubert et un anneau rouge en surface comme témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de quelques gouttes du réactif de Kowacs dans le tube de l'eau peptonée exempte d'indole (Degremont, 2005). Le nombre de coliformes thermorésistants et d'*E. coli* présent dans l'échantillon d'eau est déterminé par la table de Mac Grady (Rodier, 2005) (Figure 11).

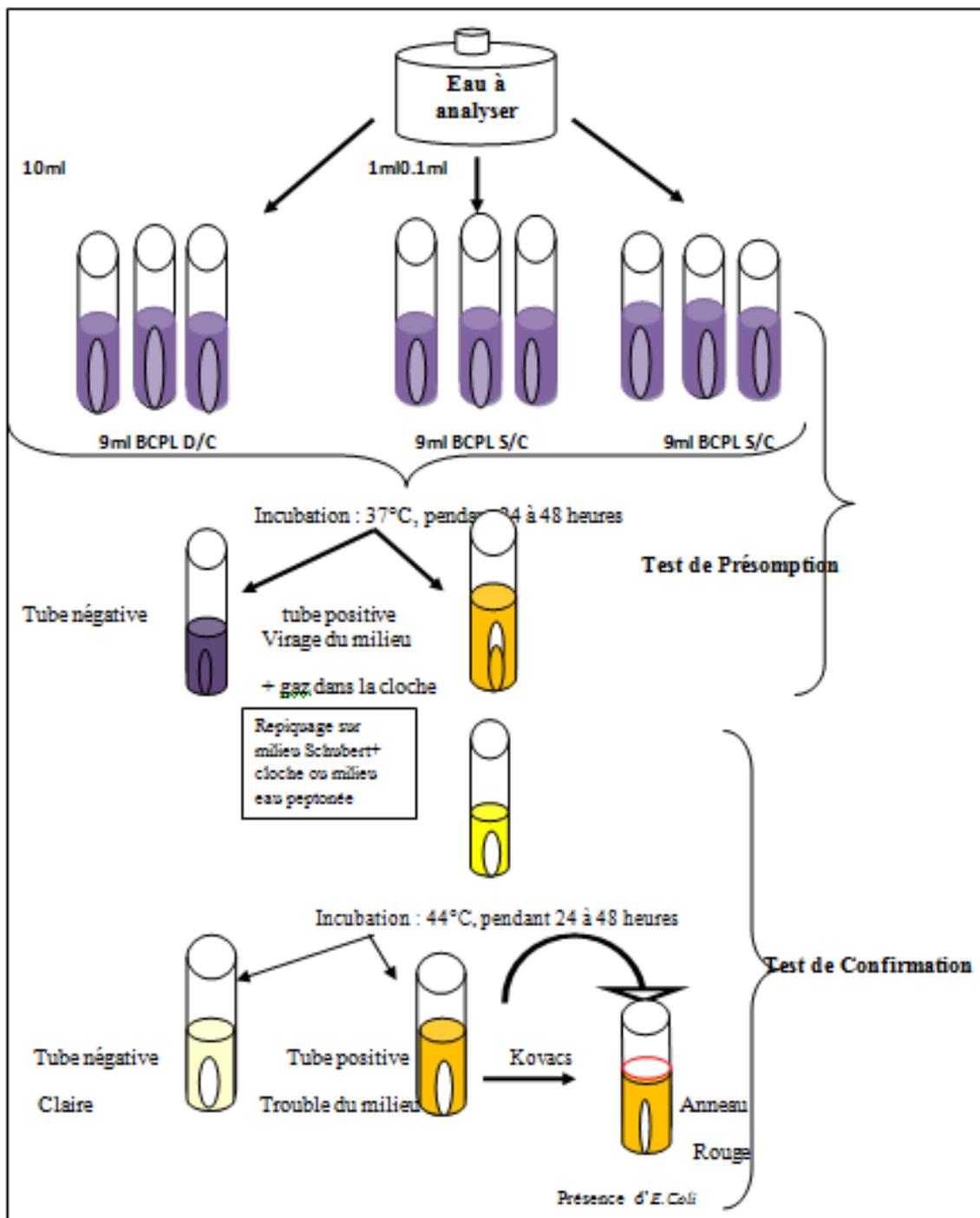


Figure 10 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et les coliformes thermotolérantes (Lebres et Mouffok, 2008)

5-1-2-2-Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux

Les streptocoques se caractérisent par leur morphologie (coques en chainettes), se présentent sous forme de cocci à Gram +, sphériques à ovoïdes formant des chainettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène de groupe D, et un métabolisme anaérobie (Pechère, 1982 ; Hidouci, 2009). Ils sont généralement pris comme des témoins de pollution fécale. (Bourgeois et *al.*, 1991). Les Streptocoques fécaux sont dénombrés en milieu liquide par la méthode du NPP à l'aide de deux bouillons de culture, milieu de Rothe et le milieu Eva Litsky. Cette méthode fait appel à deux tests consécutifs test de présomption suivi d'un test de confirmation (Chaouche, 2007 ; Lebres et Mouffok, 2008)

❖ Test de présomption

Réservé à la recherche des streptocoques. Il se fait en milieu Rothe simple concentration S/C (Brichaet *al.*, 2007 ; Mouffok, 2001). L'incubation est à 37°C pendant 24 à 48 heures (Lebres, 2002). Seront considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien (Rejesk, 2002)

❖ Test de confirmation

Réserver à la confirmation réelle des streptocoques fécaux du groupe (D) à partir des tubes positifs du test de présomption. (Chaouche, 2007). Les tubes de Rothe trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage dans un tube contenant le milieu Eva-Litsky (Rejesk, 2002 ; Lebres, 2002 ; Roux, 2003). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (Delarras, 2008).

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois un trouble microbien et une pastille violette au fond de tube. La lecture finale d'effectuée également selon les prescriptions de la table du NPP (Lebres, 2006)

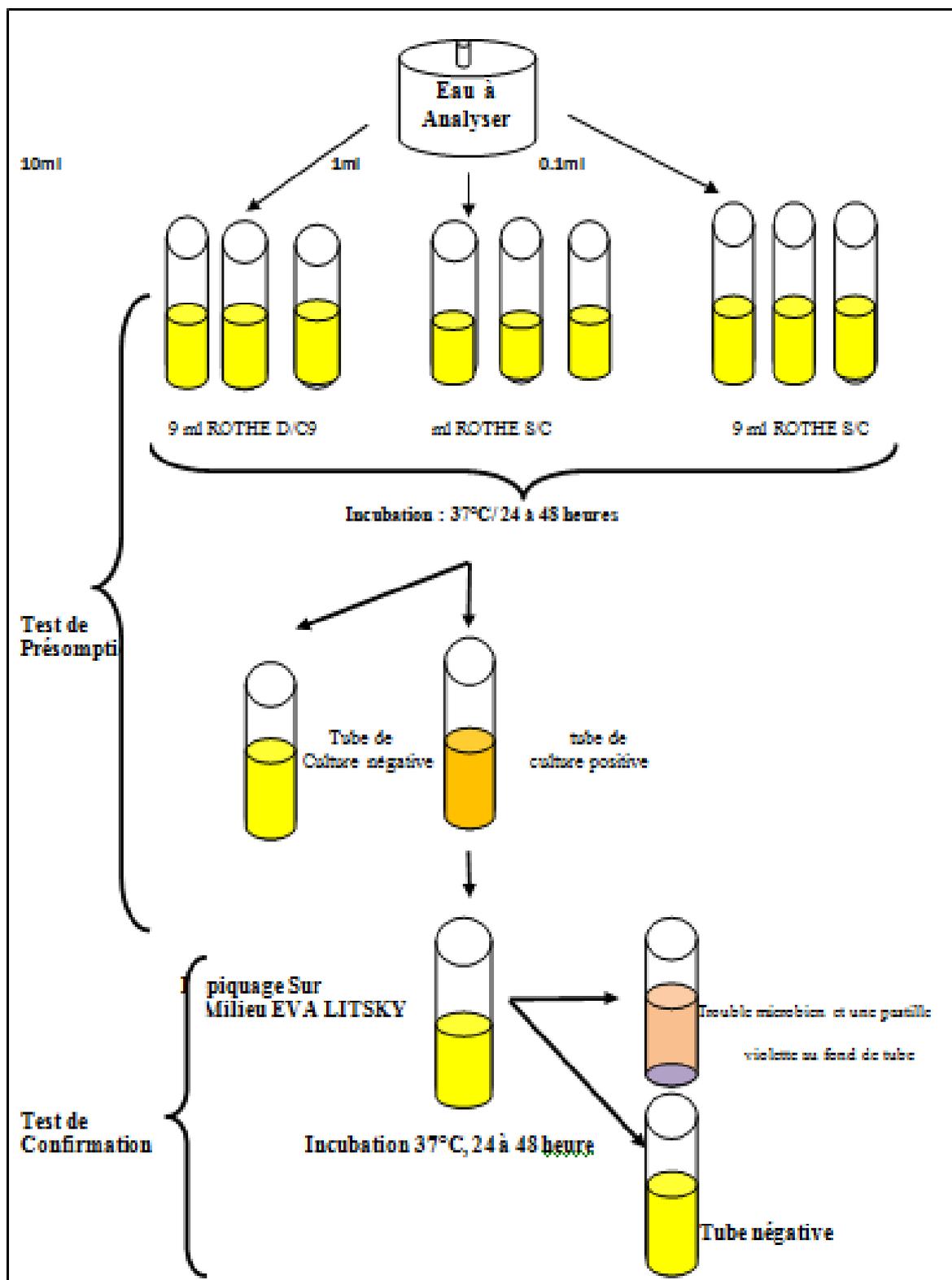


Figure 11 : Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux (Labres et Mouffok, 2008).

5-1-3-Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réducteurs (ASR)

Les bactéries anaérobies sulfite-réducteurs (ASR) sont des bacilles Gram positifs, anaérobies stricts, isolée ou en chaînette, mobile réduisent le sulfite de sodium en sulfure (Bourgeois et Leveau, 1980). Ils sont capables de sporuler et résistent longtemps dans l'environnement ; se développent à une température de 37°C en 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 (Lebres, 2002 ; Pechere et *al.*, 1982). Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (Rejsek, 2002).

La recherche et le dénombrement des *Clostridium* sulfite-réducteurs s'effectuent par incorporation en gélose Viande-foie. Et puis l'additionnement d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium (Ayad, 2017 ; Raggam, 2015). L'incubation se fait à 37°C pendant 16 à 48 heures. (Lebres, 2002). Considéré comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfite-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir (Rodier, 2009)

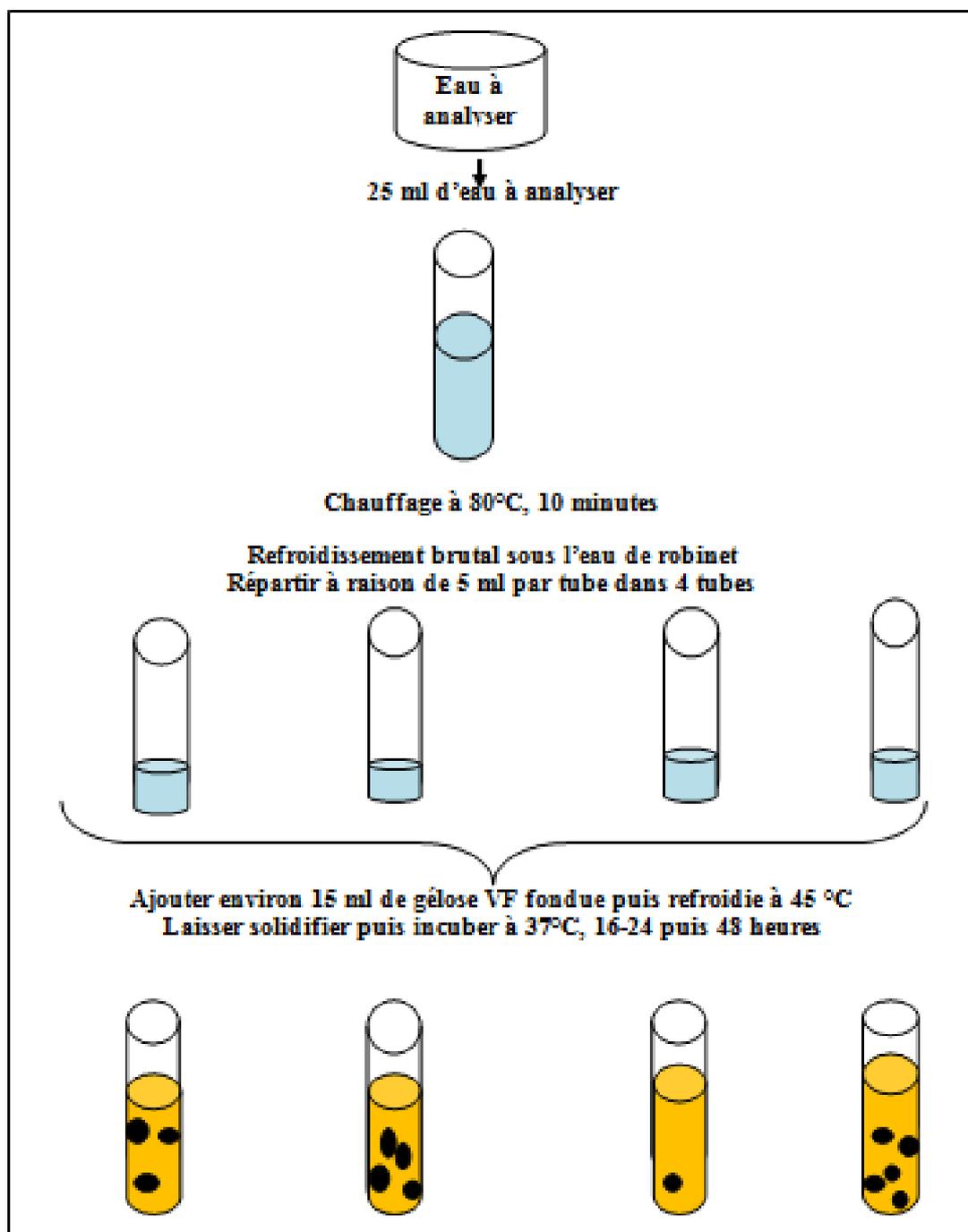


Figure 12 : Recherche et de dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite réducteurs (ASR)(Lebres et Mouffok, 2008).

5-1-4-Recherche des germes pathogènes

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'homme dans tous les types d'eaux. Celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains, soit étant autochtones et pouvant s'adapter à l'homme.

5-1-4-1-Recherche des salmonelles

Les salmonelles appartiennent à la famille des Entérobactériaceae (Belle et *al.*, 2010). Les *Salmonella* sont des bacilles Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs, mobiles, non sporulées, catalase (+), oxydase (-), réduisant les nitrates en nitrites, fermentant le glucose avec production de gaz mais ne fermentent pas le lactose. Se développe à température de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ en 24 à 48 heures. Sur milieu Hektoen, elles forment de petites colonies, lisses à contours réguliers, pigmentées en vert ou en bleu vert à centre noir. Les salmonella se divisent en deux grands groupes : les mineures et les majeurs qui sont hautement pathogènes (Bouchanan et Gibbons, 1974 ; Leminor et veron, 1989 ; Pechère et *al.*, 1982 ; Carbonnelle et kouyoumdjian, 1998)

La méthode de recherche de cette bactérie découle d'une part de leur présence en nombre relativement faible dans les eaux, ainsi que leur difficulté d'y survivre et d'autre part, l'existence habituelle d'un nombre important de germes d'accompagnement d'origine fécale ou non fécale. Ces constatations entraînent l'obligation d'utiliser des milieux d'enrichissement sélectifs dans le but d'inhiber le développement des autres bactéries (Rodier et *al.*, 1996).

Les salmonelles sont recherchées sur différents milieux de culture. Un milieu de pré-enrichissement nécessaire à la préparation de la solution mère. Un milieu d'enrichissement comme le milieu de Sélénite-Cystéine ou milieu Sélénite F Broth (SFB)(Rodier, 2009). A partir du bouillon d'enrichissement, l'isolement s'effectue sur le milieu Héctoën et ou sur milieu salmonella shigella (SS), l'incubation se fait à 37°C , pendant 24 heures (Rodier et *al.*, 1996). Sur ce dernier milieu les salmonella se présentent sous formes des colonies de couleur gris bleu à centre noir (Rejesk, 2002 ; Delarras, 2008). Ces colonies seront subir une identification morphologique et biochimique qui se déroule selon les étapes suivantes :

Observation macroscopique,
 Examen microscopique : état frais et coloration de Gram
 Ensemencement sur kligler- Hajene ou Triple Sugar Iron (TSI)
 Une identification biochimique (API 20^E) (Lebres, 2002).

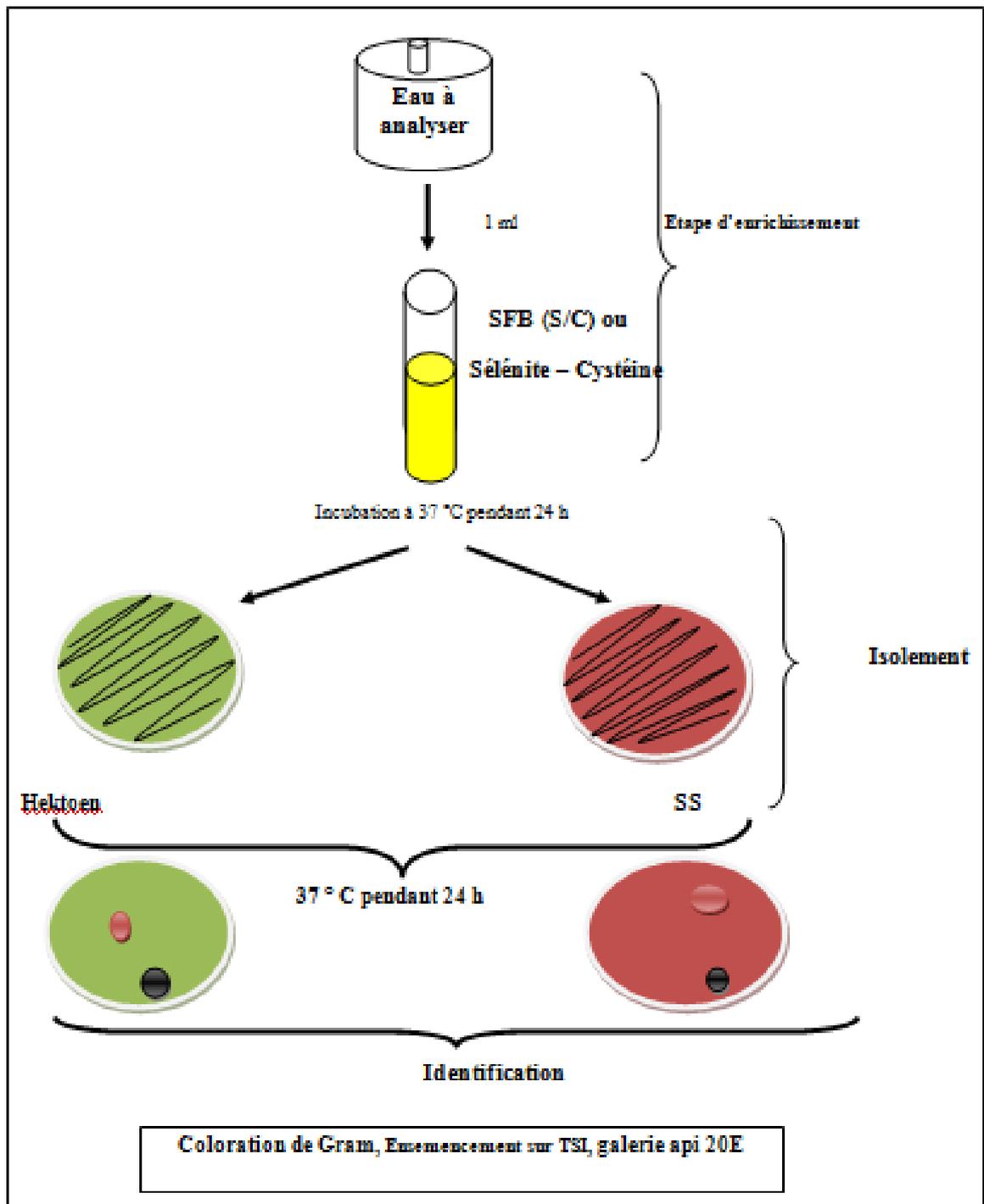


Figure 13 : Recherche et identification des salmonella dans les eaux (Rodier, 1996)

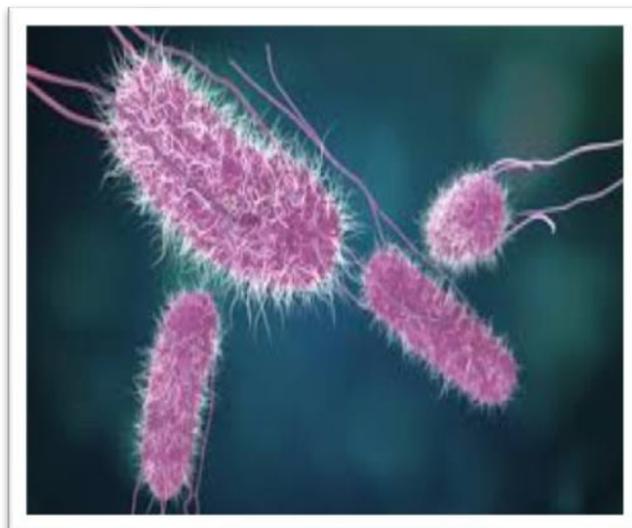


Figure 14 : *Salmonella* [26].

5-1-4-2-Recherche des Shigelles

Les Shigelles (bactéries du genre *Shigella*), sont des *Enterobactériaceae*, rencontrées exclusivement chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif (Beriche et *al.*, 1988), éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que peu de temps. Morphologiquement ce sont des bacilles Gram négatifs, immobiles ; dépourvus de spores et de capsules très proches du *E.coli* (Pechère et *al.*, 1982; Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998) . Classiquement elles sont divisées en 4 espèces sur la base des caractères biochimiques et antigéniques : *S. dysenteriae*, *S. flexneri* , *S. boydii* , et *S. sonnei* (Lebres, 2002).

Pour chercher les *Shigella*, à partir de l'échantillon mère on étale sur la surface des milieux géloses Hektoen, SS et Mac Conkey par la méthode des quatre quadrants. L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 à 48 heures (Abdellaoui et *al.*, 2012).

Les colonies obtenues seront subir une identification morphologique et biochimique qui se déroule selon les étapes suivantes :

Examen microscopique : état frais et coloration de Gram

Ensemencement d'un tube de Kligler-Hajne ou TSI

Identification biochimique par une galerie classique ou une galerie biochimique API 20^E (Lebres, 2002).

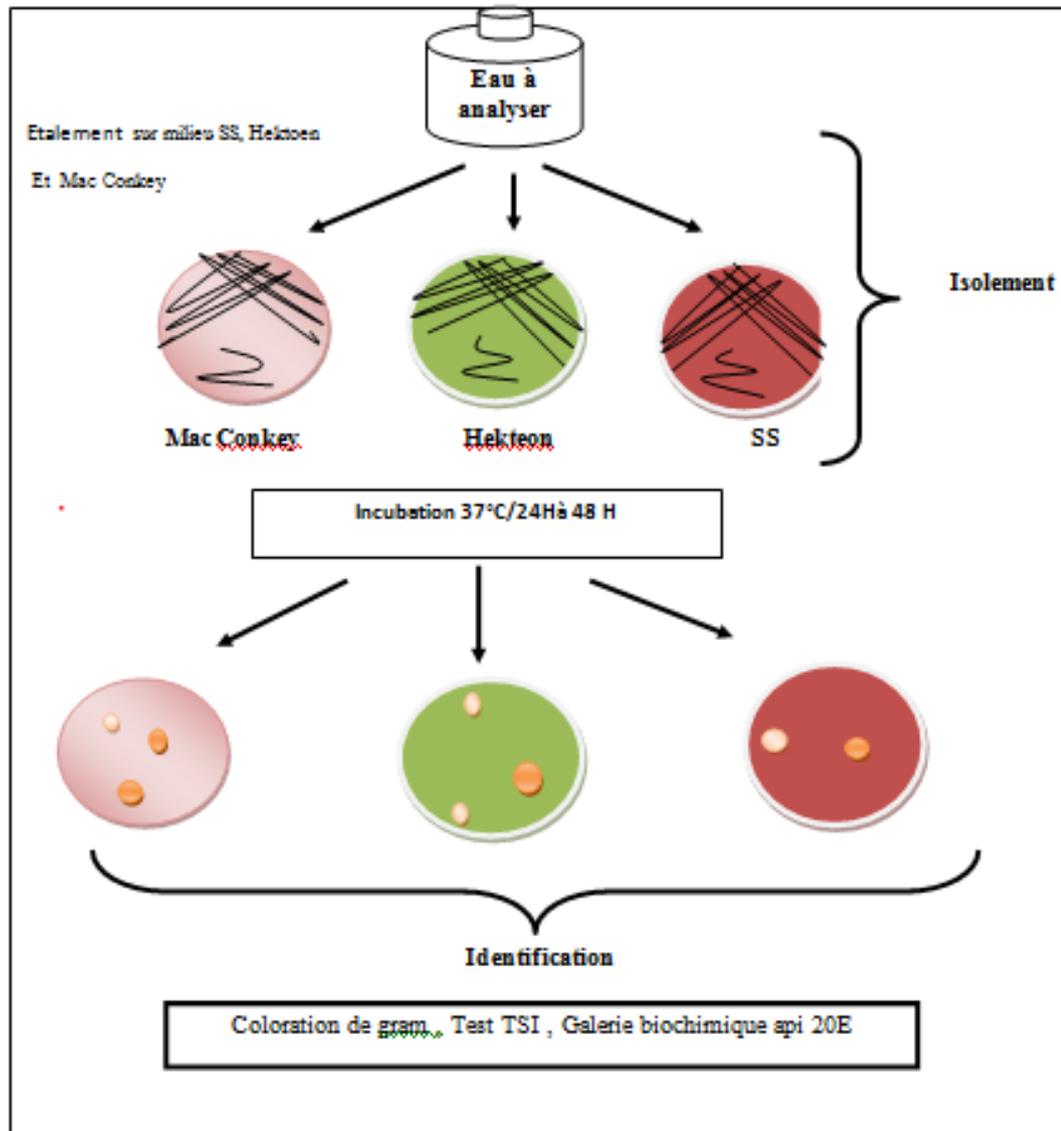


Figure 15 : La recherche et identification des *Shigella* dans les eaux (Lebres et Mouffok, 2008).



Figure 16: *Shigella* [27].

5-1-4-3-Recherche des *Staphylocoques*

Les *staphylocoques* ont des cocci à Gram positif, immobiles, non sporulés, et aérobies ou anaérobies facultatifs, très répandus dans la nature (air, eau, sol) et vivent souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux. Le genre *Staphylococcus* est constitué de plusieurs espèces dont *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus* (Dellarras, 2008 ; Ferderighi, 2005).

Le milieu Chapman permet l'isolement sélectif de *staphylococcus* sur la base d'une tolérance à une forte teneur en Na Cl, et la différenciation de l'espèce *staphylococcus aureus* par la mise en évidence de la dégradation du mannitol et l'élaboration fréquente d'un pigment. Elles apparaissent alors en jaune, surmontant une zone jaune par la suite de la fermentation du mannitol (Marchal et al., 1982)

L'identification des *staphylocoques* nécessite la mise en œuvre de réaction spéciale au genre :

Etat frais et coloration de Gram

Test à la catalase

Oxydase

Manitole

Recherche de la coagulase libre (Rodier, 2005)

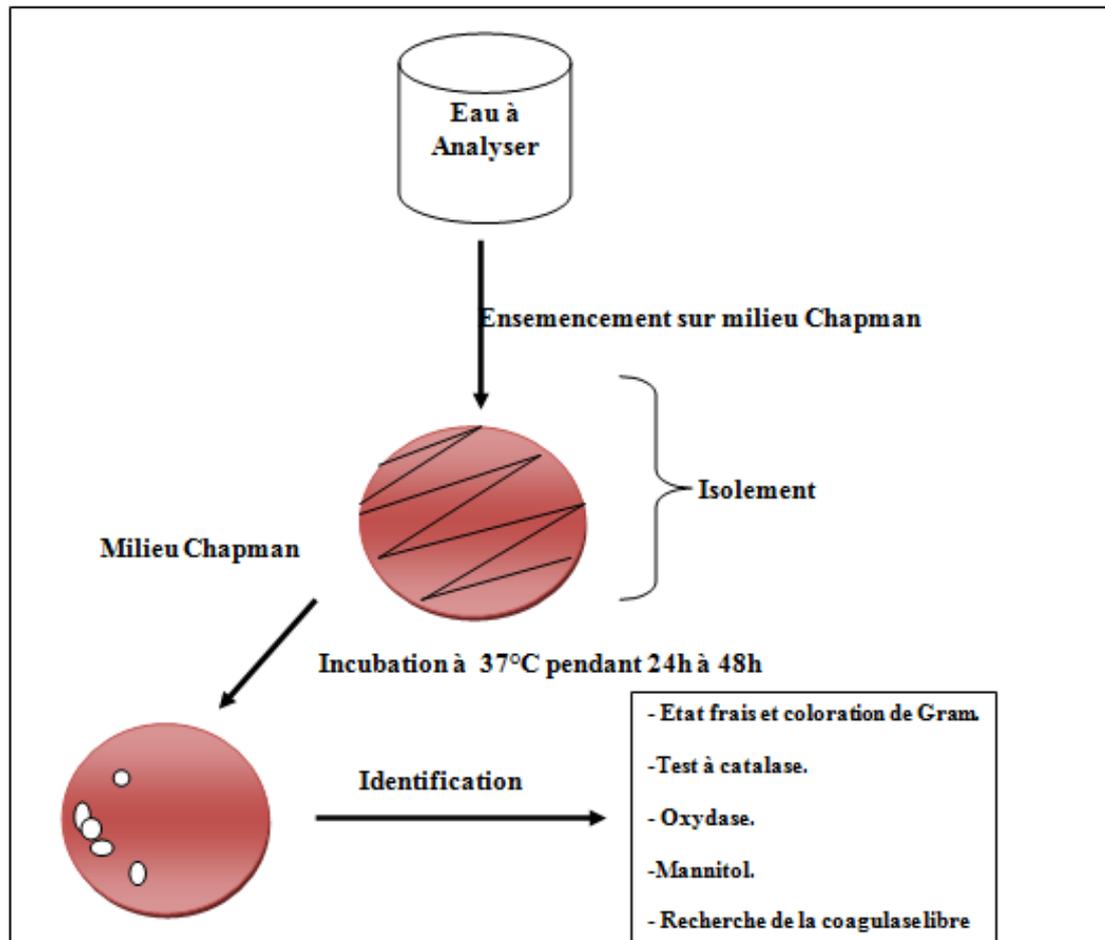


Figure 17 : Recherche et identification du staphylocoque pathogène (*S. aureus*) (Lebres et Mouffok, 2008)



Figure 18 : *Staphylococcus aureus* [28].

5-1-4-4-Recherche de *Vibrion*

Le genre *Vibrio* fait partie de la famille des *Vibrionaceae*. Les espèces de *Vibrio* qui sont le plus souvent à l'origine de phénomènes pathologiques chez l'homme sont : *V.cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*. Leur température de croissance va de 18 à 40°C et la zone de pH permettant leur culture va de 6 à 9 (Cohen et Karib, 2007).

Les *Vibrion* sont des batonnets incurvés en virgule ou droit, mobiles et aérophiles, Gram négative et oxydase positif, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz. Ils sont plus ou moins basophiles (Ph 8.5 à 9), halophiles ou halotolérantes suivant les espèces (Delarras et Trébaol, 2003).

La recherche de *Vibriocholerae* se fait sur milieu d'enrichissement eau péptonée alcaline (EPA) et le repiquage sur gélose nutritive alcaline biliée GNAB (Bengherbia et al., 2014). Les colonies de *Vibrio* sont fines, plate, transparente et blanches sur gélose GNAB.

L'identification se fait comme suit

Examen microscopique état frais et coloration de Gram.

Test oxydase

Une galerie biochimiques API 20NE (Bouzidi et Chelhi, 2017)

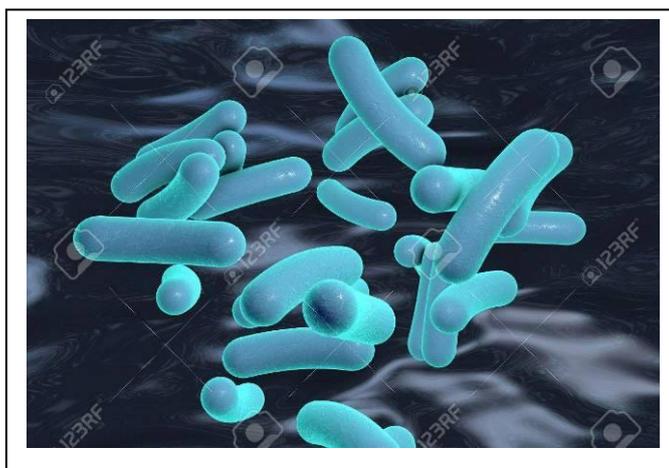


Figure 19 : *Vibrio Cholerae* [29].

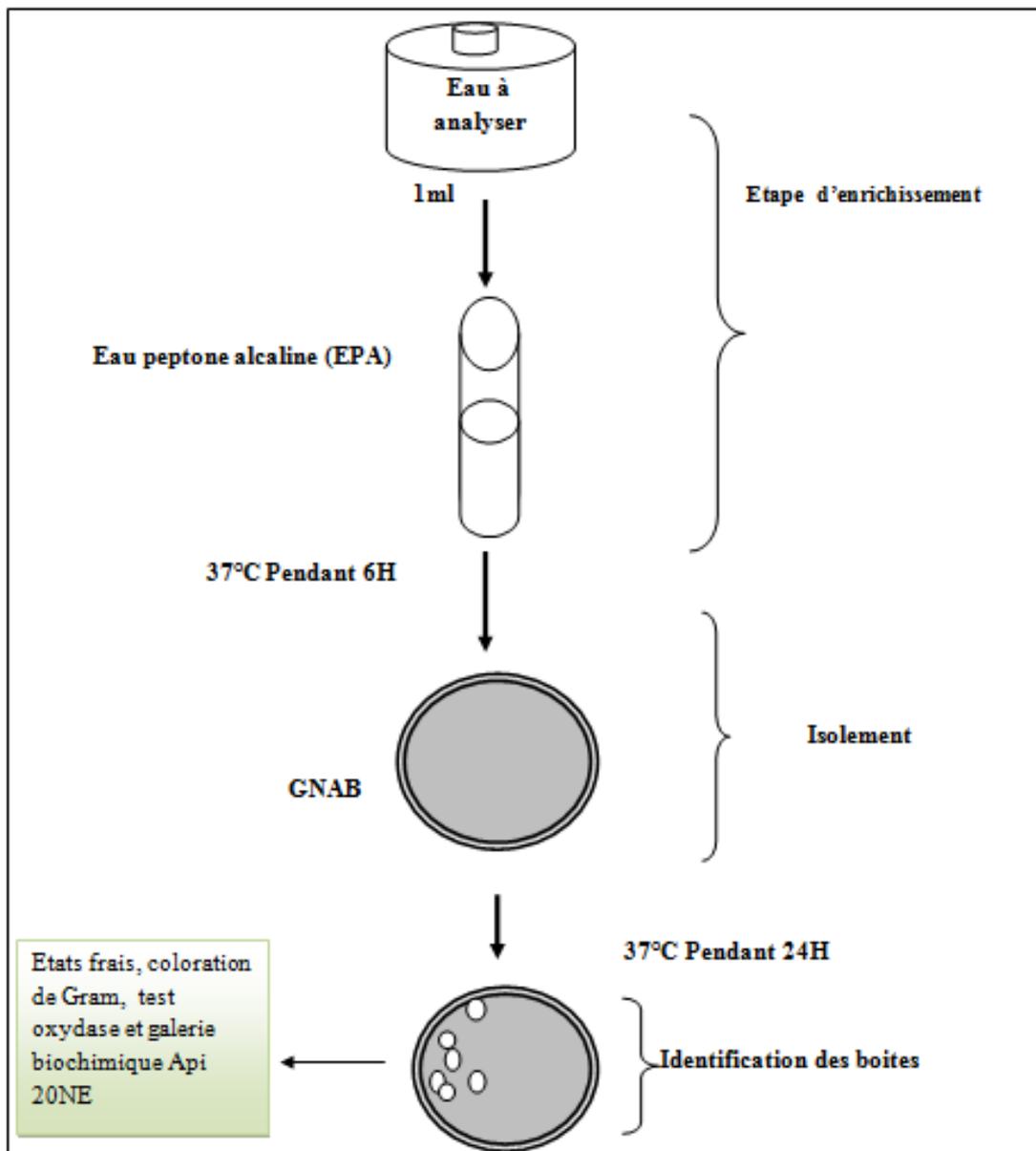


Figure 20 : La recherche des *Vibrio cholerae*. (Lebres et Mouffok, 2008).

5-1-4-5-Recherche du *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles Gram négative, droit en fins, aux extrémités arrondis, mobiles à ciliature polaire, aérobies stricts, oxydase positive. *Pseudomonas aeruginosa* est mésophile tandis que la majorité des espèces sont psychrotrophes (Nauciel et Jean-Louisa, 2005)

L'isolement des *Pseudomonase* fait directement d'eau à analyser sur la gélose Cétrimide par la méthode de quatre quadrants, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (Rejesk, 2002). Après l'incubation, l'ensemencement fait sur la surface de milieu de culture King A et King B. L'incubation des milieux à 37°C pendant 24heuts (Pil et al., 1987 ; Rouaiguia, 2010)

Considéré comme colonie caractéristique toute colonie présentant une fluorescence, du fait de la sélectivité du milieu Cétrimide. Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* apparaissent souvent de grandes tailles (1-3mm), à bord irréguliers, lisses régulières et bombées.

Sur le milieu king A se fait la recherche de la pyocianine, pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intence des milieux de culture. Alors que la recherche de la pyoverdine se fait sur king B. C'est une teinte vert fluorescent se trouve chez *P. fluorescens* (Lebres et Mouffok, 2008).

L'identification de l'espèce se réalise par

Coloration de Gram.

L'examen direct entre lame et lamelle (état frais), il permet d'observer la mobilité des germes.

Oxydase

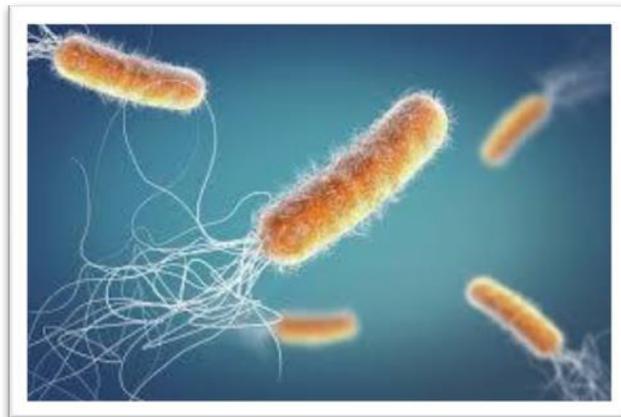


Figure 21 : *Pseudomonas* [30].

5-1-5-Tests d'identifications complémentaires de l'analyse bactériologique

5-1-5-1-Examen macroscopique des caractères cultureux

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées. La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

La taille.

La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.

L'aspect de la surface : lisse, rugueux.

L'opacité : opaque, translucide, transparent.

La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.

Pigmentation (Joffin et Leyrol, 2001).

5-1-5-2-Examen microscopique

L'examen microscopique peut être sans coloration de l'échantillon par observation direct entre lame et lamelle (technique de l'état frais) ou bien après coloration de l'échantillon ou encore après réaction d'immunofluorescence (Denis, 2007)

L'examen direct (Etat frais)

Le but de l'examen à l'état frais repose sur l'observation microscopique des bactéries vivantes. Cette méthode permet de mettre en évidence : l'existence ou pas de germes, la morphologie des bactéries, la mobilité et le mode d'assemblage (Amaramadi et Touati, 2013).

L'examen directe proprement dit de réalisé en déposant, sur la lame une goutte du liquide ou de la suspension microbienne à examiner. Cette goutte est recouverte d'une lamelle. Observer au microscope optique à (l'objectif $\times 40$) (Carbonnelle et Kouyoumdhian, 1998)

- **Examen microscopique après coloration de Gram**

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement des

bactéries (Rejsek, 2002). Les bactéries Gram positif sont colorées en violet, et les bactéries Gram négatif sont colorées en rose (Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998 ; Boukrouma, 2008).

5-1-5-3-Examen liés aux caractères biochimiques

- **Galeries de tests biochimiques miniaturisés**

Elles se présentent sous la forme d'une série de petits tubes, nommés tubules, correspondant chacun à un test biochimique spécifique. Chaque tubule est ouvert à son extrémité supérieure par une cupule pouvant être remplie, ou non, de liquide afin de placer le tube dans des conditions particulières. Chaque tube contient un substrat défini (ONPG, ADH, GEL...) et avec lequel les micro-organismes réagissent différemment.

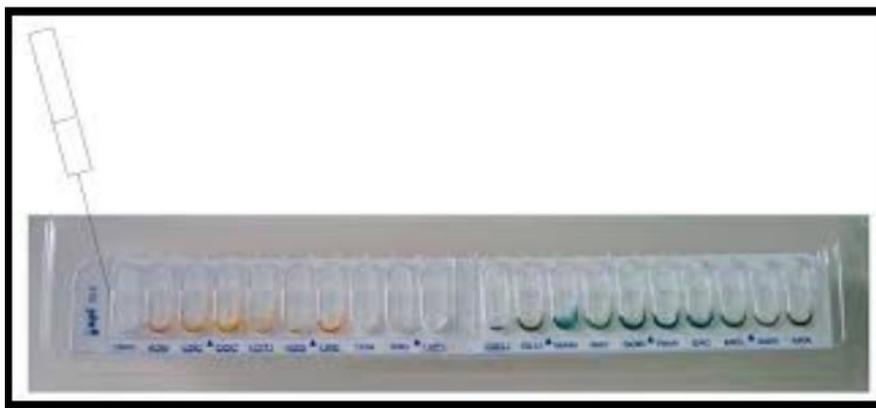


Figure 22 : galerie API 20E. [31].

Api 20E : Est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif (Bouchahed et al., 2019)

Api 10E : C'est le même utilisé pour la galerie API20E sauf qu'il comporte uniquement 10 microtubes (Bouchahad et al., 2019).

Api 20NE: C'est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (Bouchahad et al., 2019)

Api Staph : est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* (Bouchahed et al., 2019).

API 20 Strep : est un système standardisé permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés le plus courants.

La galerie api comporte 20 (ou 10) microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Bouchahed et *al.*, 2019). Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture, et l'identification est obtenue à l'aide de Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture est l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue ou d'un logiciel d'identification (Bouchahed et *al.*, 2019).

Galerie biochimique classique

Les techniques microbiologiques classiques sont basées sur une prolifération des germes dans des milieux de culture liquides ou solides qui sont spécialement adaptés au groupe de germes étudié. Si les différents germes se sont développés pour former des amas visibles (colonies), ceux-ci seront alors identifiés en fonction de leur aspect, de leur coloration et de leurs caractéristiques biochimiques.

Tests enzymatiques

Recherche de catalase

Le catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactérie aérobies strictes et anaérobies facultatives (Aberkane et *al.*, 2011). Cet enzyme permet la dégradation de l'eau oxygénée à l'eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse.

La recherche de catalase se fait par la méthode qui consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998). Si le dégagement immédiat de bulles gazeuses, le test catalase est positif et la bactérie possède la catalase. S'il n'y a pas de dégagement de bulle gazeuses : test catalase est négatif, la bactérie ne possède pas la catalase (Delarras, 2014).

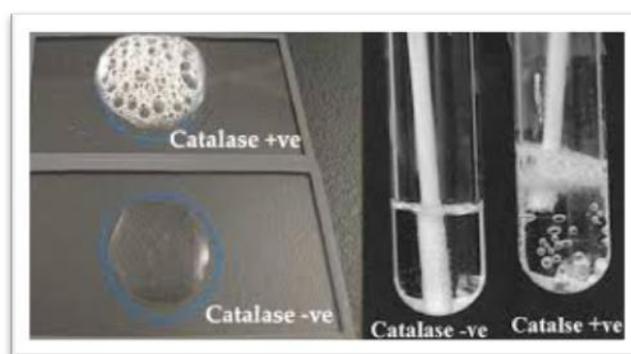


Figure 23 :L'enzyme catalase [32].

Recherche de l'oxydase

Le terme d'oxydase désigne une enzyme recherchée en bactériologie systématique. La présence d'oxydase serait liée à celle dans la chaîne respiratoire du complexe enzymatique IV : cytochrome-oxydase (Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998). Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram (-) et permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl-paraphénylène-diamine (Abdellioui et al., 2012). La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce (Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998). Si la colonie prend une teinte violette, le germe possède une oxydase, le test est positif. Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxygène, le test est négatif (Delarras, 2014).

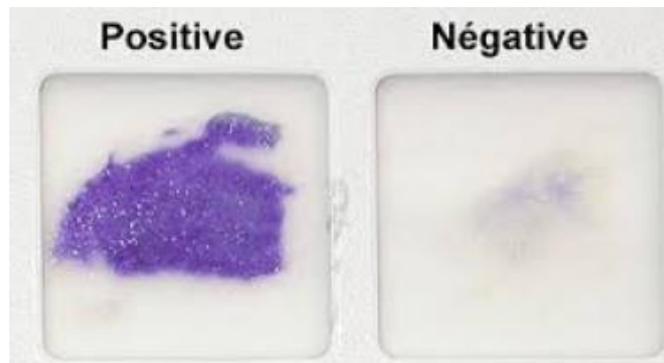


Figure 24 :L'enzyme oxydase [33].

Recherche de coagulase

Ce test a pour but de mettre en évidence la pathogénicité d'un staphylocoque. Les *Staphylocoques* pathogène secrètent une enzyme dite "la staphylocoagulase" qui a la propriété de coaguler le plasma (Aouissi, 2010).

La recherche de coagulase se fait par la méthode d'ensemencement à l'aide d'un bouillon cœur cerveau par les colonies isolées sur milieu Chapman et puis l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (Bourgeois et Leveau, 2008).

- ✓ S'il y a coagulation du plasma, le test Coagulase est positif: la souche est *Staphylococcus aureus*.
- ✓ S'il n'y a pas de coagulation du plasma, test coagulase est négatif. Le résultat est ininterprétable, il faut faire d'autres tests (ADNase thermostable, recherche protéine A, recherche récepteur au fibrinogène) (Souadkia et Zaimen, 2015).



Figure 25 :L'enzyme coagulase [34].

La recherche de la beta -galactosidase

Ce test permet de scinder la molécule du lactose après leur pénétration dans la cellule bactérienne en glucose et galactose.

La présence de la galactosidase est mise en évidence à l'aide d'un analogue structural du lactose, l'ONPG (Orthonitrophényl β -D-galactoside) qui diffuse librement à l'intérieur des bactéries où il est alors dégradé par β -galactosidase en galactose et en orthonitrophénol. Ce dernier donne une couleur en jaune citron lors de sa libération dans le milieu (réaction positive)(Rodier et *al.*, 2009).

La recherche de l'ONPG se réalise à l'aide d'une suspension du germe à étudier dans l'eau distillée contenant un disque d'ONPG.L'incubation se fait à 37°C pendant au maximum un temps variant entre 15 à 30 minutes et jusqu'à 24 heures au maximum (Denis, 2007).Le virage de la couleur du milieu au jaune indique un test positif (ONPG+). Si milieu reste incolore le test est dit négatif (ONPG-) (Delarras, 2007 ; Denis, 2007).

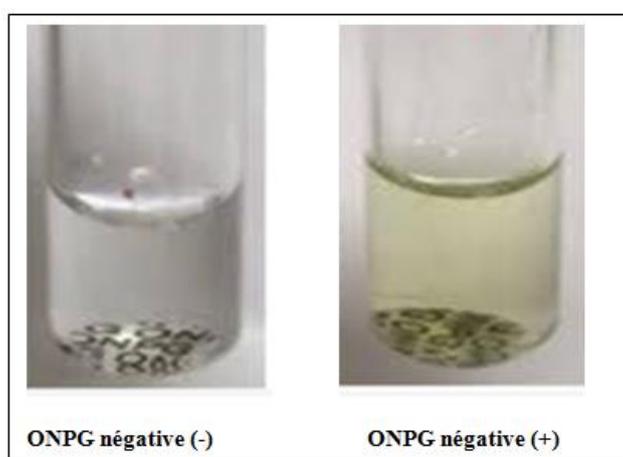


Figure 26 : Le test ONPG [35].

La recherche de l'enzyme tryptophane désaminase TDA

L'enzyme TDA agit sur l'acide aminé tryptophane en formant l'acide indole Pyruvique qui va donner une coloration brun rouge après l'addition du perchlorure de fer (Sayad, 2008).

La recherche de l'enzyme TDA se fait par l'ensemencement le milieu urée-indole avec une suspension épaisse des bactéries. Après 2 heures d'incubation à 37°C. Et l'ajout de quelques gouttes du réactif TDA (Lebres, 2005).Le résultat positif se traduit par une

coloration brune-rouge avec présence d'un précipité. Une coloration jaune orangé indique un résultat négatif (Sayad, 2008).

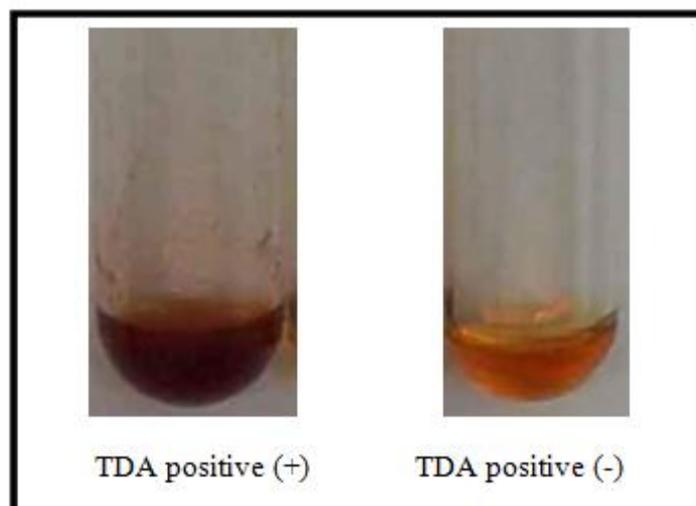


Figure 27 : L'enzyme tryptophane désaminase TDA [36].

Milieux de culture pour l'identification biochimiques

Milieu Citrate de Simmons

Ce test permet d'établir l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par la bactérie qui possède l'enzyme citrate perméase, en provoquant l'alcalinisation du milieu utilisé. Le milieu citrate de Simmons possède un indicateur de pH « le bleu de bromoththymol » dont il vire vers la couleur verte à pH acide et vers le bleue à pH alcalin (Rejsek, 2002).

La recherche de citrate se fait par l'ensemencement en surface sur le milieu au Citrate de Simmons à partir d'une culture prélevée sur un milieu gélosé en stries longitudinales et parallèles. Incuber à 37°C pendant 24 heures (Delarras, 2007 ; Denis, 2007).

Si la bactérie utilise le citrate (citrate +) le résultat se traduit par une culture avec alcalinisation du milieu et virage de l'indicateur en bleu. Si le résultat est négatif (citrate -), il y aura pas de culture et la couleur du milieu inchangée (Sayad, 2008).



Figure 28 : Citrate Simmons. [37].

Milieu Mannitol-Mobilité

Le milieu mannitol mobilité en culot permet à la fois de connaître la capacité de la bactérie à dégrader le mannitol et vérifier sa mobilité. Ce milieu contient un indicateur de pH, le rouge de phénol qui devient jaune au pH acide et rose au pH alcalin (Amira, 2008 ; Bouchaala, 2008). L'ensemencement sur le milieu Mannitol-Mobilité se fait par pique centrale à partir des milieux d'isolement. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (Aouissi, 2010). La fermentation du mannitol entraîne le virage du milieu au jaune. La mobilité se caractérise par une migration des bactéries de la pique centrale vers le reste du milieu entraînant ainsi une turbidité (Rejsek, 2002).

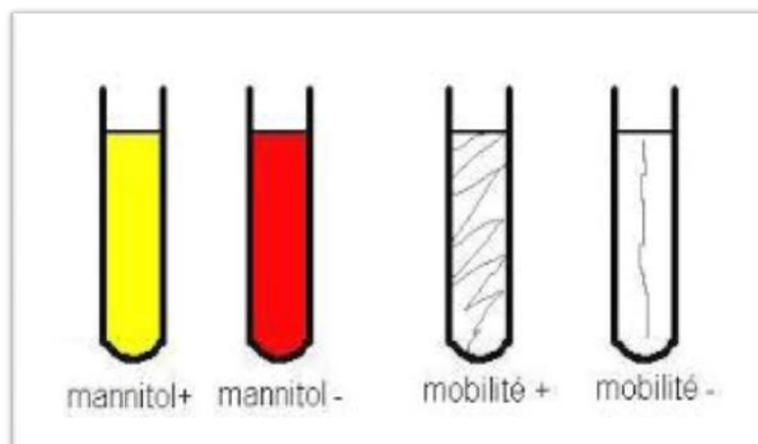


Figure 29 : Le milieu Mannitol-Mobilité [38].

Le milieu Triple Sugar Iron (TSI)

Le milieu Triple Sugar Iron (TSI) est utilisé pour l'identification rapide des Entérobactéries, permet de mettre en évidence la fermentation de saccharose, de glucose (avec ou sans production de gaz) et plus précisément du lactose ainsi que la production d'Hydrogène Sulfureux (H₂S) (Sayad, 2008).

L'ensemencement de milieu s'effectue par stries à la surface tout le long de la pente, puis par pique centrale au niveau de culot. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (Delarras, 2007 ; Joffin et Leyral, 2009). La lecture se fait selon le tableau suivant

Tableau 06 : Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI (Abdellioui et al., 2012).

	Glucose		Lactose et/ou du saccharose		Production de gaz	Formation d'H ₂ S
Le culot	Rouge	Glucose Non Fermenté (a)	-		Apparition de gaz dans le culot	Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la pique (e)
	Jaune	Glucose fermenté (b)				
La pente Incliné	-		Rouge	Lactose et saccharose non fermenté (c)	-	
			Jaune	Lactose et/ou du saccharose fermenté(s)(d)		

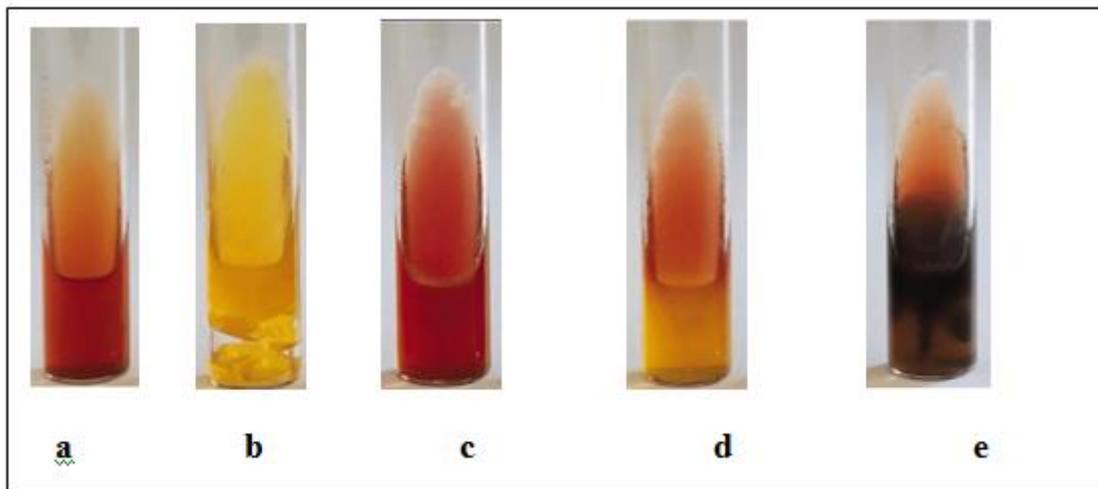


Figure 30 : Le milieu Triple Sugar Iron [39].

Bouillon nitrate

Ce test permet de détecter si un organisme possède la nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate (NO_3^-) en nitrite (NO_2^-) (Boukroune, 2008).

La réduction des nitrates en nitrites est recherchée par l'ensemencement des bactéries en bouillon nitraté et l'incubation à 37 °C pendant 4 jours

Après incubation, on ajoute deux gouttes du réactif nitrate réductase I (NR1) (solution naphthol à 6% dans l'alcool à 60%) et deux gouttes du réactif nitrate réductase II (NR2) (d'alpha-naphtalamine).

Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction dite nitrate réductase positif. Si le milieu reste incolore, ici on a deux éventualités : Ou bien les nitrates ont d'abord été réduits en nitrite mais la réduction s'est poursuivie. Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate. Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant de la poudre de zinc, et si la couleur apparaît, la bactérie est dite nitrate réductase négatif (Boukroune, 2008 ; Mechai, 2009).

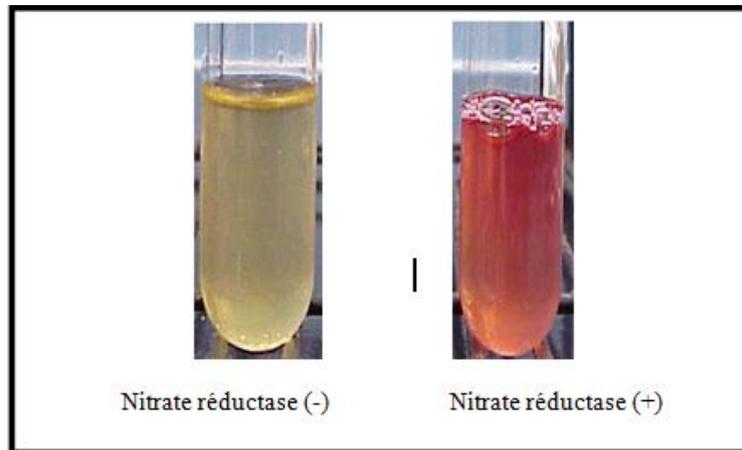


Figure 31 : Bouillon nitrate réductase [40].

Eau peptonée pour test de l'indole

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu (Sayad, 2008). La recherche d'indole se fait par l'ensemencement d'un tube d'eau peptonée d'indole. Après 24 heures d'incubation à 37°C, nous ajoutons quelques gouttes de réactif de Kovacks. La lecture de l'indole est immédiate

Réaction indole positive : anneau rouge ou rose.

Réaction indole négatif : anneau brunâtre (Carbonnelle et Kouyoumdjian, 1998).

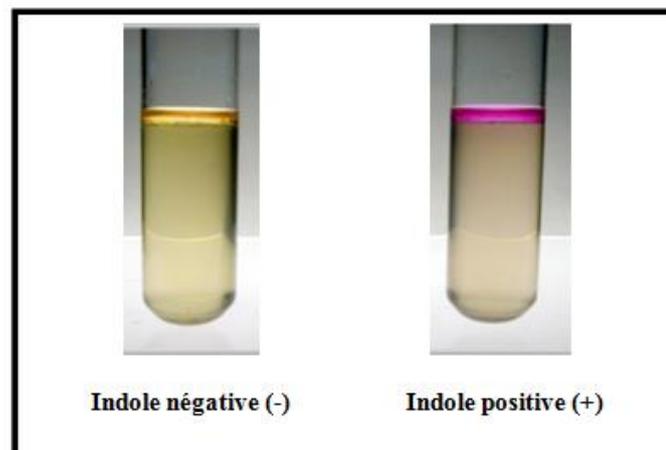


Figure 32 : Le test indole. [41].

Milieu urée-indole

L'uréase est un enzyme qui hydrolyse l'urée et conduit à la formation d'ammoniac et de dioxyde de carbone. En solution, le produit final de la réaction est le carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu (Sayad, 2008). La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation (formation de carbonate d'ammonium) d'un milieu contenant de l'urée d'où l'utilisation de milieu urée-indole et l'incubation se fait à 37°C pendant 12 à 18 heures. (Sayad, 2008)

Uréease positive : virage de l'indicateur du jaune au rouge violacé ou rose rouge

Uréease négative : pas de changement de coloration ou virage (Sayad, 2008)

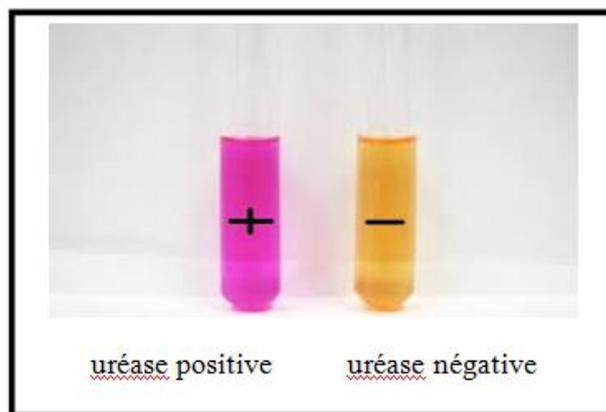


Figure 33 : l'urée d'indole[42].

Milieu Clark et Lubs

Le milieu Clark et Lubs permet de mettre en évidence deux voies de dégradation de l'Acide pyruvique :

- La formation d'Acétoïne (Acetyl-Methyl-Carbinol) par décarboxylation. C'est la réaction de Voges Proskauer.

- La formation d'acides acétiques et formiques en aérobiose et en anaérobiose c'est la réaction au rouge méthyle (Rodier et al., 2009).

La recherche de l'acétone se fait largement par l'ensemencement sur milieu Clark et Lubs et l'incubation se fait à une température optimale pendant 24 heures.

L'acétone réagit avec le réactif VP I (soude à la potasse) pour former le diacétyle ; ce dernier après addition du VP II (alpha naphthol) va réagir avec le groupe guanidine de l'arginine pour former un complexe coloré en rose (Rejsek, 2002). Lorsque le milieu devient rouge le test VP est positif. S'il restera jaune le test est négatif.



Figure 34 : Le test Voges Proskauer. [43].

Pour le test de rouge de méthyle, on ajoute quelques gouttes du réactif RM à 1 ml de milieu de Clark et Lubs ensemencé et incubé (Bourgeois et Leveau, 1980). La couleur rouge indique une réaction positive (Boukrouma, 2008 ; Lebres, 2004 ; Sayad, 2008)

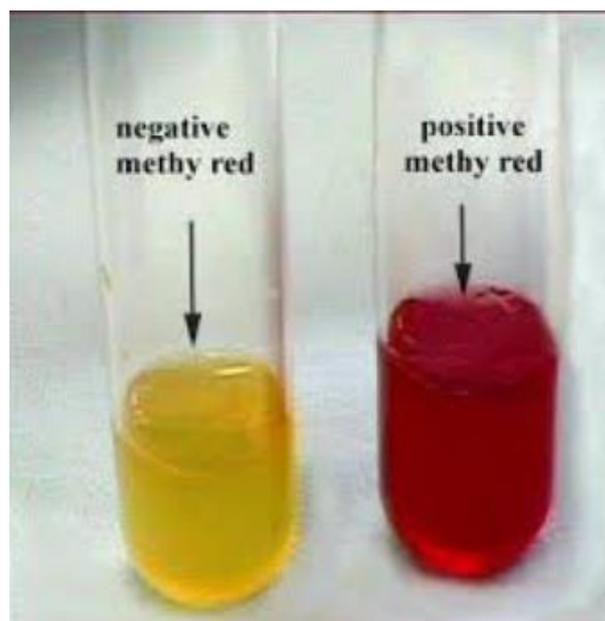


Figure 35 : Le test rouge de méthyle. [43].

5-2- Analyses fongiques

Les champignons sont des microbes qui existent dans la nature sous forme de levures unicellulaires ou de moisissures filamenteuses à ramifications. Les analyses de mycologie sont utilisées pour détecter et identifier les champignons, diagnostiquer les infections et aider à guider le traitement. Ces tests reposent sur l'examen microscopique de l'échantillon sur lame, parfois à l'aide d'une préparation ou d'un colorant pour favoriser la détection des éléments fongiques. Cela peut être suffisant pour déterminer que l'infection est due à un champignon et qu'aucun autre test n'est nécessaire dans le cas d'une infection superficielle. [44].

Il existe une méthode normalisée concernant la recherche des moisissures et les levures dans l'eau (Afssa, 2009) :

5-2-1-La détection des champignons par culture

La méthode de détection par culture des champignons dans l'eau se base sur milieu nutritif gélosé adapté, il y'a une seule technique pour faire la méthode par culture qui est la technique de concentration par filtration sur membrane (Afssa, 2009).

La filtration sur membrane est une technique de numération adaptée pour numérer les champignons présentes à des concentrations très faibles dans l'eau. Pour pouvoir dénombrer ces champignons, il est alors nécessaire d'analyser des volumes d'eau importants [45].

Les champignons présents dans l'échantillon à analyser sont retenus sur un filtre dont les pores sont inférieurs à la taille des champignons. Le filtre qui a retenu les champignons contenues dans l'eau, est ensuite déposé sur un milieu de culture approprié [45]. Selon le laboratoire, le milieu utilisé et/ou le volume filtré pour la recherche des moisissures et des levures peuvent être différents. Certains utilisent le milieu de Sabouraud, dilué ou non, composé de peptone, de glucose et d'agar-agar, plus adapté pour la détection des moisissures. (Afssa, 2009), et puis l'incubation où les champignons puisent les éléments nécessaires à sa croissance et se développent. Et après l'incubation, on va détecter la présence les champignons (les moisissures et les levures) de l'eau [45].

5-2-2- Méthodes de l'identification des champignons (les moisissures et les levures dans l'eau)

5-2-2-1- L'identification morphologique

L'identification d'une espèce fongique se base sur l'analyse de critères cultureux (température et vitesse de croissance, milieux favorables) et morphologiques. Ces derniers sont constitués des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) (Tableau 07) et microscopique (aspect du mycélium, des spores, des conidiophores,.....) (Tableau 08). (Cahagnier et Ruchard-Molard, 1998). Cette identification nécessite, plusieurs jours de culture.

La culture sur des milieux spécifiques nécessaire pour obtenir la formation de conidies, et dans certains cas l'absence d'apparition de conidies rendra impossible l'identification du mycélium (Peterson, 2006)

Tableau 07: Critères d'identification macroscopique (Botton et al., 1990)

L'aspect des colonies	Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées poudreuses ou granuleuses, parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium ou dure).
Le relief des colonies	Il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure ..)
La taille des colonies	Peut être variables en fonction des genres fongiques : petites colonies (cladosporium) ou au contraire, colonies étendues envahissantes (<i>Mucor, Rhizopus</i>)
La couleur des colonies	Est un élément très important dans l'identification, les couleurs les plus fréquentes le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge, allant jusqu'au violet ou le bleu, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (<i>Aspergillus</i> ,

colonies	<i>Penicillium</i>) ou diffuse dans le milieu de culture
Les structures de fructification	La présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée ou asexuée est aussi un élément important de diagnose

Tableau 08: Critères d'identification microscopique (Badille et *al.*, 1987)

Le thalle	<p>Tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes) qui, ensembles, forment le thalle filamenteux ou le mycélium ; le thalle peut être siphonné ou septé</p> <p>Le thalle siphonné : constitué d'élément tubulaire peu ou pas ramifié, de diamètre large et irrégulier, non cloisonné, est caractéristiques des Zygomycètes.</p> <p>Le thalle septe ou cloisonné : constitué de filament de diamètre étroit et régulier, divisé par des cloisons en articles uni ou pluricellulaire est caractéristiques des Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes.</p>
Les spores	<p>les spores qui sont le produit de la reproduction asexuée peuvent être endogènes ou exogènes :</p> <p>les spores endogènes (endospores) : son produit à l'intérieure d'un sac fermé (sporange), porté par un filament spécialisé (sporangiophore).</p> <p>Les spores exogènes (conidies) : retrouvées chez les Ascomycètes, Basidiomycètes et deutéromycètes, sont formée par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisé (cellule conidiogène).</p>

5-2-2-2-L'identification par biologie moléculaires

L'identification des champignons (quel que soit les moisissures et les levures) dans l'eau repose sur la méthode de biologie moléculaire qui se base sur les techniques de PCR car le plu connue et plus utilisée, et autres méthodes moléculaires (Lecellier, 2013).

Les techniques de biologie moléculaires s'intègrent progressivement aux côtés des méthodes mycologiques classiques, et tendent à se généraliser dans les laboratoires spécialisées. L'émergence de la PCR (Polymerase Chain Reaction) a permis d'importants progrès des techniques moléculaires. Les différentes méthodes proposées permettent d'étudier le polymorphisme génétique des différents champignons filamenteux et de les discriminer à différents niveaux taxonomiques par l'étude de l'ensemble du génome, d'un ou plusieurs gènes ou d'un fragment d'ADN bien définis (Lecellier, 2013). La réaction en chaîne de la polymérase (polymerase chain reaction ou PCR) est la méthode moléculaire la plus souvent utilisée pour détecter les moisissures et les levures dans l'eau, cette technique permet la détection du génome des moisissures et des levures, dont certaines séquences de génome sont connues.

Parmi les autres méthodes moléculaires qui sont employées pour la détection des moisissures et les levures dans l'eau, il y a une technique plus appliquée : la RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) la RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Afssa, 2009).

5-3- Analyses virologiques

Une analyse virologique doit permettre d'isoler et/ou caractériser ou identifier les virus responsables de certaines pathologies chez l'homme par diverses techniques directes ou indirectes (cultures cellulaires, sérologies, biologie moléculaire...). Elle consiste également à vérifier l'absence de résistance des virus aux traitements antiviraux par des techniques de séquençage du génome viral afin d'adapter au mieux la thérapeutique antivirale [46].

Les virus abondent dans le milieu aquatique aussi bien dans les eaux douces que marines. Plus de 140 virus pathogènes peuvent être éliminés dans les fèces humaines, regroupées sous le nom de virus entériques (Schwartzbrod, 2000).

L'analyse virologique de l'eau doit tenir compte lors du développement des protocoles des faibles concentrations en particules virales, mais aussi de la présence possible d'inhibiteurs. Cette analyse repose sur une étape de concentration des particules virales pour les eaux, suivie d'une étape de détection. Une étape de décontamination associée ou non à une détoxification pour l'élimination des bactéries, micromycètes et substances toxiques peut également être envisagée lors d'une détection par culture cellulaire (Schwartzbrod, 2000).

5-3-1-Méthodes de concentration de l'échantillon

L'objectif de l'étape de concentration est d'obtenir tous les virus présents dans l'échantillon dans un faible volume final. La concentration des particules virales présentes dans un échantillon est une des étapes essentielles à maîtriser lors de l'analyse virologique du milieu hydrique. Elle doit répondre à deux problématiques : la faible concentration en virus et la présence d'inhibiteurs. La méthode doit permettre de concentrer les virus présents à de très faibles concentrations (Camille, 2014).

5-3-1-1-Méthodes basées sur l'adsorption-élution

Le principe de ces méthodes repose sur la possibilité de faire interagir l'enveloppe des virus et les supports, puis de les décrocher en faisant varier leurs propriétés de surface. La composition chimique des supports, les structures, les conditions de force ionique, le pH, la présence de matière organique ou de protéines, jouent un rôle fondamental dans l'interaction entre les particules virales et le support (Rodier *et al.*, 2009).

De nombreux matériaux peuvent être utilisés comme support pour l'adsorption virale. La poudre de verre, la laine de verre, l'oxyde de fer, le phosphate de calcium, l'hydroxyde d'aluminium, mais aussi des silicates minéraux ou encore du charbon actif peuvent être utilisés. Ces matériaux sur lesquels sont filtrés les échantillons d'eau sont chargés positivement ou négativement. L'utilisation de supports chargés négativement est limitée car

elle nécessite une acidification du milieu qui peut provoquer une inactivation virale. Au contraire, l'adsorption des virus sur des surfaces chargées positivement ne nécessite aucun traitement préalable de l'échantillon. Les virus sont élués à l'aide de solutions protéinées ou non, en général à un pH alcalin, l'extrait de bœuf ou un tampon glycine sont fréquemment utilisés. Ces méthodes d'adsorption-élution sont les mieux adaptées pour l'analyse de grands volumes d'eau. En effet, elles permettent de concentrer les particules virales présentes dans 20 à 1 000 litres d'eau dans un volume final de quelques centaines de millilitres (Camille, 2014 ; Rodier, 2009).

5-3-1-2-Méthodes basées sur la filtration

Ces méthodes permettent la séparation des particules en fonction de leur taille. Tout d'abord, nous citerons deux méthodes historiques mais qui ne sont plus utilisées actuellement : la méthode des gazes et l'électro-osmose ou électrophorèse. Une méthode basée sur la filtration actuellement utilisée est l'ultrafiltration. Cette méthode utilise une membrane dont le diamètre des pores est inférieur à la taille des virus que l'on veut concentrer. L'ultrafiltration peut se faire sous pression, par circulation tangentielle continue ou en appliquant une pression osmotique. Ces méthodes permettent d'obtenir un rendement élevé, mais le colmatage des filtres est possible et le débit de filtration demeure faible. Le risque de colmatage des membranes est limité en ultrafiltration tangentielle qui consiste à faire passer le fluide tangentiellement à la surface du filtre, contrairement à la filtration frontale (Camille, 2014).

5-3-1-3-Méthode basée sur la centrifugation : l'ultracentrifugation

Cette méthode repose sur un principe de sédimentation physique des particules virales. Ainsi, si on applique une force supérieure à 100 000 g pendant une heure, les particules virales sont concentrées dans le culot (Schwartzbrod, 2000). Il est de plus d'appliquer un gradient de densité, par exemple au chlorure de césium (Redman et *al.*, 1997) et pour récupérer uniquement la fraction de densité identique aux particules virales recherchées. L'inconvénient de cette méthode est que l'appareillage est très coûteux et qu'elle est limitée à

de faibles volumes. Elle est donc employée comme méthode de concentration secondaire des particules virales (Camille, 2014).

5-3-1-4-Méthodes basées sur la précipitation

- **Précipitation au polyéthylène glycol (PEG)**

Le polyéthylène glycol est un polymère synthétique soluble dans l'eau qui agit en piégeant l'eau autour des virus ce qui provoque leur précipitation. Le précipité ainsi formé est récupéré par centrifugation. Cette méthode est simple et économique, son rendement est proche de 100% quels que soient les solutions et les virus testés (Schwartzbrod, 2000).

- **Floculation organique ou minérale**

C'est une méthode d'adsorption des virus sur des précipités ou floes produits par ajout d'ions minéraux ou organiques. La floculation minérale peut être réalisée avec le sulfate d'ammonium, le sulfate de protamine, le chlorure ferrique, le chlorure de cobalt ou encore le sulfate d'alumine. La floculation organique utilise le plus souvent de l'extrait de bœuf. Cette méthode est simple mais présente une efficacité variable et l'extrait de bœuf peut entraîner une inhibition des méthodes de détection, il peut de plus se révéler cytotoxique. Cette méthode est surtout adaptée pour la concentration secondaire ou pour les échantillons très chargés en matière en suspension (Camille, 2014).

5-3-1-5-Méthodes basées sur la lyophilisation

La lyophilisation ou cryodessiccation est basée sur la sublimation du solvant, ici l'eau, pour concentrer les particules. Cette méthode est efficace pour les échantillons très sales ou comme méthode de concentration secondaire. Elle est coûteuse et très peu utilisée (Camille, 2014). En règle générale, les méthodes le plus souvent employées pour la concentration primaire sont des méthodes d'adsorption-élution, surtout sur poudre de verre et laine de verre, ou encore des méthodes d'ultrafiltration tangentielle. Pour la concentration secondaire, seront préférées les méthodes utilisant la floculation organique, la précipitation au PEG et l'ultracentrifugation (Schwartzbrod, 2000).

5-3-2- Méthode de détection

Pour détecter les virus, après la concentration, il est important d'utiliser une technique spécifique au virus recherché, afin de mettre en évidence le faible nombre de particules virales. Nous présenterons ici deux alternatives pour la détection :

- Méthodes par culture de cellule (méthode normalisée) ;
- Méthodes par Biologie moléculaire.

Ces dernières, plus récentes, sont applicables à la recherche des virus dans l'eau. Elles permettent de détecter directement le génome des virus après amplification (Rodier et *al.*, 2009).

5-3-2-1-La culture cellulaire

L'isolement sur cultures cellulaires s'agit d'une technique permettant de détecter les virions après multiplication au sein de cellule en culture qui lisent après infection. Cette méthode constitue la seule technique sensible, spécifique et quantitative permettant de témoigner du caractère infectieux des virus isolés (Rodier et *al.*, 2009). Il existe deux moyens de visualiser la multiplication virale sur culture cellulaire, soit de façon directe en observant des lésions au niveau du tapis cellulaire appelées effet cytopathique ou ECP, soit de façon indirecte grâce à des techniques immunologiques ou de biologie moléculaire. Tous les virus qui sont capables de multiplication sur culture cellulaire ne provoquent pas forcément d'ECP visible. Lorsque la culture s'effectue en milieu liquide, les virions libérés par les cellules infectées peuvent se propager dans toutes cellules du milieu provoquant ainsi leur destruction massive. En revanche, en milieu solide, les virus nouvellement formés ne peuvent pas se disperser dans tout le tapis cellulaire, ils vont infecter seulement les cellules adjacentes et provoquer l'apparition de plages de lyse. Avant de déposer les virus sur une culture cellulaire, il convient d'éliminer les bactéries et micromycètes par filtration et ajout d'antibiotiques et antifongiques (Camille, 2014).

5-3-2-2-Détection par biologie moléculaire

Malheureusement certains virus ne sont pas cultivables ou le sont difficilement. C'est pour quoi l'évaluation récente des outils de biologies moléculaire s'impose peu à peu face à la méthode par culture (Collet, 2012).

On peut utiliser une autre technique de mise en évidence des particules virales, basée sur la détection non plus du virus en lui-même mais du génome viral. Cette détection est basée sur un mécanisme d'amplification par PCR (polymérase chaîne réaction), Mais préalablement à cette amplification l'ARN ou l'ADN (en fonction du type de virus) doit être extrait de la capsid du virus (Rodier *et al.*, 2009).

Un cycle de PCR est composé de trois étapes : la dénaturation du génome, avec notamment la dénaturation des doubles brins à 94-96°C, l'hybridation des amorces à chaque extrémité de la séquence à amplifier à 50-60°C et enfin l'élongation ou synthèse des brins complémentaires par une polymérase à partir des amorces à 60-72°C (Camille, 2014). Cette méthodologie est très rapide (résultats en 3 heures), sensible et spécifique mais elle ne permet pas d'identifier le risque infectieux. Il n'est donc pas toujours possible de lier détection de génome viral et présence du virus infectieux. Par contre la présence de génome viral peut être considérée comme un indicateur d'une pollution virale (Rodier *et al.*, 2009).

Cette détection peut se faire de différente façon :

- Soit, après électrophorèse dans un gel d'agarose ou de polyacrylamide, par transillumination UV. L'incorporation de bromure d'éthidium est alors nécessaire. C'est la technique la moins sensible, elle ne permet que de vérifier la taille du fragment amplifié. (Rodier *et al.*, 2009)
- Soit par hybridation de la séquence amplifiée par des sondes. Il s'agit de sondes déjà fixées, l'amplification doit se faire avec des marqueurs spécifiques (line probassay, puces à ADN...). La séquence amplifiée est fixée sur une membrane nylon éventuellement après électrophorèse, puis détectée grâce à des sondes spécifiques (Southern blot, dot blot). (Rodier *et al.*, 2009).

5-4- Analyses parasitaires

La recherche des agents infectieux dans l'eau ne se limite plus à la recherche des bactéries. En effet suite à des épidémies parfois importantes, les parasites ont été identifiés et peuvent donc maintenant être recherchés dans les eaux. L'OMS a, en 2003 classé les parasites parmi les agents pathogènes émergents. Ce classement fait suite à l'observation d'une augmentation significative de cas d'épidémies d'origine hydrique liées aux parasites à travers le monde. Ces parasites (principalement *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium parvum*) sont des protozoaires microscopiques des vertébrés (Rodier, 2009).

La capacité de ce groupe de microorganismes de produire des kystes et des oocystes extrêmement résistants aux stress environnementaux et aux désinfectants à base de chlore couramment utilisé a favorisé leur propagation et a renforcé leur pouvoir pathogène [47].

Il existe une méthode normalisée concernant la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* et des Kystes de *Giardia* dans l'eau (Rodier, 2009). Cette méthode comprend quatre étapes : le prélèvement de l'échantillon; la filtration de l'échantillon et l'élution; la concentration et la séparation (purification) de l'échantillon; et l'identification des kystes et des oocytes [47].

5-4-1- Prélèvement de l'échantillon

Les échantillons d'eau peuvent être prélevés en vrac ou filtrés sur le terrain, puis placés sur de la glace pour être envoyés à un laboratoire afin d'y être traités le plus rapidement possible (idéalement dans les 24 heures). Le volume d'eau recueilli dépend de la quantité prévue de kystes et d'oocystes dans l'eau (c.-à-d. propre à un site); plus la densité prévue des kystes ou des oocystes est faible, plus le volume d'échantillon est grand. Dans la plupart des cas, entre 10 L et 1 000 L d'eau sont prélevés. Lorsqu'il s'agit d'analyser l'eau brute, les échantillons sont le plus souvent prélevés en profondeur et à proximité de la prise d'eau potable afin que l'échantillon obtenu soit représentatif de la source d'eau [47].

5-4-2- Filtration de l'échantillon et élution

Les kystes et les oocystes sont généralement présents en petit nombre dans l'eau contaminée par des matières fécales. Par conséquent, il est nécessaire de filtrer les

échantillons d'eau en vrac pour concentrer les pathogènes jusqu'à ce qu'ils atteignent un volume où ils deviennent détectables. L'eau traverse généralement un filtre à l'aide d'une pompe. Ces filtres varient selon le volume d'eau qu'ils peuvent traiter, leur vitesse de filtration, leur utilité pratique, leur compatibilité avec les étapes de traitement subséquentes, leur coût et leur capacité de rétention (Santé Canada, 2012a). Certains filtres ont été validés par la méthode 1623/1623.1 de l'U.S. EPA (U.S. EPA, 2005a, 2012). Une fois la filtration terminée, on ajoute des solutions d'éluion pour libérer les kystes et les oocystes retenus par le filtre afin d'obtenir un éluât [47].

5-4-3- Concentration et séparation de l'échantillon

La centrifugation associée à la séparation immuno-magnétique (SIM) est la méthode la plus souvent utilisée pour la concentration et la séparation des échantillons. Premièrement, pour concentrer l'échantillon, l'éluat est centrifugé, ce qui entraîne la formation d'un culot. Ce culot est remis en suspension dans une petite quantité de solution tampon pour produire un concentré. La SIM est utilisée pour séparer les kystes et les oocytes des autres contaminants de l'échantillon. Le concentré est mélangé à des anticorps monoclonaux anti-*Cryptosporidium* et anti-*Giardia* reliés à des particules magnétiques, aussi appelées billes immuno-magnétiques. Celles-ci se lient de manière sélective aux kystes et aux oocystes. Un champ magnétique qui sépare les complexes billes-kystes et billes-oocystes des particules étrangères est ensuite appliqué. Ces particules sont retirées, les complexes billes-kystes et billes-oocystes sont dissociés et les billes sont extraites et on obtient une suspension concentrée de kystes et d'oocystes. Plusieurs études ont évalué la capacité de récupération de la SIM employée seule. Selon (Santé Canada 2012a), il est possible de récupérer à plus de 90 % les kystes et les oocytes ajoutés à des eaux dont la turbidité est faible. Les changements du pH (par rapport au pH optimal de 7) peuvent nuire à la SIM

5-4-4- Identification des kystes et des oocytes

Une fois que les échantillons ont été concentrés et que les kystes et les oocystes ont été séparés des matières étrangères, il est possible d'avoir recours à un certain nombre de techniques de détection. La méthode la plus souvent utilisée est l'épreuve d'immunofluorescence (IFA). D'autres méthodes de détection, comme la cytométrie en flux

et diverses techniques moléculaires, sont de plus en plus utilisées dans le milieu de la recherche [47].

6- Techniques moléculaires

Les techniques de détection moléculaire constituent une révolution dans le domaine de l'analyse et permettent d'assurer une surveillance plus complète et plus réactive de la qualité microbiologique de l'eau. L'identification moléculaire repose sur la reconnaissance d'une ou plusieurs séquences nucléiques, contenues dans la molécule d'ADN (ou d'ARN) présentes dans tout micro- organisme vivant (bactéries, parasites, virus...) [48].

6-1- Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR, Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne, est une technique d'amplification enzymatique permettant d'obtenir un grand nombre de copies identiques d'un fragment d'ADN [49]. Elle est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice, le processus étant initié par un fragment d'ADN dont la séquence est complémentaire à celle du fragment à amplifier, appelé amorce ou primer (Podglajen et Mainardi, 2007), et sur le fonctionnement cyclique d'une ADN polymérase thermorésistante (Morse, 2015). Une PCR est divisée en trois étapes qui se répètent successivement :

- La dénaturation thermique de l'ADN : à 95°C les liaisons d'hydrogènes sont rompues et les 2 brins de l'ADN se séparent.
- Hybridation des amorces : la fixation des amorces sur les monobrans d'ADN à une température varie entre 50°C et 65°C. Les amorces en large excès, s'hybrident dès lors qu'elles rencontrent les séquences complémentaires.
- L'extension ou élongation enzymatique des amorces : Cette phase permet la synthèse d'un brin d'ADN complémentaire par une ADN polymérase ADN dépendante thermostable (la Taq polymérase étant la plus utilisée). Elle reste fonctionnelle tout au long de la PCR (Samantha, 2017 ; Bentaalla et Bounous, 2016).

6-1-1- Les avantages de PCR

La PCR apporte une énorme sensibilité car capable de générer une très grande quantité d'acide nucléique à partir de quelques copies de la séquence recherchée (Morsse, 2015). Aussi elle permet un important gain de temps par rapport aux autres techniques comme la culture (élimination des temps de culture et d'incubation), et méthode de southern blot (Mourse, 2015).

6-1-2- Les variantes de la PCR

Il existe de nombreuses variantes de la PCR, parmi lesquelles :

6-1-2-1- La PCR en temps réel

La PCR en temps réel (real-time PCR) ou PCR quantitative (ou qPCR) consiste à mesurer la quantité d'ADN polymérisé à chaque cycle grâce à, un marqueur fluorescent (Samantha, 2017)

6-1-2-2- La PCR « Multiplex »

Consiste à amplifier, dans un tube unique, avec plusieurs couples d'amorces spécifique et différents, une partie du gène à étudier (Morsse, 2015).

6-1-2-3- RT-PCR :

La PCR repose sur des cycles successifs de réplication d'une séquence spécifique d'ADN matrice par une ADN polymérase. Une étape de transcription inverse (RT-PCR) consiste à synthétiser le brin complémentaire (ADN) des ARN à partir d'une amorce oligonucléotidique, grâce à une enzyme la transcriptase inverse (revers transcriptase ou RTase) (Bntaalla et Bounous, 2019).

6-2- Réaction de ligature en chaîne (LCR)

La LCR (ligase chain reaction ou réaction de ligature en chaîne) est une méthode permettant l'amplification d'une sonde complémentaire d'une cible ADN. Elle met en jeu deux

couples de sondes spécifiques de la séquence nucléique à rechercher, et une enzyme de type ligase [50]. Il s'agit d'une technique d'amplification de sondes. Après hybridation de quatre sondes adjacentes (deux sondes spécifiques du brin sens et deux spécifiques du brin antisens), les sondes sont collées à l'aide d'une ligase à condition que la complémentarité soit absolue (absence de mésappariement). Plusieurs cycles permettent ainsi l'amplification des sondes « collées ». Ses performances sont similaires à celles de la PCR [51].

6-3- Amplification par déplacement de brin SDA

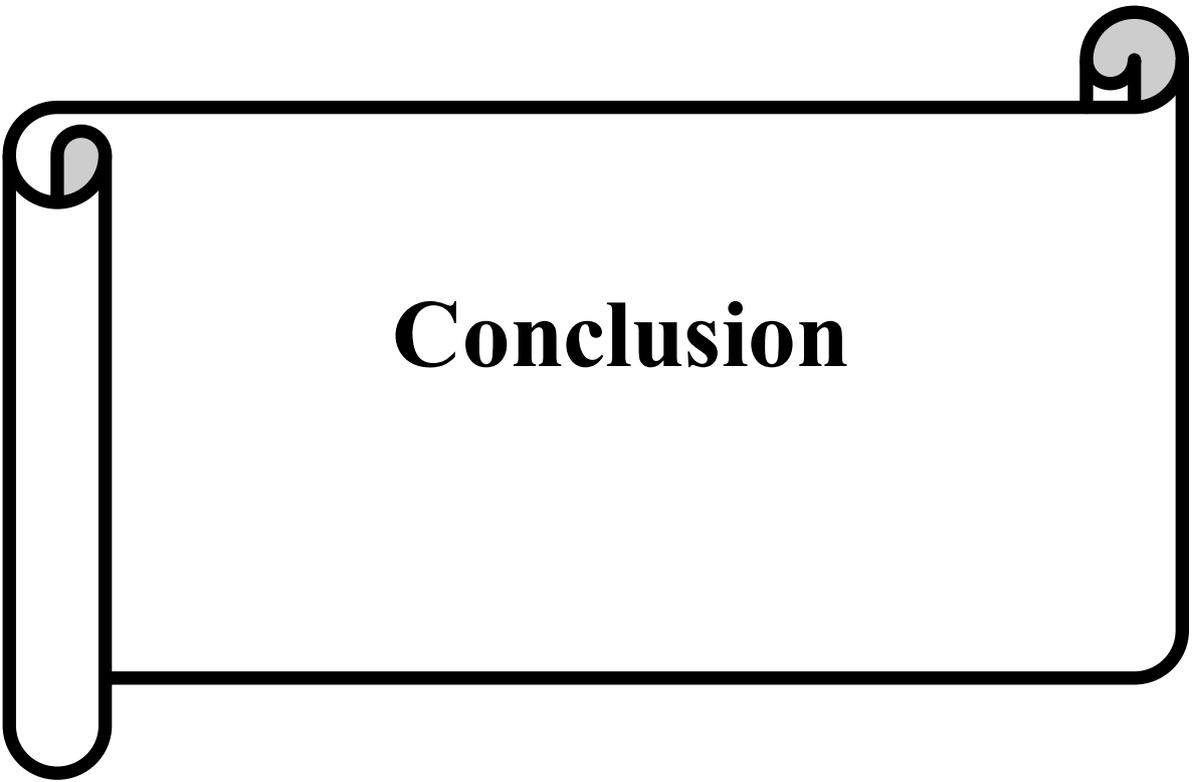
La technique SDA (strand displacement amplification ou amplification par déplacement de brin) est une méthode isotherme qui permet d'amplifier l'ADN. Elle utilise deux enzymes thermorésistantes : une enzyme de restriction BsoBI ou BsrI et une ADN polymérase dépourvue d'activité exo nucléasique (exo-) [52]. Le principe est complexe. Il est basé sur la coupure partielle de l'ADN par l'enzyme de restriction (après incorporation d'un phosphorothiate nucléotide qui n'existe pas à l'état naturel) puis le déplacement du brin ainsi formé par l'ADN polymérase. De nombreux brins sont ainsi néoformés de manière cyclique. À la fin de la réaction, environ 10^9 copies sont obtenues après amplification de l'ADN cible. Les résultats sont équivalents à ceux obtenus avec la PCR [53].

Le tableau ci-dessous présente le principe, l'objectif, et les avantages de quelques techniques de biologie moléculaire

Tableau 09 : Principes, objectifs et applications de quelques techniques de biologie moléculaire (Juzan et al., 2012)

Techniques	Principe	Objectif	Avantages
FISH	Marquage fluorescent de l'ARNr	Identification moléculaire et répartition spatiale des micro-organismes	Rapide Possibilité de multiplexage

DGGE	Electrophorèse en gradient de dénaturant	Étude de la biodiversité des micro-organismes (possibilité d'identification ultérieure des espèces dominantes)	Grand nombre d'échantillons traités
qPCR	Amplification quantitative de l'ADN	Quantification des micro-organismes	Rapide Plusieurs méthodes de détection Disponibles
Séquençage	Lecture de l'information génétique	Identification moléculaire des microorganismes	Approche Exhaustive



Conclusion

Conclusion

Dans cette étude nous avons essayé d'étudier les différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques de l'eau afin de comprendre comment évaluer la qualité de l'eau et déterminer l'origine de la pollution biologique.

L'eau est indispensable à la vie, sans elle il n'y aurait aucune vie possible sur terre. Le constat est simple, tous les êtres vivants ont besoin d'eau pour exister. La terre étant, à ce jour, la seule planète du système solaire, elle est la seule à abriter la vie. L'eau est l'un des cinq éléments indispensables à la vie. L'eau est le principal constituant des êtres vivants et il est indispensable au développement de toute vie.

La pollution dans l'eau inclut toutes les matières superflues qui ne peuvent être détruites par l'eau naturellement. Autrement dit, n'importe quelles matières ajoutées à l'eau qui est au-delà de sa capacité à le détruire sont considérées comme de la pollution. La pollution peut, dans certaines circonstances, être causée par la nature elle-même, comme lorsque l'eau coule par des sols qui ont un taux élevé d'acidité. Par contre, la plupart du temps ce sont les actions humaines qui polluent l'eau.

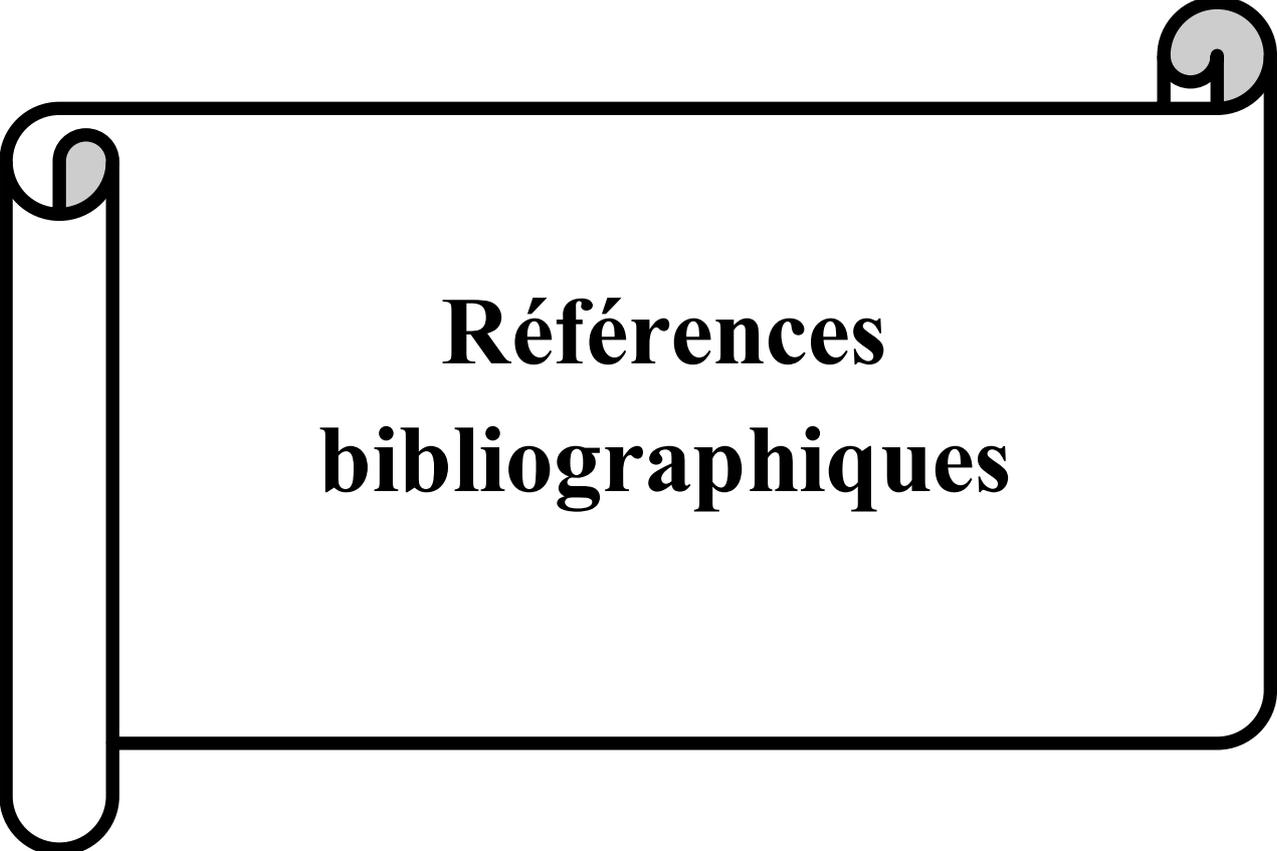
Les maladies à transmission hydriques regroupent plusieurs pathologies dont l'élément commun est le mode de contamination l'eau. L'ampleur et la persistance de ces maladies sont directement liées aux conditions d'hygiène du milieu général. Les maladies à transmission hydriques recouvrent un large éventail de manifestations pathologiques d'origine bactérienne (fièvre typhoïde, choléra, gastroentérite...), Virale (hépatite A et E...) et parasitaire (amibiase, oxyures, bilharziose, ténia...). Elles se transmettent par l'eau de boisson, le lait, les mains, les légumes qui se mangent crus (salades, radis, carottes...etc, arrosés avec des eaux usées), les coquillages ramassés à proximité du point de déversement des égouts, les sources d'eau (puits) qui sont à proximité d'un cabinet d'hygiène défectueux.

Plusieurs analyses physico-chimiques et microbiologiques sont à effectuer pour appréhender l'origine de la pollution de l'eau et d'apprécier l'évolution de sa qualité et son impact sur l'environnement et sur la santé publique.

L'analyse physico-chimique identifiera la concentration des minéraux dissous dans l'eau. L'identification de la couleur, de la turbidité, de la dureté (calcaire), de l'acidité (pH), des minéraux tels le fer et le manganèse, les chlorures, le tannin, le soufre, les nitrites et nitrates ainsi que les autres solides dissous, suit une méthode scientifique en laboratoire, à partir d'un échantillon d'eau.

La qualité microbiologique de l'eau se définit comme étant l'état de l'eau caractérisé par un niveau de présence de micro-organismes (virus, bactéries, protozoaires...) pouvant induire un risque sanitaire plus ou moins grand. Sa maîtrise repose sur des mesures de contrôle et de surveillance de paramètres microbiologiques et la mise en place d'une maintenance préventive. Les analyses microbiologiques doivent permettre d'isoler et d'identifier un microorganisme spécifique (méthode qualitative) ou de quantifier une flore particulière dans un échantillon (méthode quantitative). Le choix de méthode ne dépendra pas seulement de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitée.

Les techniques de détection moléculaire devraient constituer une révolution dans le domaine de l'analyse et permettre d'assurer une surveillance plus complète et plus réactive de la qualité microbiologique de l'eau. L'identification moléculaire repose sur la reconnaissance d'une ou plusieurs séquences nucléiques, contenues dans la molécule d'ADN (ou d'ARN) présentes dans tout micro-organisme vivant (bactéries, parasites, virus...). Les principaux avantages des outils moléculaires sont leur rapidité, leurs hauts niveaux de spécificité et de sensibilité, ainsi que leur aptitude à l'automatisation. Ce sont des outils universels applicables à l'analyse de tous micro-organismes même ceux que l'on ne sait pas identifier par les méthodes traditionnelles.



**Références
bibliographiques**

References bibliographiques

A

- **Abdellioui. S, Boukhdim. A, Hamzaoui. H., (2012)** .Qualité microbiologique d'un écosystème lotique Cas de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord-Est Algérien). Mémoire de Master. Université de 8 Mai 1945-Guelma. 72 p.
- **Abrekane. M, Hambli. S, et Tebbikh. O., (2011)**. Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux d'un écosystème lacustre cas de Garaet hadj Tahar (Skikda). Université 8 Mai 1945 Guelma, 43- 62 -79- 84 p.
- **Afssa. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, (2009)**. Risques liés à la présence des moisissures et levures dans les eaux conditionnées.
- **Agrigon. A., (2000)**. Annales de la qualité des eaux et des sédiments. DUNOD.206 p.
- **Amaramadi. A, et Touati. H., (2013)**.Qualité bactériologique et physico-chimique des eaux souterraines de la plaine de Tamlouka(Nord-Est DE L' Algérie). Mémoire de Master. Université de 08 Mai 1945-Guelma- 68 p.
- **Amira. W., (2008)**. Degré de contamination de l'eau de la mare Redjla (Taher) par les nitrates : Détermination de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau. Mémoire de magister. Université de Jijel. 103 p.
- **Aouissi. A., (2010)**. Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie). Mémoire de Magister en Hydro-écologie. Université de Guelma.120 p.
- **Archibald. F., (2003)**. Coliforme fécaux. Institut national de santé publique de Québec. 3 p.
- **Ayacha.N, Chellia. A, Mesbah. N., (2010)**. Etude de l'impact des rejets hospitaliers sur la microflore lotique (cas de l'oued Zenati). 112 p.
- **Ayad. W., (2017)**. Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines : Cas des puits de la région, D'EL-HARROUCH (Wilaya de SKIKDA). Thèse de doctorat en Microbiologie. Université Bedji-Moukhtar-Annaba.116 p.

B

- **Badillet. G, de briève. C, Guého. E., (1987).** Champignons contaminants de cultures, champignons opportunistes, atlas clinique et biologique, vol2, Ed VARIA, Paris.
- **Bazine. N, et Bourenane. A., (2011).**Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de l'oued Messida (parc national d'El kala ,W .d'El-Taref). Mémoire de Master. Université de 08 Mai 1945 Guelma
- **Baziz. N., (2008).**Etude sur la qualité de l'eau potable et risques potentiels sur la santé cas de la ville de Batna. Thèse de Magister. Université Colonel Elhadj Lakhdar Batna (Algérie), p: 144.
- **Belle Mbo. V.H, Vu Thien. G, Thuilleux. H, Ducou Le Pointe. A., Grand d'Esnon. A, Coulomb., (2010).** Infection à Salmonella entericastéréotypetyphimurium révélée par une masse rétrocaecale chez une enfant âgée de 8 ans. UFR de médecine Pierre-et-Marie-Curie. 28p.
- **Benchabane. R, et Merzoug. N., (2015).** Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et phytoplanctonique de l'eau du marais de Bussedra el Bouni (Annaba). Mémoire de Master. Université du 08 Mai 1945-Guelma-71 p.
- **Benfettoume. F., (2015).** La problématique de l'eau potable : analyses, traitements et recommandations. Mémoire de master 2. Université 8 Mai 45 De Guelma, Faculté Des Sciences et de la technologie
- **Bengherbia. A, Hamaidi. F, Zahraoui. R, Hamaidi. M, et Megateli. S., (2014).** Impact des rejets des eaux usées sur la qualité physicochimiques et bactériologique de l'oued Beni Aza (Blida, Algérie). Lebanese Science Journal 15 (2): 13 p.
- **Bengrait. W, Laribi. S, Mehamedia. K., (2012).** Etude comparative de la qualité physico-chimique et bactériologique entre l'eau traitée et l'eau de source de la région de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945-Guelma.69 p.
- **Benmessaoud. F., (2007).** Qualité physico-chimique, métallique et bactériologique des eaux de l'estuaire du Bou regreg et impact sur la biologie et la démographie de *Venerupis decussata* (LINNE, 1758) et *Cardium edule* (LINNE ,1767). Thèse de doctorat d'état. Université Mohammed v- agdal , 20p.
- **Bentaalla. S, et Bounous. A., (2016).**Application de biologie moléculaire dans le diagnostic moléculaire des infections causées par : bordetella pertussis, enterovirus et les herpesviridae par pcr en temps réel. Mémoire de master.Université M'hamed Bougara de Boumerdès. Faculté des Sciences. Département de Biologie.

- **Beriche. P, Gaillard. J.L, et Simouet. M., (1988).** Bactériologie, les bactéries des infections Humaines. Flammarion, 660p.
- **Berne. F, Jean C., (1991).**Traitement des eaux, Édition TECHNIP, Paris, 306 p.
- **Botton B., (1990).** Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle, 2^{ème}ed. Masson Ed, Paris. 95-189p.
- **Bouchaala. L, (2010).**Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'Oued-Zéneti (Guelma). Mémoire de Magister. Université de 08 Mai 1945-Guelma-. 137 p.
- **Bouchahed. B, Ghadjetti. M, et Khedairia R., (2019).** Étude des propriétés physicochimiques et microbiologiques du Sandre et du Barbeau capturés dans le barrage Bouhamdane. Mémoire de Master. Université de 8 Mai 1945-Guelma. 55 p.
- **Bouchair. C, et Benalia. H., (2015).** Etude de la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau du Lac Tonga (Parc National D'El-Kala, Nord-Est Algérien). Mémoire de Master. Université du 08 Mai 1945-Guelma- 64 p.
- **Bouchanan.R.E, et Gibbons. N.E., (1974).** Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology. 8th edition. Williams & Wilkins. 1246p.
- **Boucenina. H., (2018).** Analyse bactériologique des eaux de certaines écoles à lawilaya de Mila. Mémoire de master .Université des Frères Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Boucherit. A, et Hakimi. H., (2016).** Contribution à l'étude de la qualité physico chimique et bactériologique de l'eau du Barrage Hammam Debeigh-Guelma. Mémoire de Master. Université du 08 Mai 1945-Guelma- 67 p,
- **Boukrouma. N., (2008).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel: cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (W. d'Oum El-Bouaghi). Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p.
- **Boukroune. H., (2008).** Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau : cas du marais d'El-Kennar. Mémoire due Magister. Université de Jijel. 119p.
- **Bounab. B., (2016).** Analyse physico-chimiques de l'eau de la wilaya de Guelma mise en évidence du caractère corrosif et entartrant des eaux derobinet. Mémoire de master 2. Universite 8 Mai 45 De Guelma. Faculté Des Sciences et de la technologie.
- **Bouras. Z, et Sekfali S., (2013).** Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux superficielles « cas d'Oued Zénati » (Nord - Est Algérien). Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 de Guelma. 9-10-20p.

- **Bougeois. C.M, et Leveau. J.Y., (1980).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. APRIA.331 p.
- **Bouziani. M., (2000).** L'eau de la pénurie aux maladies, Edition ibn khaldoun, 247p.
- **Bouzidi. S, et Chelhi. Z., (2017).** Caractérisation physico-chimique et bactériologique avant et après traitement de l'eau du barrage de Hammam Debagh-Guelma. 38p.
- **Bricha. S, Ounene. K, Oulkheir. S, El haloui. N, et Attrassi. B., (2007).** Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique de la nappe phréatique M'nasra (Maroc). *Afriques sciences*. Vol. 03. N°3. pp 391-404.

C

- **Cahagnier. B, et Ruchard-Molard. D.,(1998).** Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés, Ed.Tec &Doc.140-158p
- **Camille. D., (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologiques des eaux. Réglementation, prélèvement. analyses. *Tec et Doc*.156 p.
- **Camille. B., (2014).** Détection des virus entériques infectieux dans le milieu hydrique : méthodes actuelles et perspectives.Mémoire du diplôme d'études spécialisées de pharmacie. Université de lorraine, faculté de pharmacie.
- **Carbonnelle. D, et Kouyoumdjian. S., (1998).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf* 251 p.
- **Cardot. C, et Gilles. A., (2013).** analyse des eaux réglementations, analyse volumétriques et spectrophotométriques. Statistique cours et exercices corrigés, Edition ellipse marketing, Paris. P : 325.
- **Castany. G, et Margot. T., (1977).** Dictionnaire Français D'hydrogéologie, Géologie Minière. 249 p.
- **Chaouch. R., (2007).** Identification et quantification des déchets solides encombrants plages d'Annaba: aspect physico-chimique et bactériologique des eaux. Mémoire de Magister. Université Badji-Mokhtar Annaba. 105p.
- **Chaoui. M., (2013).** Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et métallique des eaux de surface (oued Moulouya/barrage Hassan II) au voisinage de la mine abandonnée Zeïda (haute Moulouya). Mémoire de Master. Université Cadi Ayyad.13p.

- **Charchar. N., (2009).** Contribution à l'étude de la pollution d'Oued Seybouse (Guelma) par les tensioactifs anionique (LAS). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 121 p
- **Chelli. L, et Djouhri. N., (2013).** Analyses des eaux de réseau de la ville de Béjaia et évaluation de leur pouvoir entartrant. Mémoire de master. Université A. MIRA – BEJAIA, Faculté de Technologie.
- **Chérif Ibrahima. K., (2006).** Etude de la qualité microbiologique des eaux de boisson conditionnées en sachet et vendues sur la voie publique dans la région de Dakar. Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales. Université cheikh AntaDiop de Dakar, 16 p.
- **Chibani. S., (2009).** Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux de surfaces et souterraines de la région de Ain Makhoulf (Wilaya de Guelma). Mémoire de Magister. Université de 08 Mai 1945-Guelma-, 104 p.
- **Cohen. N, Karib. H., (2007).** *Vibriospp.* dans les produits de la pêche : Risques et prévention. Les technologies de laboratoire. N° 3. 7 p.
- **Collet. N., (2012).** Virus entériques et transmission hydrique : Méthodes analytiques, efficacité des filières d'épuration et contamination sur des sites littoraux avec coquillages.
- **Cuq. J.L., (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc., Université de Montpellier, p: 20-25.

D

- **Dahel Zanat. A.T., (2009).** Analyse de la qualité bactériologique des eaux du littoral Nord-Est algérien à travers un bioindicateur la moule *Perna perna*. Université badjimokhtar, Annaba. Thèse de magister p: 17.
- **Degremont., (2005).** «Mémento technique de l'eau », Deuxième édition Tom1.
- **Degremont. g., (2005).** Mémento technique de l'eau, Tome 1, 10ème édition, Edit. Tec et doc, PP: 3 -38.
- **Delarras. C., (2003).** Microbiologie de l'environnement avec législation. Travaux pratiques commentés, gaetanmorin éditeur. 223p
- **Dellarras. C., (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier: Tec et Doc. Paris. p 463.
- **Delarras. C., (2008).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Règlementation-prélèvements-analyses. Lavoisier : Tec& Doc. Paris. 476p.

- **Delarras. C., (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Tec & Doc/Lavoisier. 800 p
- **Delarras. C, et Trébaol. B., (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologiques des eaux. Tec & Doc EM INTER. France. 304 p.
- **Denis F., (2007).** Bactériologie médicale techniques usuelles. Masson. 384p.
- **Denis. F, Ploy. M, Martin. C, Bingen. E, et Quentin. R., (2007).** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Elsevier Masson 612 p.
- **Detay. M., (1993).** Le Forage D'eau ; Réalisation, Entretien Et Réhabilitation. *Masson.* 379p.
- **De Villersi, et Squilbin. M., (2005).** Qualité physicochimique et chimique des eaux de surface. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement. p16

E

- **Edber. R, Raczynski. M, Prost.J.C, et Elmur. T., (2000).** Aide à la fiabilisation de l'eau potable en milieu rural .Aspect technique et financiers. Oiseau, France p5.
- **Elafri. A., (2009).** Contribution à l'étude de la pollution des eaux du bassin de la Seybouse: cas des rejets industriels de l'unité du marbre et des carrelages. (suivi de la qualité physicochimique et bactériologique). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945. Guelma. 140 p.

F

- **Federighi. M., (2005).** Bactériologie alimentaire- Compendium d'hygiène des aliments. 2ème édition: Economica.
- **Ferdes. H, et Merchela. W., (2012).** Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau de GaraetGuellif d'Oum el Bouaghi. Mémoire de Master. Université du 08 Mai 1945-Guelma- 50 p.

G

- **Gerard. G., (1999).** L'eau, milieu naturel et maîtrise, Édition INRA : Volume 1, 204p.
- **Gleick. P.H., (1993).** « Water resource : A long range global evaluation » Ecology Law Quarterly Vol. 20, No. 1. 141-149p.
- **Gregorio. C, et Pierre-Marie. B., (2007).** Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: Procédés, Presses Univ. Franche-Comté, 356 p.

- **Guiraud. J., (1998).** Microbiologie alimentaire, Paris, Dunod, 651p.

H

- **Hedahdia. A, et Aliouche. S., (2016).** Contribution a l'étude de l'origine de la contamination fécale des eaux du barrage Bouhamdane–Guelma. Université 8 mai 1945 Guelma. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers
- **Hidouci. S., (2009).** Qualité bactériologique des eaux du golfe d'Annaba. Mémoire de Magister en science de mer. Université Badji-Moukhater, Annaba.132 p.

I

- **INSP., (2009).** Situation épidémiologique sur la base des cas déclarés à L'INSP. Problématique du secteur de l'eau et impacts liés au climat en Algérie.

J

- **Joffin. C, et Joffin. J., (1999).** Microbiologie alimentaire. CRDP d'Aquitaine,5ème édition.Doin.France.185p.
- **Joffin. J, et Leyral. G., (2009).** Microbiologie technique. 4e éd. CRDP aquitaine. 312 p.
- **Joffin. J.J.N, et Leyrol. G., (2001).** Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3 ème éditions. CRDP d'Aquitaine. 320p.
- **Juzan. L, pernelle. J.J, et Dabert. P., (2012).** Les outils de la biologie moléculaire pour l'analyse microbiologique des boues activées. Sciences Eaux & Territoires, p 76 - p 81.

K

- **Kherifi. N, et Achi. I., (2016).** Caractéristiques physico-chimiques d'un cours d'eau (cas de l'Oued Charef) dans la région de Guelma (Nord-est algérien). Mémoire de Master. Université 8 Mais 1945 Guelma.
- **Kherifi. W, et Bekiri. F., (2016).** Les maladies à transmission hydrique en Algérie ,*Waterborne diseases in Algeria* (2016), Journal Algérien des Régions Arides (JARA) CRSTRA NO 14 (2017), Division Eau, Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides (CRSTRA), Biskra, Algérie.p 75-82 .
- **Kirkpatrick. K, et fleming. E., (2008).** La qualité de l'eau, ROSS TECH 07/47, 12p.
- **Kreisel. W., (1991).** Water quality and health, Paris, Donod, 209 p.

L

- **Ladjet. 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.
- **Laidani. Y, Henini. G, Khatmi. B, et Dellal. A., (2009).** Evaluation de la pollution des eaux du sous bassin versant de L'Oued Mina. 2ème colloque international de chimie - CIC2-Batna, du 1 au 3 décembre 2009.
- **Lassoued. K, et Touhami. N., (2008).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau du barrage de hammam debagh. Mémoire D'ingénierie. Univ. Guelma. 1p.
- **Lebres. E., (2002).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments. Institut Pasteur. 34 p.
- **Lebres. E, Azizi. D, Hamza. A, Taleb. F, et Taouchichet. B., (2002).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments microbiologique des eaux, des boissons et des produits de la mer. Pasteur d'Algérie.
- **Lebres. E., (2004c).** Identification biochimique des micro-organismes, Institut Pasteur d'Algérie.
- **Lebres. E., (2005).** Manuel des travaux pratiques : analyse des eaux. Institut Pasteur d'Algérie, 60 p.
- **Lebres. E., (2006).** Cours D'hygiène Et De Microbiologie Des Eaux (Manuel De Travaux Pratiques Des Eaux). Institut Pasteur d'Algérie. 60p.
- **Lebres. E, Azizi. D, et Boudjileb., (2006).** Cours d'hygiène et de microbiologie des Eaux : Microbiologie des eaux et des boissons. Institut Pasteur d'Algérie. 60 p.
- **Lebres. E, et Mouffok. F., (2008).** Le cours nationale d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 53p.
- **Lecellier. A., (2013).** Détection Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne-Ardenne. 196 p
- **Lemonor. L, et Veron. M., (1989).** Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine Science. 845P.
- **Lesne. J., (1998).** Hygiène publique, microbiologie et gestion de l'eau. Ecole nationale de la santé publique, Rebbes, France, 07 p

- **Lounnas. A., (2008).** Amélioration des procédés de clarification des eaux de la station Hamadi - kroma de skikda, Algérie. Mémoire de Magister. Université du 20 Août 1955 Skikda. 120 p.

M

- **Maiga. A., (2005).** Qualité organoleptique de l'eau de consommation produite et distribuée par l'EDM.SA dans la ville de Bamako : évaluation saisonnière, Bamako (Mali). Thèse diplôme d'état (Docteur en Pharmacie), p: 77.
- **Manceur. Y, et Djaballah. S., (2016).** Analyse microbiologique de l'eau distribuée dans la ville de Tébessa. Mémoire de master. Université Larbi Tébessi – Tébessa. Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
- **Marchal. N, Bourdon. J.1, et Richard. C., (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .biologie appliquée. Editions Douin, Paris pp: 50-364
- **Mechai. A., (2009).** Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat. Université de BedjiMoukhtar –Annaba.160 p.
- **Merabet. S., (2010).** Évaluation de la qualité physico-chimique des eaux brutes et Distribuéesdu barrage réservoir de Beni Haroun. Mémoire de Magister. Université Mentouri,Constantine, 110p
- **Merzoug. E., (2009).** Étude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Ben Azzouz, wilaya de Skikda). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 113 p.
- **Monode. T., (1989).** Méharées géographie. Loisir. France, 233 p.
- **Morabbi. A, et Souabni. O., (2013).** Caractérisation de la qualité des ressources en eau dans le sous bassin Ksob (Région d'Essaouira, Maroc). Mémoire de licence. Université cad i ayyad, 27-28 p
- **Morsse. N., (2015).** La biologie moléculaire et le diagnostic des maladies cutanées. These de Doctorat en Médecine. Université Mohammed v- rabat. Faculté de médecine et de pharmacie rabat.
- **Mouffok. F., (2001).** Guide technique d'analyses bactériologiques des eaux de mer, institut Pasteur d'alger. 40 p.
-

N

- **N'diaye. A., (2008).** Etude bactériologique des eaux de boissons vendues en sachet dans quatre communes d'Abidjan. Thèse Diplôme d'Etat (Docteur en Pharmacie). Université de Bamako. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (Mali), p: 188.
- **Nauciel. C, et Jean-Louis.V., (2005).**Bactériologie médicale. Masson. 2^{ème} édition. 257p..

O

- **OMS., (1986).** Directive por la qualité de l'eau de boisson. Volume 1 (Recommandations). Organisation Mondiale de la Santé. 2^{ième} édition.
- **Oughidni. S., et Sebti B., (2015).** Contribution à l'étude physico-chimique et bactériologique de l'eau des zones humides urbaines de la Wilaya d'Annaba : Cas du marais de Bousseadra. Mémoire de Master. Université du 08 Mai 1945-Guelma- 73 p.

P

- **Payment. P, et Pintar.K., (2006).** «Microorganismes pathogènes transmis par la voie hydrique: une évaluation critique des méthodes, des résultats et de leur interprétation», Revue des sciences de l'eau, vol. 19, no 3, p. 233-245
- **Pechère. J.C, Acarj, Grenier. B, et Nihoule. E., (1982).** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4^{ème}édition. Edisem ST-Hyacinthe. Québec. 509p.
- **Peterson. S.W., (2006).**Multiplication sequence analysis of penicillium and europeniillium species,rev. Iberoam micol, 23(3), 134-8p.
- **Pilet. C, Bourdon. J.L, Toma. B, Marchal. N, Balbastre. C, et Person J.M., (1987).** *Bactériologie Médicale Et Vétérinaire: Systématique Bactérienne*. Paris, Douin, 372 p.
- **Podglajen. I, et Mainardi. J.L., (2007).** Apport des techniques de biologie moléculaire dans le diagnostic des endocardites infectieuses Contribution of molecular techniques to the diagnosis of infective endocarditis, p 193-199.

R

- **Rabetafika. H.N, Paquot. M, Janssens. L, et Castiaux. A., (2006).** Développement durable et Ressources Renouvelables, ph. Dubois 2006, la Politique scientifiqueFédérale. Rue de la Science 8 B-1000 Bruxelles. Belgique. 1, (4), 56-63p.

- **Ramade. F., (1982).** *Éléments D'écologie, Ecologie Appliquée, L'action De L'homme Sur La Biosphère*, 2ème édition, Paris, Masson, 422 p.
- **Redman, Grant. S.B, Olson. T.M, Hardy. M.E, et Estes.M.K., (1997).** Filtration of recombinant norwalk virus particles and bacteriophage MS2 in quartz sand: importance of electrostatic interactions. *Environmental Science & Technology*, 31, pp. 3378-83.
- **Reggam. A., (2015).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physico-chimiques des eaux d'Oued Seybouse. Thèse de Doctorat. Université 8 mai 1945, Algérie, 131p.
- **Rejesk. F., (2002).** Analyse des eaux- Aspects réglementaires et techniques, Biologie technique CRDP d'aquitaine. 358 p.
- **Remini. B., (2005).** La problématique de l'eau en Algérie. Collection hydraulique et transport, Blida. 182 p.
- **Rodier. J., (1996).** Analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires. 8ème édition, Paris, Dunod, 1130 p.
- **Rodier. J., (2005).** L'analyse De L'eau ; Eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux De Mer. 8ème édition. Dunod. 1383 p.
- **Rodier. J., (2009).** L'analyse de l'eau, 9ème édition, Ed. Dunod, 1579 p.
- **Rodier. J, Bazin. C, Broutin. J.P, Chambon. P, Champsaur. H, et Rodi. L., (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.
- **Rodier. J, Bazin. C, Broutin. J, Chambon. P, Champsaur. H, et Rodil., (1996).** L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer .8ème Edition Dunod, Paris .1383p
- **Rodier. J, Beuffr. H, Bournaud. M, Broutin. J.P, Geoffray. C.H, Kovacsik. G, Laport. J, Pattee. E, Plissier. M, Rodi. L, et Vial. J., (1984).** L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 7ème édition, Dunod, Paris, 5 p.
- **Rodier. J, Legube. B, et Merlet. N., (2009).** L'analyse de l'eau, 9ème édition, Ed. Dunod, 1579p.
- **Rouaigia. M., (2010).** Qualité microbiologique de l'eau d'Oued Messida. Mémoire de Master 2. Université de 8 Mai 1945-Guelma.78 p.
- **Roux. D., (1987).** Office International de L'eau : L'analyse biologique de l'eau. TEC et DOC. Paris. 229 p

- **Roux., (2003).** TP de microbiologie : Analyses de l'eau. NOVELLO Célia. IUP SIAL. Université Paris 12p.

S

- **Samantha. P., (2017).** Méthode d'identification bactérienne par PCR quantitative appliquée à un modèle de biofilm oral pluri-espèces dynamique.
- **Santé Canada., (2012a).** Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique C Protozoaires entériques : *Giardia* et *Cryptosporidium*.
- **Sari H., (2014).** Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau de la source «Attar » Tlemcen. Mémoire de Master. Université Abou-BekrBelkaid, Tlemcen. 9-10- 35p.
- **Sayad L., (2008).** Qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (Wilaya de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 125 p
- **Schwartzbrod. L., (2000).** virus humains et sante publique : conséquences de l'utilisation des eaux usées et des boues en agriculture et conchyliculture, centre collaborateur OMS pour les microorganismes dans les eaux usées. Université de Nancy (France). Faculté de Pharmacie
- **Souadkia. B, et Zaimen. F., (2015).** Contribution à l'étude de quelques paramètres physico-chimiques et microbiologiques des eaux du lac oubeira. Mémoire de master. Université 8 mai 1945 Guelma. Faculte des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers

T

- **Thierrin. J, Steffen. P, Cornaz. S, Vualaz. F.D, Balderer. W, Looser. M, Zpbrit. J, et Zumstein. J., (2001).** Guide Pratique De L'échantillonnage Des Eaux Souterraines. Société Suisse D'Hydrogéologie. 57p.
- **Tourab. H., (2013).** Contribution à l'étude de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux souterraines dans la plaine du Haouz. Mémoire de fin d'étude. Université des Sciences et Techniques Cadi Ayyad, FST Marrakech (Maroc), p: 82.
- **Terbeche. M., (2006).** Tendances de la contamination bactériologique et métallique chez la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) exploitée dans la baie d'Oran. Mémoire de Magister. Université ES SENIA, Oran. 162 p.

U

- **U.S. EPA (2005a).** Method 1623: Cryptosporidium and Giardia in water by filtration/IMS/FA. Office of Water, Office of Science and Technology, Engineering and Analysis Division, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC (EPA 821-R-01-025) p.
- **U.S. EPA (2012).** Method 1623.1: Cryptosporidium and Giardia in water by filtration/IMS/FA. Office of Water, Office of Science and Technology, Engineering and Analysis Division, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC (EPA 821-R-01-025) p.

V

- **Villagines. R., (2003).** Eau, environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie, 2ème Edition : Tec et Doc. Lavoisier. 3p

Z

- **Zeddouri. A., (2003).** Contribution à L'étude Hydrogéologique Et Hydro-chimique De La Plaine Alluviale De Guelma (Essai De Modélisation), Guelma, NE Algérien. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar, Annaba. 107 p.

Sites web :

[01] -<https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/developpement-durable-eau-5715>
(consulté le 23/03/2020).

[02]-<https://www.cieau.com/espace-enseignants-et-jeunes/les-enfants-et-si-on-en-apprenait-plus-sur-leau-du-robinet/cycle-de-leau> (consulté le 23/03/2020).

[03]- <https://www.iaea.org/fr/themes/les-eaux-souterraines> (consulté le 25/03/2020).

[04]-<https://www.cieau.com/connaitre-leau/leau-dans-la-nature/eau-douce-tout-savoir>
(consulté le 25/03/2020).

[05]<http://www.lyc-ferry-conflans.ac-versailles.fr/Disciplines/SVT/MISVT/2nde3-09-10/Th6-DD/Site-Laura-Chahrazed/2definition-pollution.html> (Consulté le 08/05/2020).

- [06]-<https://sites.google.com/site/pollusiondelenvironnement/definition-de-la-pollution>
(Consulté le 09/05/2020).
- [07]- <https://fr.oceancampus.eu/cours/7Mc/la-pollution-de-leau> (Consulté le 10/05/2020).
- [08]https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2009/11/medsci20092511p921/medsci20092511p921.html (Consulté le 05/07/2020).
- [09]<https://www.santemagazine.fr/sante/fiche-maladie/candidosecandida177203> (Consulté le 15/05/2020)
- [10]<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2514813-candida-albicans-definition-traitement-symptomes/> (Consulté le 15/05/2020)
- [11]<https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=dermatophytose>
[Consulté le 15/05/2020)
- [12][https://www.news-medical.net/health/What-are-Helminths-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/health/What-are-Helminths-(French).aspx) (Consulté le 15/05/2020)
- [13]<https://www.suezwaterhandbook.fr/eau-et-generalites/analyses-et-traitabilite-des-eaux/les-prelevements/identification-transport-et-conservation-des-echantillons> (Consulté 25/5/2020).
- [14]<https://www.dz.endress.com/fr/instrumentation-terrain-sur-mesure/analyse-liquides-produits/preleveurs-echantillons-automatiques>(Consulté le 30/06/2020)
- [15]<http://www.sandre.eaufrance.fr/definition/ALQ/2.1#:~:text=ANALYSE%20PHYSICO%20DCHIMIQUE%20ET%20MICROBIOLOGIQUE,de%20la%20station%20de%20mesure.>
(Consulté le 18/06/2020)
- [16]<https://www.cieau.com/connaître-leau/connaître-leau/les-proprietes-de-leau/>(Consulté le 18/06/2020)
- [17]http://www.ecosociosystemes.fr/eau_proprietes_physicochimiques.html(Consulté le 18/06/2020)
- [18]https://www.oieau.fr/ReFEA/fiches/AnalyseEau/Physico_chimie_PresGen.htm#:~:text=A%20analyse%20physico%20Dchimique%20F%20Pr%EF%BF%BDsentation%20generale&text=La%20

[20temp%C3%A9rature%20de%20l'eau,la%20temp%C3%A9rature%20\(conductivit%C3%A9%20notamment\).&text=La%20temp%C3%A9rature%20doit%20%C3%AAtre%20mesur%C3%A9e%20in%20situ](#).(Consulté le 04/06/2020)

[19] «univ-tln» En ligne. <http://isiv.univ-tln.fr/~lecalve/oceano/plan.htm>(Consulté le 06/06/2020)

[20]http://www.memoireonline.com/.../m_Etude-de-la-qualité-de-l'eau-de-robinet-et-de-celle-de-la-nappe-phratique-dans-les-di0.html(Consulté le 07/06/2020)

[21][http://sites.crdpaquitaine.fr/stl/lexique/analysemicrobiologique/#~:text=Analyse%20microbiologique,un%20%C3%A9chantillon%20\(m%C3%A9thode%20quantitative\)](http://sites.crdpaquitaine.fr/stl/lexique/analysemicrobiologique/#~:text=Analyse%20microbiologique,un%20%C3%A9chantillon%20(m%C3%A9thode%20quantitative))(Consulté le 21/06/2020)

[22]<http://webphysique.fr/dilution/#D%C3%A9finition> (Consulté 06/08/2020)

[23]https://firsupport.hach.com/app/answers/answer_view/a_id/1022743/~/quel-est-le-but-de-la-dilution-%3F- (Consulté 06/08/2020)

[24]https://www.etudier.com/dissertations/Principe-De-DilutionEt_Dissolution/69034390.html (Consulté 06/08/2020)

[25] <http://sch3ul.chez.com/3.8.htm>(Consulté 07/08/2020)

[26]https://www.google.com/search?q=salmonella&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKewioI7UsP_qAhUvAmMBHQJXC-kQ_AUoAXoECBUQAw&biw=1366&bih=576 (Consulté 03/02/2020)

[27]https://www.google.com/search?q=shigella&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKewjA7J7gsv_qAhVxx4UKHYJkD34Q_AUoAXoECBgQAw&biw=1366&bih=576 (Consulté 03/02/2020)

[28]https://www.google.com/search?q=staphylococcus+aureus+gram+positive&tbm=isch&hl=fr&chips=q:staphylococcus+aureus+gram+positive,online_chips:positive+bacteria&hl=fr&sa=X&ved=2ahUKewj574z6sP_qAhUB5IUkHTZMC2EQ4IYoCXoECAEQHQ&biw=1349&bih=576.(Consulté 03/02/2020)

[29]https://www.google.com/search?q=VIBRIO+CHOLERA&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKewi3_8G44PLqAhUj8uAKHfYoBr8Q_AUoAnoECBkQBA&biw=1366&bih=576(Consulté 29/07/2020).

[30]<https://www.shutterstock.com/fr/search/pseudomonas+aeruginosa> (Consulté le 28/07/2020)

[31]<http://www.google.com/search?q=api+e20&client> (Consulté le 27/06/2020)

[32]<https://microbiologyinfo.com/catalase-test-principle-uses-procedure-result-interpretation-with-precautions/>(Consulté le 29/07/2020)

[33]https://www.google.com/search?q=test+oxydase+photo&bih=647&biw=1334&h=fr&sxsrf=ALeKk00pDsZQPxx0MmbUFtmdb9JmonaXw:1598112651081&tbn=isch&source=iu&ictx=1&fir=69e-fG3pi9-ynM%252CoXA8xDWRafjA3M%252C_&vet=1&usg=AI4_kRKv5KZk3raGbvKNsSXO13ESuEj6w&sa=X&ved=2ahUKEwjqrYPHma_rAhVFxYUKHRF8CfMQ9QEwBXoECAoQIA#imgrc=69e-fG3pi9-ynM (Consulté le 29/08/2020)

[34]<https://microbeonline.com/diagnostic-tests-biochemical-tests-coagulase-test/>(Consulté le 29/08/2020)

[35]<http://www.techmicrobio.eu/index.php/maq/procedures-ecrites/191-m2002>(Consulté 28/07/2020)

[36]https://nanopdf.com/download/tp1-master-wordpresscom_pdf(Consulté 28/07/2020).

[37]https://www.google.com/search?q=citrate+de+simmons&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKewiC8I2ExvLqAhVfoVwKHdotBKYQ_AUoAXoECBMQAw&biw=1366&bih=576#imgrc=xEiNLjo7sbTD6M (Consulté 29/07/2020).

[38]<https://aidestl-bgb.skyrock.com/287210793-Le-milieu-MannitolMobilité.html>(Consulté 29/07/2020)

[39]https://www.google.com/search?q=le+milieu+TSI&tbn=isch&ved=2ahUKewjToW8pqAhXX04UKHSMoBMQQ2cCegQIABAA&oq=le+milieu+TSI&gs_lcp=CgNpbWcQAzoCCAA6BggAEAUQHjoGCAAQCBAeOgQIABAYUKweWLk5YNY6aABwAHgAgAHNA4gBqBSSAQcyLTiUMi4zmAEAoAEBqgELZ3dzLXdpeilpbWfAAQE&sclient=img&ei=sCco

[X9OLENenlwSj0JCgDA&bih=625&biw=1366#imgrc=x-KTXWzDU4Nq_M](https://www.google.com/search?q=le+bouillon+nitrate+r%C3%A9ductase&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKewjpoaOPnqAhUBZd8KHeNCC3oQAUoAXoECAwQA&biw=1366&bih=625)(Consulté 3/2/2020).

[40]<https://www.google.com/search?q=le+bouillon+nitrate+r%C3%A9ductase&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKewjpoaOPnqAhUBZd8KHeNCC3oQAUoAXoECAwQA&biw=1366&bih=625>(Consulté 1/8/2020).

[41]<http://people.uleth.ca/~selibl/BioB200/BiochTests/Indole.html>(Consulté le 28/07/2020)

[42]<https://www.google.com/search?q=ur%C3%A9indole&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKewiyk7DvzLqAhUTAWMBHYYwCdAQAUoAXoECBAQAw&biw=1366&bih=576#imgrc=TAR9Uj15EfztM>.(Consulté 29/07/2020).

[43]https://www.google.com/search?q=test+vp&tbm=isch&hl=fr&sa=X&ved=2ahUKewix5nczfLqAhUY_xoKHbXqAccQrNwCKAF6BQgBEIIC&biw=1349&bih=576(Consulté 29/07/2020).

[44]https://www.msmanuals.com/media/Manual/LabTests/FungalTests_fr.html(Consulté le 27/06/2020)

[45]http://ww2.ac-poitiers.fr/biochimie/IMG/pdf/doc_mallette_filtration-mb.pdf(Consulté le 17/08/2020)

[46]<http://www.institut-virologie.fr/virologie-medicale/>(Consulté le 05/07/2020)

[47]<https://www.canada.ca/fr/sante-canada/programmes/protozoaires-enteriques-eau-potable/document-consultation.html>(Consulté le 15/07/2020)

[48]<https://www.suezwaterhandbook.fr/eau-et-generalites/analyses-et-traitabilite-des-eaux/les-analyses/analyses-microbiologiques>(Consulté le 29/06/2020)

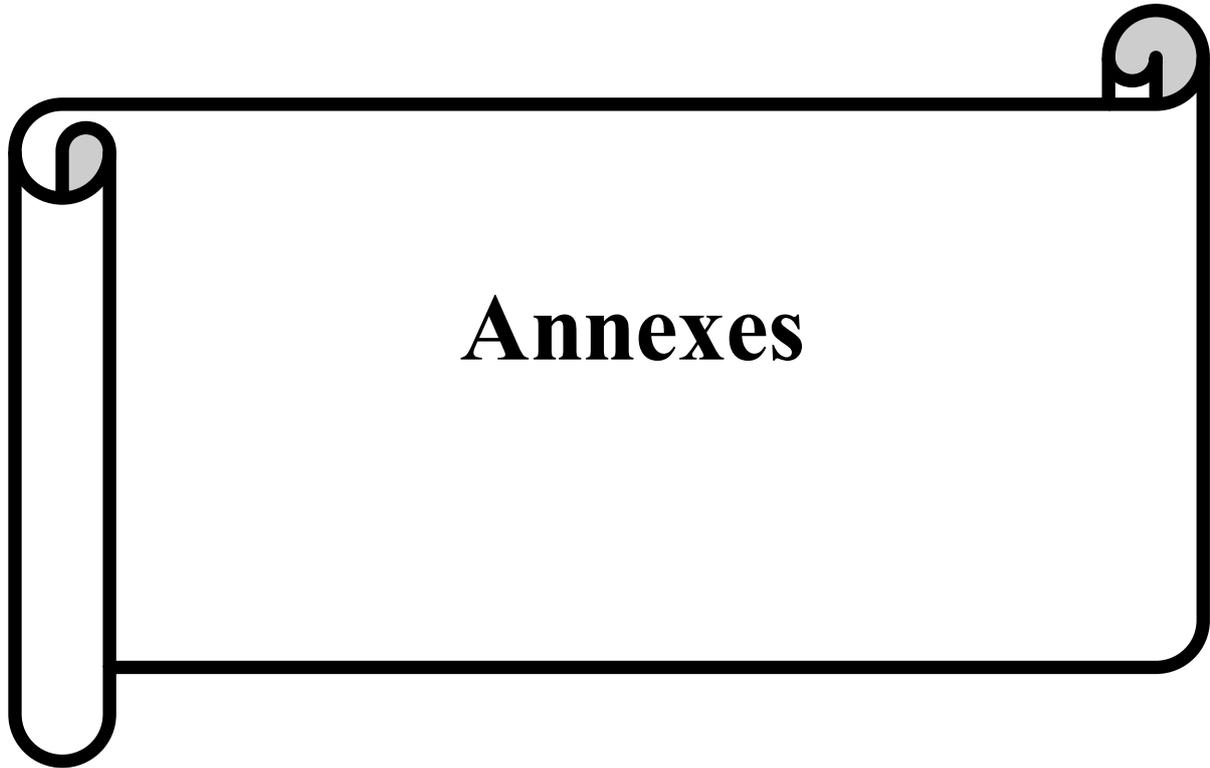
[49]<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/genetique-pcr-91/>(Consulté 9/8/2020).

[50][https://www.em-consulte.com/article/61470/1-cr-ligasechainreaction#:~:text=La%20LCR%20\(ligase%20chain%20reaction,une%20enzyme%20de%20type%20ligase](https://www.em-consulte.com/article/61470/1-cr-ligasechainreaction#:~:text=La%20LCR%20(ligase%20chain%20reaction,une%20enzyme%20de%20type%20ligase). (Consulté 08/08/2020)

[51]<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7148720/#:~:text=La%20biologie%20mol%C3%A9culaire%20est%20omnipr%C3%A9sente,risques%20biologiques%20naturels%20ou%20non>. (Consulté le 08/08/2020)

[52][https://www.em-consulte.com/article/61446/amplification-par-deplacement-de-brinsda#:~:text=La%20technique%20SDA%20\(pour%20strand,'activité%20exonucléasique%20\(exo-](https://www.em-consulte.com/article/61446/amplification-par-deplacement-de-brinsda#:~:text=La%20technique%20SDA%20(pour%20strand,'activité%20exonucléasique%20(exo-))). (Consulté le 08/08/2020)

[53]<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/genetique-pcr-91/> consulté 9/8/2020).



Annexes

Annexe 01 :

- Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E.

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/Immédiat	
IND	Tryptophane	Production d'indole	Jaune	Marron foncé
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mm	
			incolore	Rosé-rouge
GEL				
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	Ox / 5-10 mm	
			incolore	Anneau violet
NO ₃ - NO ₂	Tube GLU	Production de NO ₂ Réduction au stade N ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mm	
			Jaune	Rouge
			Zn	
			Rouge	Jaune
MOB	Microscope	Mobilité	Immobile	Mobile
MAC	Milieu de Mac Conkey	Culture sur	Absence	Présence
OF	Glucose	Fermentation : sous huile Oxydation : à l'aire	Vert Vert	Jaune Jaune
CAT		Possession d'une catalase	H ₂ O ₂ / 1-2 mm	
			Pas De Bulles	Bulles