

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



540. X04

Mémoire de Master

AN/UM

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Biologie moléculaire des
procaryotes

Thème

L'eau potable et les contraintes de la désinfection

Présentées par :

 BOUCHELAGHEM Zehor

 HARRATHIA Houria

 LABADLIA Leyla

 MEZIANI Beldia

Devant le jury composé de :

Président : M^r. BENOUARETH Djamel Eddine (Pr.)

Examinateur : M^{me}. TORCHE Asma (M.A)

Encadreur : M^{me}. KHELLAF Messacouda (M.A)

Invitée: M^{lle} HADDED Soumia.

Juin 2011

Remerciements

Nous exprimons notre profonde gratitude avant tout au bon **Dieu** méricordieux qui a nous aidé et qui nous a donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

A notre maître et président de jury **M^r.Benouareth**

C'est un grand honneur que vous nous accordez en acceptant de bien vouloir présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Vous avez cultivé en nous le sens du travail bien fait et la rigueur dans la démarche scientifique. C'est ici l'occasion de vous rendre cet hommage, de vous dire combien de fois nous avons été séduits par votre rigueur scientifique, ainsi que vos qualités humaine.

Veillez acceptez cher maître l'expression de notre sincère admiration et notre profonde reconnaissance.

A notre directrice de mémoire **M^{me}.Kellaf**.

Nous ne trouvons certainement pas la formule pour vous exprimer notre reconnaissance et notre entière gratitude pour votre soutien total, votre disponibilité sans limite et vos orientations inestimables ainsi que pour votre patience exemplaire. Vous nous honorez vraiment en acceptant de diriger ce mémoire, malgré vos multiples occupations.

A notre examinateur de mémoire **M^{me}.Torche**.

Pour avoir eu la gentillesse de corriger ce travail et de nous honorer de participer à notre jury de mémoire malgré vos multiples occupations.

Veillez accepter chère maître nos sincères remerciements respectueux.

A notre chère invitée **M^{lle} Haddad Soumia**

Nous sommes heureuses de vous compter parmi ce jury. Vous avez été intéressée dès le premier jour de notre rencontre par la réalisation de ce travail. En dehors de votre assistance scientifique, vous avez été une adorable sœur pour nous au cours de votre collaboration.

Trouvez ici chère sœur Soumia l'expression de notre profond respect.

Nos vifs remerciements vont également aux techniciennes de laboratoire **M^{me} Houria** et **M^{lle} Houda** pour leur accueil et leur aide technique.

Nous sommes très reconnaissantes à tous ceux qui ont nous apporté aide, de près ou de loin afin d'accomplir au mieux ce travail.

Dédicace

➤ A mes parents :

J'adresse tous mes remerciements et bien plus que ça à mes parents qui ont toujours été présents lorsque j'en ai eu besoin, seul Dieu peut vous gratifier de tout ce que vous avez fait pour nous.

Que Dieu le tout puissant vous accorde longue vie, bonne santé et bonheur à nos côtés et qu'il puisse me donner les moyens nécessaires pour vous rendre le faveur ;AMEN

➤ A mon frère HAROUN pour son aide lorsque j'en ai eu besoin et SAMIR.

➤ A mes sœurs SAMIHA, NADA, SARA, ASMA et HADIL.

➤ A mes oncles, tantes sur tous à la mémoire de ma chère tante *HAYET*, cousins et cousines pour votre courtoisie, votre sympathie et votre solidarité à mon égard.

➤ A mes collègues de thèse : ZEHOR, LEYLA et AFEF.

➤ J'adresse d'immenses remerciements à tous les amis que j'ai eu la chance de rencontrer au cours de ces cinq années sur tout : HOUDA, SOUHILA, NAOUEL, SANA, HAYETTE, LOUIZA, NABILA.

➤ Je voudrais remercier en particulier mes collègues de travail de laboratoire : LOUIZA, ABED ELKARIM, SOUED, KAWTHER, LINDA, NESRINE, MERIEM et SANA.

HOURIA

Dédicace

➤ A mon père

J'aimerais souligner l'appui inconditionnel de mon père ainsi que son dévouement tout au long de mes études. Son vœu le plus cher était d'être présent lors de ma soutenance.

Je désire dédier ce modeste travail à sa mémoire en espérant avoir été à la hauteur de ses attentes. For you dad, hope you're proud, I miss you so much.

➤ A ma mère

Les mots me manquent pour vous qualifier, tout ce que j'aurais à dire ne saurait exprimer à fond tout le sacrifice et l'endurance que vous avez subie pour nous élever.

Je ne saurais jamais vous remercier assez. Seul Dieu peut vous gratifier de tout ce que vous avez fait pour nous.

Que Dieu le tout puissant vous accorde longue vie, bonne santé et bonheur à nos côtés et qu'il puisse me donner les moyens nécessaires pour vous rendre le faveur. AMEN

➤ A ma sœur HADJER

Tu n'avais en aucun moment failli à votre devoir. Mon affection pour vous est sans limite.

➤ A mes frères IMED et HICHEM qui ont toujours été présents lorsque j'en ai eu besoin

Pour leur humour et leur vivacité d'esprit,

Pour qu'ils soient fiers de leur petite sœur !

Pour tous les bons moments passés ensemble et ceux à venir.

Vos soutiens sans réserve et vos encouragements m'ont permis d'affronter beaucoup d'épreuves.

➤ A mes oncles, tantes, cousins et cousines pour votre courtoisie, votre sympathie et votre solidarité à mon égard

➤ A mes collègues de thèse : Zehor, Leila et Houria toute ma gratitude pour l'esprit de collaboration dont vous ne cessez de me faire preuve, je ne trouve pas de mots pour exprimer mes sentiments à votre égard, je vous dirai simplement merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

➤ J'adresse d'immenses remerciements à tous les amis que j'ai eu la chance de rencontrer au cours de ces cinq années sur tout : Nadia, Hiba, Fatima, Zineb, Imen, Fouzia, Ibtissem, Kenza, Soumia, Yasmin et Houda pour tous ce que nous avons partagé et tous les moments que nous avons passés ensemble. . Que Dieu vous réserve de très belles surprises dans votre vie.

BELDIA "AFEF"

Dédicace

Je dédie ce travail...

✿ *A la mémoire de ma sœur SELMA. I miss you so much.*

✿ *A mon père*

Vous avez fait d'énormes sacrifices pour vos enfants et vous n'avez jamais cessé de nous prodiguer des conseils pour le droit chemin. Que votre simplicité, votre disponibilité, et votre respect pour les autres me servent d'exemples.

✿ *A ma mère*

Les mots me manquent pour vous qualifier, tout ce que j'aurais à dire ne saurait, exprimer à fond tout le sacrifice et l'endurance que vous avez du subir pour nous élever. Je ne saurais jamais vous remercier assez.

Père, mère; seul Dieu peut vous gratifier de tout ce que vous avez fait pour nous. Je vous demande pardon et vos bénédictions nuits et jours.

Que Dieu le tout puissant vous accorde longue vie, bonne santé et bonheur à nos cotes et qu'il puisse me donner les moyens nécessaires afin que je puisse vous combler à mou tour

✿ *A mon frère Bilal, pour qu'il soit fier de sa grande sœur, pour tous les bons moments passés ensemble et ceux à venir.*

✿ *A ma petite sœur Achouak, Pour son humour et sa vivacité d'esprit.*

Bilal, Achouak; mon affection pour vous est sans limite. Que Dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.

✿ *A ma grande mère, que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

✿ *A ma petite aute et sœur Amina pour votre courtoisie, votre sympathie et votre solidarité à mon égard.*

✿ *A mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

✿ *A mes amies et collègues de mémoire: Zehar, Houria et Afef pour tout ce que nous avons partagé, échangé ensemble dans les moments les plus durs comme dans les plus agréables durant ces trois années.*

Ce travail est le symbole d'un profond amour fraternel. Que Dieu nous réserve de très belles surprises dans notre vie.

✿ *A l'ami intime de ma sœur Sefma: Loubna (Zazia)*

✿ *A mes amis d'enfance: Ibtissem, Mounira et Hamida.*

✿ *A tous mes amis et collègues que j'ai eu la chance de rencontrer au cours de ces cinq années sur tout: Rahma et Ghania, pour tous les moments que nous avons passés ensemble.*

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

A toute.

Leyla



*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,
Le respect, la reconnaissance...
Aussi, c'est tout simplement que*

*Je dédie ce
mémoire...*



A MES TRÈS CHÈRE PARENTS :

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous.

Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour vous, recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.

Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.

A Mes adorables sœurs : Sana, Hanan, Ilhem et Safa ; que dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.

A Mes grands parents : Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines.

Les anges de notre famille: Kossay, Malak, Amant, Doudou, Chamssou, Bassem, Wafa, Wassim, Kfialil, Chorouk et Mohamed Islam.

A Mes amies : Nabila, Sabah, Siham, Linda, Houria, Leyla, Afef.

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

A toute.

Zehor



Table des matières :

Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01
Partie bibliographique :	
Chapitre I : L'eau source de vie	
I-L'eau dans la nature.....	02
I-1- Répartition de l'eau sur la terre.....	02
I-2-Les sources d'eau.....	03
I-2-1-L'eau atmosphérique.....	03
I-2-2-L'eau de surface.....	03
I-2-3-L'eau souterraine.....	03
I-2-4-Comparaison entre l'eau de surface et l'eau souterraine.....	04
I-3-Les usages de l'eau.....	05
I-4-Risque du manque d'eau.....	06
Chapitre II :Traitement et désinfection de l'eau potable	
II-Traitement et désinfection de l'eau potable.....	07
II-1-Paramètres de potabilité.....	07
II-2-Les étapes de traitement de l'eau potable.....	08
II-2-1-Le stockage.....	08
II-2-2-L'aération.....	09
II-2-3-Le prétraitement.....	09
II-2-3-1-Le dégrillage.....	09
II-2-3-2-Le tamisage.....	09
II-2-4-L'oxydation.....	09
II-2-5-La clarification.....	09
II-2-5-1-La coagulation.....	10
II-2-5-2-La floculation.....	10

II-2-6-Décantation.....	13
II-2-7-Filtration.....	14
II-2-8-Désinfection.....	16
II-2-8-1-Définition de la désinfection.....	16
II-2-8-2-Définition du désinfectant.....	16
II-2-8-3-Le choix des désinfectants.....	16
II-2-8-4-Principaux types des désinfectants.....	16
II-2-8-5-Chloration.....	18
II-2-9- L'affinage.....	29
Chapitre III : Les biofilms	
III-Les biofilms.....	30
III-1-La dégradation de la qualité de l'eau dans les réseaux.....	30
III-2-Les micro-organismes dans le réseau de distribution d'eau potable.....	31
III-3-La découverte des biofilms.....	33
III-4-Définition du biofilm.....	33
III-5-Les méthodes d'obtention des biofilms.....	34
III-6-Structure et composition des biofilms.....	35
III-7-Les étapes de formation du biofilm.....	36
III-8-Régulation de la formation des biofilms.....	39
III-9-Facteurs favorisant la formation des biofilms.....	41
III-10-Phénomènes de résistance aux désinfectants.....	44
III-11-Conséquences du développement d'un biofilm dans les réseaux.....	45
III-12-Contrôle des biofilms.....	46
Partie pratique :	
I-Matériel et méthodes.....	48
I-1- Plan de travail.....	48
I-2-Technique et précaution du prélèvement.....	48
I-3-Site du prélèvement.....	48
I-4-Recherche des germes.....	50
I-5-Identification.....	52

I-6- La détermination de la CMI (Concentration minimale inhibitrice).....	61
II-Résultats et discussion.....	63
Conclusion.....	77
Références bibliographiques	
Liste des annexes	
Annexes	
Résumé	
Abstract	
ملخص	

Produced with ScanTOPDF

Liste des tableaux :

Tableau	Titre	N° de page
Tableau I	Exemples de paramètres mesurés pour le contrôle de l'eau potable	8
Tableau II	Les différents types de coagulants.	11
Tableau III	Les différents types de floculants.	12
Tableau IV	Comparaison entre les différents modes de désinfection.	17
Tableau V	Comparaison des caractéristiques des modes de traitement chloré.	20
Tableau VI	Autres facteurs influençant la chloration.	28
Suite tableau VI	Autres facteurs influençant la chloration.	29
Tableau VII	Facteurs influençant l'attachement de cellules et la formation d'un biofilm	43
Tableau VIII	Les sites de prélèvement	48
Tableau IX	Le dosage du chlore résiduel.	63
Tableau X	Les observations macroscopiques	64
Suite tableau X	Les observations macroscopiques.	65
Tableau XI	Observation microscopique.	67
Tableau XII	L'identification biochimique.	68

Liste des figures :

Figure	Titre	N° du page
Figure 01	Répartition de l'eau sur Terre.	2
Figure 02	Répartition des consommations d'eau au foyer par usage.	5
Figure 03	Processus de coagulation, floculation et sédimentation.	13
Figure 04	Les types de décanteur vertical.	14
Figure 05	La filtration rapide par le sable.	15
Figure 06	Les différentes particules retenues par les différents types des membranes de filtration.	15
Figure 07	La chloration au point critique.	22
Figure 08	Dosage du chlore par un comparateur.	23
Figure 09	L'activité désinfectante de l' HClO et ClO^- .	24
Figure 10	Les formes chlorées en fonction du pH.	25
Figure 11	Structure de la paroi des bactéries Gram +.	27
Figure 12	Structure de la paroi des bactéries Gram- .	27
Figure 13	Schéma d'un réseau réacteur.	31
Figure 14	Biofilm de <i>Staphylococcus</i> spp. Image obtenue par microscopie confocale.	34
Figure 15	la structure d'un biofilm au sein d'un réseau de distribution d'eau potable.	36
Figure 16	Cycle de développement simplifié d'un biofilm.	39
Figure 17	Relation entre le Log de la densité bactérienne (Epifluorescence) et la concentration en M.O.B.	43
Figure 18	Evolution de la densité bactérienne totale et des bactéries cultivables fixées, dans un réseau expérimental de distribution alimenté avec une eau CAG-chlorée en continu pendant 14 jours.	45

LISTE DES FIGURES

Figure 19	Le protocole expérimental.	49
Figure 20	Les différents milieux utilisés dans la culture bactérienne.	50
Figure 21	Les étapes de l'ensemencement sur gélose.	51
Figure 22	L'enrichissement dans le TGEA.	52
Figure 23	La préparation à l'état frais.	52
Figure 24	Les étapes de la coloration de Gram.	53
Figure 25	Test de catalase.	54
Figure 26	Test de staphylocoagulase.	56
Figure 27	Test de mannitol.	56
Figure 28	La galerie Api 20 E.	57
Figure 29	Méthode de préparation de la galerie Api 20E.	59
Figure 30	Préparation de l'inoculum des staphylocoques.	60
Figure 31	La galerie Api Staph.	60
Figure 32	Méthode de détermination de la CMI des souches isolées.	62
Figure 33	L'observation macroscopique des bactéries sur le milieu GN	66
Figure 34	L'observation macroscopique des bactéries sur le milieu Chapman.	66
Figure 35	Bacilles à Gram -	68
Figure 36	Cocci à Gram +	68
Figure 37	Test de coagulase négatif.	69
Figure 38	Test de mannitol mobilité.	69
Figure 39	Test d'oxydase positif.	69
Figure 40	Test de catalase positif.	69
Figure 41	La souche Entérobactérie sp.	70
Figure 42	<i>Aeromonas hydrophila</i> .	70
Figure 43	<i>Staphylococcus epidermidis</i> .	71

LISTE DES FIGURES

Figure 44	<i>Staphylococcus hominis</i> .	71
Figure 45	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> .	72
Figure 46	La CMI des souches identifiées à des temps de contact de 5, 10, 20 et 30 min.	73

Produced with ScanTOPDF

Liste des abréviations :

CAG : Charbon Actif en Grain

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CODB : Carbone Organique Dissous Biodégradable

Fig : Figure

GN : Gélose Nutritif

MOB : Matière Organique Biodégradée

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONU : Organisation des Nations Unies

pH : potential d'Hydrogène

SPE : Substance Polymérique Extracellulaire

Staph : Staphylococcus

Tab : Tableau

TGEA : Tryptone-Glucose-Extrait de levure

UFC : Unités Formant Colonies

Produced with ScanTOPDF

Introduction

Produced with ScantOPDF

Introduction :

L'eau, source de vie illustre l'histoire de la plus extraordinaire des molécules connues de l'homme. Celle qui a permis notre apparition, qui maintient notre existence et détient la clef de notre avenir.

Vue de l'espace, notre planète bleue semble contenir de l'eau à foison. Pourtant, si toute l'eau du globe pouvait tenir dans une carafe d'eau, seule une petite cuillère en serait potable.

Il suffit de tourner le robinet pour qu'elle coule à flot. Derrière ce geste banal se cachent des professionnels qui œuvrent pour apporter l'eau jusque dans nos maisons. Prélevée dans les rivières, les fleuves et les nappes phréatiques, elle est ensuite traitée et acheminée de façon à offrir aux consommateurs une eau de bonne qualité et en quantité suffisante.

Cependant, elle peut avoir une qualité très éloignée de celle issue de l'usine de production ; puisque les réseaux de distribution d'eau potable constituent un véritable réacteur biologique à l'intérieur duquel se met en place une dynamique bactérienne donc un biofilm, constitué d'espèces résistantes aux désinfectants qu'on utilise (le chlore), peut avoir lieu. (Gauthier F., 2002), [39]

Notre étude consiste à vérifier la résistance bactérienne au désinfectant (le chlore) par la formation du biofilm au sein des canalisations d'eau potable.



Partie bibliographique

Produced with Scantopdf

Chapitre I :

L'eau source de vie

L'eau presque aussi ancienne que notre planète : elle est apparue il y a 3 ou 4 milliard d'années. Elle est partout présente autour de nous et constitue un des éléments fondamentaux du globe terrestre, son volume est resté stable. C'est toujours la même eau qui circule et se transforme en permanence dans l'atmosphère, à la surface et dans le sous-sol de notre Terre. [1]

I-L'eau dans la nature :

I-1-Répartition de l'eau sur la terre :(Fig.01)

La répartition de l'eau autour du globe est inégale, tout comme la répartition de la population. C'est pourquoi bien que, globalement, il y ait suffisamment d'eau pour tous les habitants de la Terre, certaines parties du monde, particulièrement en Afrique, manquent cruellement d'eau. [2]

Le globe terrestre est recouvert d'eau sur plus de 70% de sa surface. Cependant, la majeure partie de cette eau (97%) est contenue dans les océans, et est salée, ce qui la rend inutilisable pour l'homme. L'eau douce ne représente que 2,6% de l'hydrosphère mais une faible fraction de cette eau est accessible et se présente majoritairement sous forme d'eau souterraine ou de calottes glaciaires et glaciers. [2], [3]

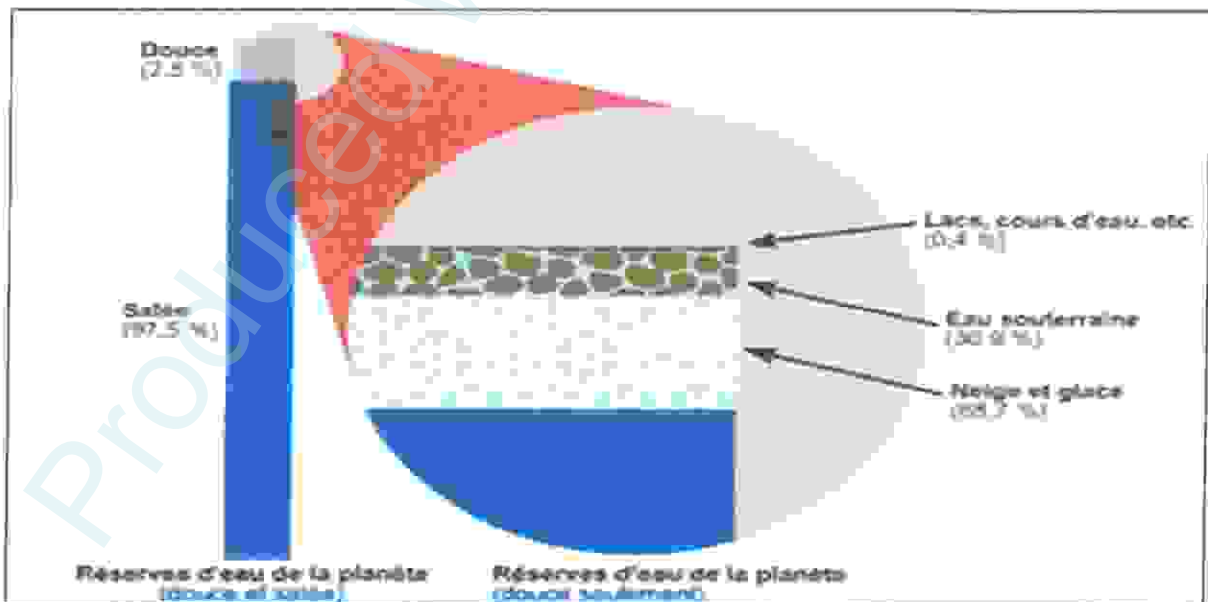


Figure01 : Répartition de l'eau sur Terre. [4]

I-2-Les sources d'eau : Il existe essentiellement trois sources d'eau :

I-2-1-L'eau atmosphérique :

L'eau atmosphérique est une eau présente dans l'atmosphère sous forme solide (neige, grêle), liquide (pluie) ou gazeuse (brouillard, brume).

Il y a toujours de l'eau dans l'atmosphère. La manifestation la plus visible de l'eau atmosphérique est bien évidemment les nuages, mais même l'air clair contient de l'eau, de l'eau en particules invisibles à l'œil nu. [5]

I-2-2-L'eau de surface :

L'eau de surface est trouvée dans toutes sortes d'étendues d'eau, telles que les océans, les rivières, les torrents, les canaux ou les étangs. La majorité de l'eau sur terre est de l'eau de mer. [6]

La qualité des eaux de surface varie fortement suivant leur origine. Selon le cas, elles sont naturellement riches en matières en suspension et en matière organique naturelles, acides, peu minéralisées,... Elles sont également vulnérables aux pollutions. De ce fait, les eaux de surface nécessitent donc un traitement d'épuration. Ce dernier se passe en plusieurs étapes, au minimum une clarification et une désinfection. L'eau de surface peut aussi être filtrée sur du charbon actif. L'ozonisation est aussi une couleur et les odeurs. [7], [8]

I-2-3-L'eau souterraine :

Les eaux souterraines, c'est-à-dire les eaux qui, après infiltration, circulent sous la surface du sol à travers des formations géologiques appelées aquifères. [9]

Lorsque l'eau superficielle pénètre dans le sol, une partie est retenue à la surface des grains ou dans les micro-interstices. Cette quantité d'eau retenue est caractéristique d'un sol donné et se définit comme sa capacité de rétention. Une autre partie de cette eau superficielle percole en direction du sous-sol sous l'action de la pesanteur. (Vilaginés R., 2003)

La qualité définitive de l'eau souterraine dépend des conditions de température et de pression, des types de roches et de sols à travers lesquels elle s'écoule et peut être du temps de séjour. En général, l'eau à écoulement plus rapide dissout moins de matières. [5]



Les eaux souterraines sont mieux protégées contre les agressions naturelles et humaines. Leurs caractéristiques sont plus constantes et elles ne nécessitent généralement que des opérations de traitement ciblées sur l'une ou l'autre caractéristique suivant leur origine ; une légère chloration destinée surtout à prévenir le développement de micro-organismes durant le transfert au consommateur, des opérations de déferrisation et de démanganisation.

Les eaux souterraines, principale source d'eau potable, sont naturellement très pures. Malheureusement la pratique montre une détérioration croissante de cette qualité du fait d'activités humaines, sources de pollution telle que les nitrates, les pesticides... [7]

I-2-4-Comparaison entre l'eau de surface et l'eau souterraine :

- La qualité naturelle de l'eau souterraine diffère de celle des eaux de surface par les caractéristiques suivantes :

-Pour toute source donnée, sa qualité, sa température et ses paramètres sont moins variables dans le temps.

-Dans la nature, l'échelle de valeurs des paramètres de l'eau souterraine est beaucoup plus grande pour les eaux de surface.

- L'eau souterraine tend à être plus dure et plus saline que les eaux de surface, mais il ne s'agit naturellement d'une règle universelle. Il arrive généralement que la salinité de l'eau souterraine augmente proportionnellement à la profondeur ; cependant, il existe, encore une fois, de nombreuses exceptions.

- L'eau souterraine contient habituellement moins de matières en suspension et de matières non dissoutes que les eaux de surface.

Puisque l'eau souterraine coule à travers un aquifère, elle est naturellement filtrée, donc ordinairement exempte de microorganismes pathogènes. [5]

- Le coût du traitement, les variations saisonnières des caractéristiques de l'eau et les difficultés engendrées par les produits secondaires issus de la chloration d'eau trop riches en matières organiques constituent les inconvénients majeurs des eaux de surface par rapport aux eaux souterraines. [7]



I-3-Les usages de l'eau :

L'eau est très utile en raison de ses propriétés particulières. En quantité, l'activité humaine qui consomme le plus d'eau traitée est l'agriculture, avec (68%) de la consommation, viennent ensuite la consommation humaine (24%), l'industrie (5%) et la production d'énergie (3%). [6]

I-3-1-Les usages domestiques :(Fig.02)

Ils comprennent toutes les utilisations nécessaires à la satisfaction des besoins quotidiens. Cet usage comprend l'eau nécessaire pour l'alimentation pour la boisson, pour le lavage, l'hygiène, l'évacuation des déchets organiques, l'arrosage du jardin et l'alimentation des animaux domestiques. [10]

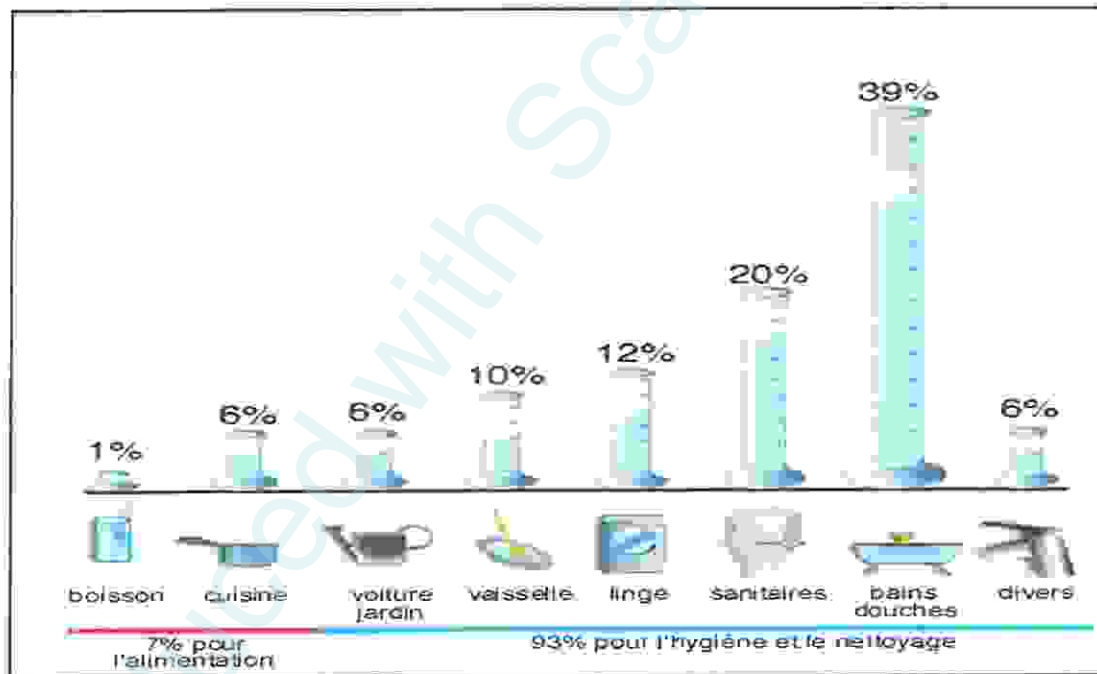


Figure 02 : Répartition des consommations d'eau au foyer par usage. (Mirad B., 2004)

I-3-2-Les usages agricoles :

L'agriculture est l'activité qui consomme la majorité de l'eau disponible dans le monde : les $\frac{3}{4}$ de tout le volume d'eau mondial sont consommés pour l'irrigation des cultures.



Cette consommation varie selon les pays car elle dépend notamment du climat, du type de culture, des techniques d'irrigation, du nombre de récoltes. [11], [12]

I-3-3-Les usages industrielles :

L'eau est au cœur de nombreux procédés industriels, par exemple le lavage et l'évacuation des déchets, le refroidissement des installations ou pour faire fonctionner les chaudières. Le refroidissement des installations représente l'essentiel de la consommation industrielle. [10]

Les industries les plus gourmandes en eau sont les industries de transformation.

La consommation d'eau industrielle est extrêmement variable d'un pays à l'autre car elle dépend évidemment beaucoup du niveau de développement de chaque nation. [13]

I-3-4-Les usages énergétiques :

La production d'électricité nécessite de grandes quantités d'eau pour assurer la sûreté et la productivité des centrales thermiques et nucléaires. Elle varie en fonction des choix énergétiques des pays (énergie nucléaire, hydroélectricité...), mais, généralement cette eau est restituée à son milieu d'origine. [12]

I-4-Risque du manque d'eau :

On estime que plus de 80 pays dans le monde (soit, plus de 40% de la population du globe) connaissent de sérieuses pénuries d'eau.

Aujourd'hui, dans le monde, on estime que plus de 1,7 milliard de personnes n'ont pas accès à l'eau potable, tandis que plus de 1,3 milliard sont privées d'équipements sanitaires adéquats (surpopulation, pollution, mauvaise adduction d'eau et manque d'argent peuvent en être les causes).

Selon l'ONU à cause de la surexploitation des nappes et de l'augmentation des besoins, en 2025, 25 pays africains seront en état de pénurie d'eau ou de stress hydrique. [6]



Chapitre II :

Traitement et désinfection de l'eau potable

Produced with Scantopdf

A partir des recommandations émises par l'organisation mondiale de la santé (OMS), des réglementations nationales et internationales ont été mises en place afin d'éviter la présence de micro-organismes et substances chimiques indésirables dans l'eau potable. Accordant une priorité absolue à la sécurité sanitaire des consommateurs.

Donc, il est nécessaire d'appliquer des technologies de traitement pour produire et distribuer une eau respectant ces normes de qualité. [14]

II- Traitement et désinfection de l'eau potable :

II-1-Paramètres de potabilité :

Surveillée et protégée, l'eau brute ne représente encore qu'une matière première qui va être transformée, élaborée, pour devenir conforme aux normes définies par la réglementation qui ne peuvent pas dépasser certaines concentrations pour les matières qui peuvent s'avérer dangereuses pour l'homme.

Ces paramètres sont répartis en 7 groupes qui reflètent deux préoccupations permanentes :

*Celle de la santé publique : offrir une eau sur garantie contre tous risques immédiats ou à long terme.

*Celle du confort et du plaisir, c'est-à-dire offrir une eau agréable à boire, claire, inodore et équilibrée en sels minéraux. [15]

Ces groupes sont représentés dans le tableau I.

*Un paramètre supplémentaire à surveiller : la dureté de l'eau.

La dureté n'a pas un effet sur la santé mais il convient de la connaître. Elle constitue l'indicateur de la minéralisation d'une eau et donc de sa plus ou moins forte teneur en calcaire (carbonate de calcium). Elle est proportionnelle à sa teneur en calcium et en magnésium. La dureté d'une eau dépend de la nature géologique des terrains qu'elle a traversés. Ainsi, un sol crayeux ou calcaire donnera une eau « dure », alors qu'un sol granitique ou sablonneux donnera plutôt une eau « douce ». [16]



Tableau I : Exemples de paramètres mesurés pour le contrôle de l'eau potable. [17]

Critères organoleptiques	Coloration, turbidité, odeur, saveur
Critères physico-chimiques	pH, oxygène dissous, DCO (Demande chimique en oxygène)...
Substances indésirables	Nitrates, hydrocarbures
Substances toxiques	Arsenic, cadmium, cyanures....
Microbiologie	Coliformes, streptocoques...
Pesticides et produits apparentés	Aldrine, dieldrine, heptachlore
Paramètres concernant les eaux adoucies	Elles doivent contenir une teneur minimale en calcium nécessaire à l'équilibre physiologique.

II-2-Les étapes du traitement de l'eau potable :

Pour rendre l'eau potable, on applique des traitements qui, s'ils peuvent varier suivant l'origine et la qualité de l'eau, obéissent tous au même principe : on élimine les éléments de matières contenus dans l'eau par étapes successives, jusqu'aux organismes microscopiques comme les virus et les microbes. [18]

II-2-1-Le stockage :

L'eau brute est d'abord stockée pendant quelques jours à quelques semaines. Cette opération de stockage consiste à conserver l'eau pendant un certain temps dans un grand réservoir, ce qui permet la sédimentation d'une partie de la matière particulaire ; le seul fait de stocker cette eau à l'air libre permet aussi une certaine oxydation spontanée des matières organiques qui sont alors minéralisées. (Boubidi W., Fardjallah S., et Saaidia N., 2007)

II-2-2-L'aération : Elle sert à :

- Éliminer des gaz en excès, dans le cas des eaux souterraines principalement.
- Enrichir l'eau en oxygène.



L'aération est surtout utilisée au traitement des eaux souterraines (l'élimination du CO_2 , H_2S du fer) ou pour l'élimination biologique de l'ammoniaque. (Boubidi et al., 2007)

II-2-3-Le prétraitement :

Les eaux brutes doivent généralement subir, avant leur traitement proprement dit, un prétraitement qui comporte un certain nombre d'opérations uniquement physiques ou mécanique. Il est destiné à extraire de l'eau brute la plus grande quantité possible d'éléments dont la nature ou la dimension constituerait une gêne pour les traitements ultérieurs. (Anonyme, 1998)

II-2-3-1-Le dégrillage :

Le dégrillage, premier poste de traitement, indispensable aussi bien en eau de surface qu'en eau résiduaire. Il consiste à faire passer l'eau brute dans des grilles plus ou moins fines, afin d'éliminer les gros éléments solides (déchets, plastiques, branchages, cailloux, feuilles mortes ...) susceptibles de provoquer des bouchages dans les différentes unités de l'installation, il rend également plus efficace les traitements suivants. (Anonyme, 1998), [18]

II-2-3-2-Le tamisage :

Le tamisage consiste à faire passer l'eau à travers divers filtres de plus en plus fines. Le filtre le plus grossier, dit dégrossisseur présentant des mailles de taille de 0,15-2 mm. Il retient les macroparticules tandis que le filtre le plus fin dit pré-filtre dont la taille des mailles 30-40 μm à 150 μm . Il retient des impuretés plus fines comme le sable. (Zerluth J. et Michael, 2006)

II-2-4-L'oxydation :

Si les eaux à traiter contiennent beaucoup de matières organiques, ou encore de l'ammoniaque, du fer ou du manganèse, une étape d'oxydation préalable est nécessaire. Elle permet d'éliminer plus facilement ces substances au cours de l'étape suivante dite de clarification. On utilise pour cela un oxydant comme le chlore ou l'ozone. [19]

II-2-5-La clarification : La clarification permet de rendre l'eau limpide en la débarrassant des matières en suspension, des algues et des particules colloïdales qu'elle contient. Elle s'effectue en deux étapes :

II-2-5-1-La coagulation :

Le processus de coagulation implique d'ajouter du fer ou d'aluminium à l'eau comme du sulfate d'aluminium ($Al_2 SO_4$), sulfate ferrique ($Fe_2(SO_4)_3$), chlorure ferrique ($FeCl_3$) ou des polymères. Ces produits chimiques s'appellent *des coagulants* et ont une charge positive, cette dernière neutralise la charge négative des particules dissoutes et suspendues dans l'eau. (Kettab A., 1992)

Le tableau II présente quelques types de coagulants.

II-2-5-2-La floculation :

a) **Définition des flocculants :** Ce sont des produits qui ont des actions inter- particules par pontage. Ils sont pour la plupart constitués de polymères à haut poids moléculaire possédant des groupes réactifs de charges inverse à celle de la suspension à traiter. (KettabA., 1992)

Le tableau III présente quelques types de flocculants

b) **Mécanisme de floculation :** Après avoir subit une coagulation, l'eau va être transférée dans un autre bassin. Rien ne s'oppose plus au rassemblement des colloïdes neutralisés. On maintient donc une agitation lente pour favoriser les accrétiens. Celle-ci est accélérée par l'ajout d'une substance appelée polymère c'est-à-dire une grande molécule constituée par la répétition d'un motif de base qui emprisonne les matières colloïdales agglomérées et formant ainsi des flocons volumineux qui se déposent par gravité, c'est alors appelé *le floc*. Elle aussi accélérée par une régulation d'un pH optimum pour obtenir la meilleure précipitation possible de l'ensemble des hydroxydes métalliques qui viennent d'apparaître grâce à la réaction de coagulation. On se sert d'hydroxyde de calcium ($Ca (OH)_2$) appelé aussi du lait de chaux et l'acide sulfurique H_2SO_4 pour réguler le Ph optimum qui se situe entre 8,75 et 8,9. [20]

Les réactions et les processus de base qui se produisent durant la clarification sont illustrés dans la figure 03.

Tableau II : Les différents types de coagulants. (Boubidi et al., 2007).

Nom du coagulant	Formes de coagulant	Aspect	Densité	Taux de traitement usuel	Gramme de pH d'utilisation
Sulfate d'aluminium	Concassé Noisettes Poudre Liquide	Blanchâtre	1,45	10à150g/m ³	5,7≤pH≤7,5
Polychlorures Basique d'aluminium (PCBA)	Liquide	Blanchâtre		10à100g/m ³	Etendue
Polychlorosulfates basiques d'aluminium	Liquide	Blanchâtre	1,16	10à100g/m ³	6≤pH≤9
Chlorure ferrique	Cristallisé Liquide	Brun	1,45	5à100g/m ³	5≤pH≤8,5
Chlorosulfate ferrique	Solution	Brun Rouge	1,50	5à100g/m ³	5pH8,5
Sulfate ferrique	Poudre Liquide	Blanche Rouge Brun	1	10à100g/m ³	5≤pH≤8,5
Sulfate ferreux	Poudre	Cristallin Vert clair	0,9	10à40g/m ³	Unité par eaux Dont Ph>7,8



Tableau III : Les différents types de floculants. (Boubidi et al., 2007)

Nom du floculant	Formes disponibles	Origine	Taux de traitement usuel
Floculant minéral : La silice activée	Liquide se prépare sur l'installation	Neutralisation d'une solution de silicate de soude par un acide : Acide sulfurique Sulfate d'aluminium Chlore Dioxyde de carbone	0.2 à 1g/m ³
Floculants organiques naturels : L'alginate	Poudre	Extrait d'algue	0.2 à 1g/m ³
L'amidon	Poudre	Pomme de terre Extrait de graisses végétales	0.2 à 1g/m ³
Floculants organiques de synthèse : Non ionique anionique	Solution poudre émulsion	Ils sont fabriqués en laboratoire à partir de polyacrilamides fabriqués à partir d'acrylate et acrylamides	0.02 à 0.5 g/m ³

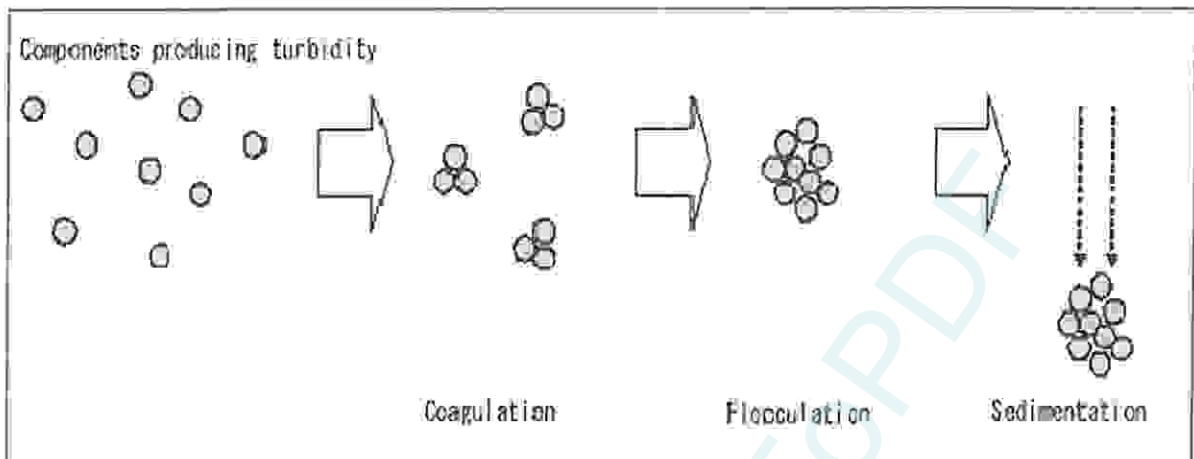


Figure 03 : Processus de coagulation, floculation et sédimentation [21]

II-2-6-Décantation :

Après avoir rassemblé les différentes petites particules en de beaucoup plus grosses, nous allons pouvoir maintenant faire décanter tout cela. Dans un corps d'eau immobile, les particules en suspension plus lourdes que l'eau sont soumises à leur poids. Elles chutent lentement pour s'accumuler sur le fond : c'est *la décantation*.

Pour effectuer cette décantation statique avec un décanteur vertical, l'alimentation se fait par le bas, les particules bas sédimentent et peuvent être récupérées au fond du cône, tandis que l'eau traitée est évacuée par le haut, par débordement. (Fig.04)

La vitesse de celle-ci est faible donc nous faisons appel à une autre technique qui est la décantation dynamique grâce à laquelle on peut agir sur le trajectoire pour séparer en continu des particules de taille et de masse volumique différente, ceci est appelé décanteur à lamelles. Il améliore nettement la vitesse de cette étape, ces décanteurs sont utilisés dans de petites installations. [20]



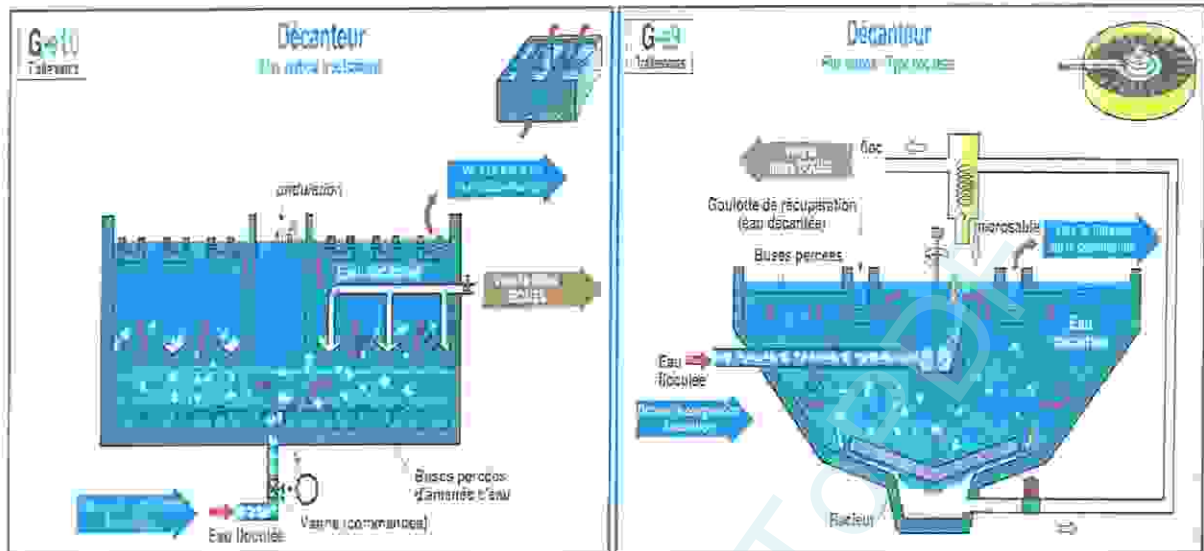


Figure 04 : Les types de décanteur vertical. [32]

II-2-7-Filtration :

La filtration est le procédé de séparation solide/liquide de finition par excellence. La méthode consiste à faire passer l'eau chargée de matières solides sur une colonne remplie d'un matériau inerte comme par exemple du sable, qui est au matériau naturel, à base de silice provenant des rivières... Ensuite, il y a l'anthracite moulu à base de carbone, il se présente sous la forme de grains durs et anguleux. Le charbon actif à base de carbone peut être aussi utilisé.

Remarque : Le sable est employé seul en tant que monocouche ou associé à de l'anthracite dans les filtres bicouches. (Kettab A., 1992), [20]

Il y a deux types de filtration de base par le sable :

- ❖ **La filtration lente par le sable :** est un processus biologique parce qu'elle emploie des bactéries pour traiter l'eau. Les bactéries forment une couche sur la partie supérieure du sable et nettoie l'eau pendant qu'elle traverse, en digérant les contaminants dans l'eau. La couche de bactéries s'appelle *le biofilm*. Elle permet également d'enlever les bactéries, les virus et les protozoaires et produit essentiellement de l'eau propre. [21]

La filtration lente sur sable à une vitesse de filtrage de 0,1m/h environ, Cependant, elle est de moins en moins utilisée pour l'épuration de l'eau potable car elle nécessite une vaste surface de filtrage et l'entretien du dispositif de filtrage est onéreux. [22]



❖ **La filtration rapide par le sable :** est un processus physique qui enlève les particules suspendues, comme les bactéries, les virus et les protozoaires. Cette filtration rapide est beaucoup plus répandue parce que les filtres ont des débits assez élevés et exigent peu d'espace pour fonctionner. Durant la filtration, le taux d'écoulement de l'eau peut aller jusqu'à 20m/h. Les filtres sont généralement nettoyés deux fois par jour. (Fig.05)[21]

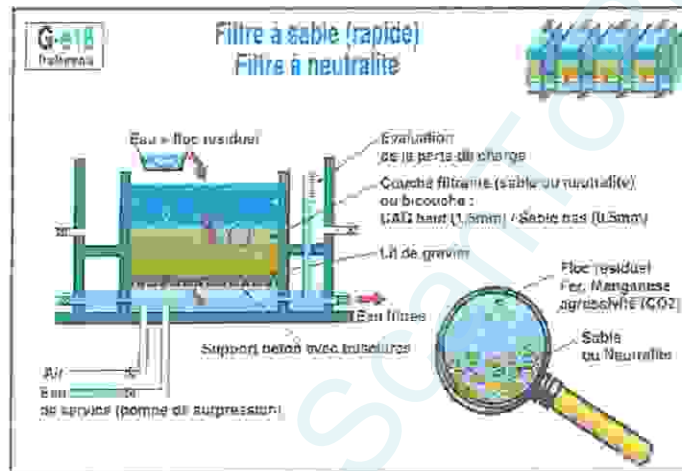


Figure 05 : La filtration rapide par le sable. [32]

Le seuil limite de la taille des particules retenue par les différents types de membranes de filtration permet d'imaginer les techniques qui pourraient permettre une désinfection efficace. (Fig.06)

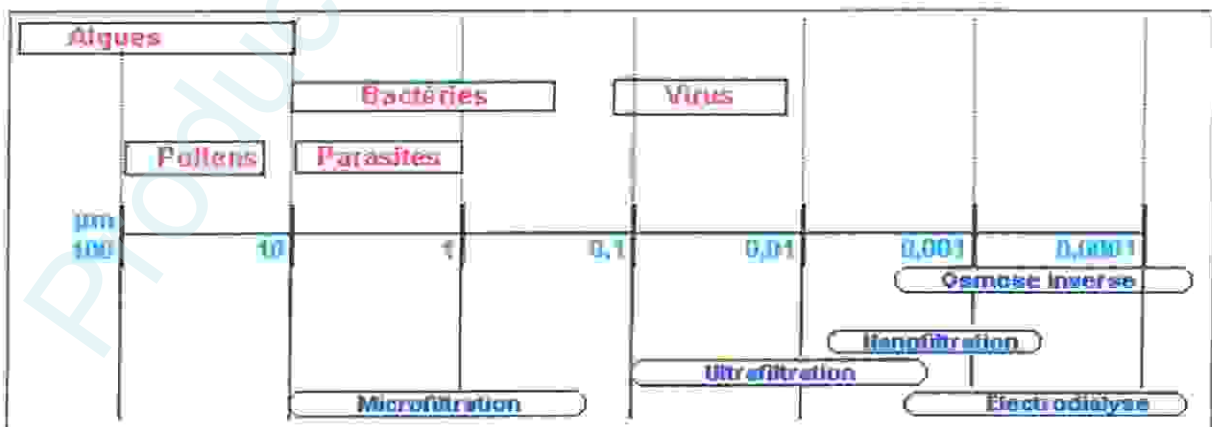


Figure 06 : Les différentes particules retenues par les différents types des membranes de filtration. [23]

II-2-8-Désinfection :

II-2-8-1-Définition de la désinfection : La désinfection est l'étape ultime du traitement de l'eau de consommation avant distribution. Elle vise à éliminer les micro-organismes pathogènes, bactéries, virus et parasites ainsi que la majorité des germes banals moins résistants. C'est le moyen de fournir une eau bactériologiquement potable, tout en y maintenant un pouvoir désinfectant suffisamment élevé pour éviter les reviviscences bactériennes dans les réseaux de distribution. (Anonyme, 1998), (Cardot C., 1999)

II-2-8-2-Définition du désinfectant : Le désinfectant est un produit chimique ou physique qui tue ou inactive des microorganismes tels que les bactéries, les virus et les protozoaires, sur des surfaces inertes comme par exemple les conduites d'eau. Les désinfectants peuvent avoir trois actions :

- Inhibition de la croissance des germes.
- Action létale (mortelle) sur les germes.
- Empêcher les germes de recoloniser la surface nettoyée (rémanence). [25]

II 2 8 3-Le choix des désinfectants :Le choix d'un moyen de désinfection se fait normalement en considérant les contraintes techniques, économiques et environnementales qu'il présente. En ce sens, le mode de désinfection idéal est celui qui regroupe les caractéristiques suivantes :

- *Efficacité pour la plupart des microorganismes pathogènes sous différentes conditions.
- *Absence de sous produits indésirables formés à la suite de son utilisation.
- *Produit non dangereux pour les humains et pour la vie aquatique.
- *Facilité d'utilisation.
- *Faible coût d'investissement et d'exploitation.
- *Soluble dans l'eau ; former avec l'eau une solution homogène.
- *Doit être stable, afin de favoriser le maintien d'une certaine concentration résiduelle.
- *Efficace aux températures normales de l'eau de consommation. (Karaali R., Khettal M. et Reggam R., 2009), (Desjadin R., 1997)

II-2-8-4-Principaux types des désinfectants : Il existe toute une gamme de méthodes et de technologies pour désinfecter les différentes eaux. Chacune présente des avantages et des inconvénients. De nombreux paramètres entrent en ligne de compte dans le choix de la méthode pour une application donnée. (Tab. IV) [28]

Tableau IV : Comparaison entre les différents modes de désinfection. (Khalil M., 2004)

Paramètres	Chlore	Ozone	Dioxyde de chlore (ClO ₂)	Chloramines NH ₂ Cl	Rayons UV
Source	-Cl ₂ -Eau de javel -génééré sur site.	Génééré sur site.	Génééré sur site.	Génééré sur site.	Génééré sur site.
Utilité	DP,DS,GO,C,Ox	DP, DS, GO, C,Ox, FB.	DP, DS, GO, C,Ox	DS	DP
Sous produits de désinfection	-THM (trihalométhanes) -AHA (acide haloacétiques)	-Bromates -CODB (carbone orgnique dissous biodégradable)	chlorites/ chlorates	Mécomus	Aucun
Avantages	-Coût -Facilité d'utilisation	-Contrôle des goûts/des odeurs et couleurs. -Peut être combiné à une filtration biologique.	-Ne réagit pas avec l'ammoniaque. -Ne forme pas de THM/AHA. -Excellent pour oxyder Fe/Mn.	-Formation minime de THM/AHA. -Meilleure persistance et efficacité que le Cl ₂ en réseau.	-Efficace en eaux froides. -Coût compétitif. -Aucun sous produits de désinfection.
Désavantages	-Risque relié au Cl ₂ gazeux -Goûts et odeurs -THM	-Procédés relativement complexe. -Pas de résiduel persistant. -Bromates.	-Chlorites/ chlorates. -Goûts et odeurs pour certains types d'eau. -Sécurité relié à l'utilisation du NaClO ₂ .	-Possibilités de nitrification en réseau. -Faible efficacité comme désinfectant primaire.	-Pas de résiduel persistant. - Technologie en validation. -Encrassement possible des lampes selon les types d'eau.
Efficacité en désinfection					
Virus	Très bonne	Excellente	Bonne	Faible	Acceptable
Giardia	Acceptable	Très bonne	Bonne	Faible	Très bonne
Cryptosporidium	Négligeable	Négligeable	Négligeable	Négligeable	Excellente

DP : désinfection primaire.
GO: goûts et odeur

Ox: oxydation du fer et du manganèse
C : couleur.

DS: désinfection secondaire.
FB : filtration biologique.

II-2-8-5-Chloration :

Le chlore est de nos jours, le plus employé de tous les oxydants utilisés en désinfection. La modicité de son coût, sa simplicité d'emploi, surtout dans les petites installations, et sa rémanence dans les réseaux de distribution, sont les arguments principaux en faveur de son utilisation. Si son application au prétraitement de l'eau est de plus en plus contestée, il reste le désinfectant privilégié, en contrôle final de la qualité microbiologique. (Haslay C. et Leclerc H., 1993)

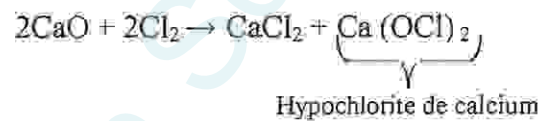
A. Les différentes formes du chlore :

Avant de présenter la théorie de la désinfection par le chlore, il est utile de définir les expressions suivantes :

- **Chlore total (chlore résiduel total) :** Quantité totale de chlore, libre ou combiné, subsistant après le temps de réaction normal de l'eau à la chloration, elle correspond aux : chlore moléculaire (élémentaire) Cl_2 , acides hypochloreux : HClO ; hypochlorites : ClO^- ; chloramines. (Desjadin R., 1997). (Champiat D. et Larpent J.P., 1988)
- **Chlore combiné ou chloramines :** Produit résultant de la combinaison du chlore et de l'ammoniac d'origine organique ou inorganique. C'est un antiseptique que l'on préfère employer dans certains cas à la place du chlore pour la désinfection des eaux, notamment dans le cas où celles-ci contiennent des traces de phénols : il ne se produit pas de goûts de chlorophénols. Il correspond aux : mono, di et tri-chloramines : NH_2Cl , NCH_2Cl , NCl_2 . (Desjadin R., 1997), (Champiat D. et Larpent J.P., 1988)
- **Chlore libre ou chlore libre total :** Chlore demeurant dans l'eau à la fin d'une période de contact déterminée, et qui peut réagir chimiquement et biologiquement comme acide hypochloreux (HClO) ou ion hypochlorite (ClO^-) et chlore moléculaire (Cl_2). (Desjadin R., 1997)
- **Chlore actif ou chlore libre actif :** Partie du chlore résiduel total dans l'eau à la fin d'une période de contact donnée, qui réagit chimiquement et biologiquement en tant que chloramine. Il correspond aux chlore moléculaire (Cl_2), acide hypochloreux : HClO ; hypochlorite ClO^- . (Desjadin R., 1997), (Champiat D. et Larpent J.P., 1988)

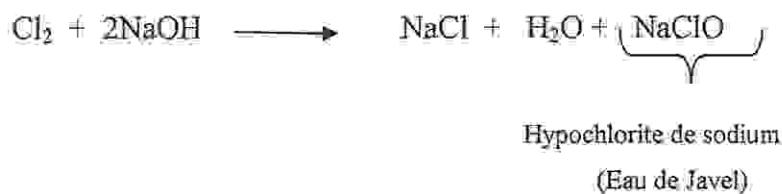
B. Les sources du chlore : Il ya principalement quatre sources de chlore :

- ❖ **Le chlore gazeux :** Il est produit par l'électrolyse d'une solution de chlorure de sodium (du sel). Le produit obtenu est un gaz jaune vert, dense, commercialisé sous forme d'un gaz liquéfié. Le chlore gazeux est peu soluble dans l'eau. Il s'hydrolyse rapidement. C'est un oxydant puissant. Il est utilisé dans le traitement des eaux en pré-oxydation et en désinfection finale. [24]
- ❖ **L'hypochlorite de calcium :** Appelé aussi chlorure de chaux, l'hypochlorite de calcium est un produit solide, très riche en chlore (plus de 90%), très stable lorsqu'il est stocké au sec et à l'abri de la chaleur, facilement soluble dans l'eau, son emploi est aisé ; produit neutre, il n'apporte pas d'alcalinité. (Mayet J., 1994)
Il est obtenu à partir de précipité issu de la dissolution du chlore gazeux dans une solution d'oxyde de calcium (chaux vive) et d'hydroxyde de calcium.



- ❖ **L'hypochlorite de sodium :** Plus connu sous le nom *d'eau de Javel*, il est fabriqué par absorption de chlore gazeux dans la soude. Il s'agit d'un liquide jaune disponible au grand public sous forme diluée. C'est également un oxydant puissant, il se dégrade lentement en chlorate. L'hypochlorite de sodium ou eau de javel n'est utilisée qu'en désinfection finale de l'eau. Il a les mêmes effets que le chlore gazeux. Les produits de décomposition sont également soumis à réglementation. [26]

Pour la fabrication de l'eau de Javel, on fait agir le chlore sur la soude, on obtient du sel, de l'eau et de l'hypochlorite : le mélange de ces trois produits constitue l'eau de Javel.



- ❖ **Les chlorocyanurique :** Il s'agit de l'acide trichloroisocyanurique (ATCC) solide, blanc sous forme de galets ou de blocs très peu solubles dans l'eau ou du dichloroisocyanurate de sodium (DCCNa) qui se présente sous forme d'un solide

cristallin blanc. Le DCCNa peut être disponible sous la forme de poudre, comprimés, granulés, blocs. Dissout dans l'eau (solubilité 30g/100ml à 25°), il libère rapidement de l'acide hypochloreux (le composant actif) et du cyanurate de sodium. [27], (Karaali R. et al. 2009).

Le tableau V présente une comparaison entre les différentes sources de chlore.

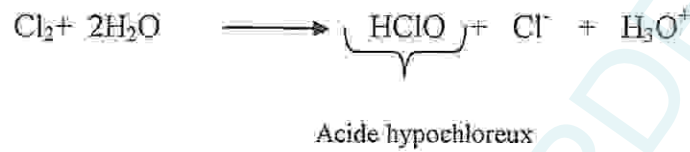
Tableau V: Comparaison des caractéristiques des modes de traitement chloré. (Karaali R. et al. 2009)

Produit	Stabilité du chlore	Influence sur le pH	confort	Influence sur la corrosion	Stabilité du stockage	Sécurité de stockage	Facilité d'emploi	Solubilité des produits	Possibilité d'effet retard
Chlore gazeux	non	Baisse	Non	augmente	Oui	Législation sévère	Oui mais investis. lourd	Oui	Non
Eau de javel	Non	Augmente	Non	augmente	Non	Oui	Non	Non si eau calcaire	Non
Hypochlorite de calcium	Non	Augmente	Non	augmente	Oui	Non	Oui	Non	Non
DCCNa	Oui	Nulle	Oui	Légère baisse	Oui	Oui	Oui	Oui	Non
ATCC	Oui	Nulle	Oui	Légère baisse	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui

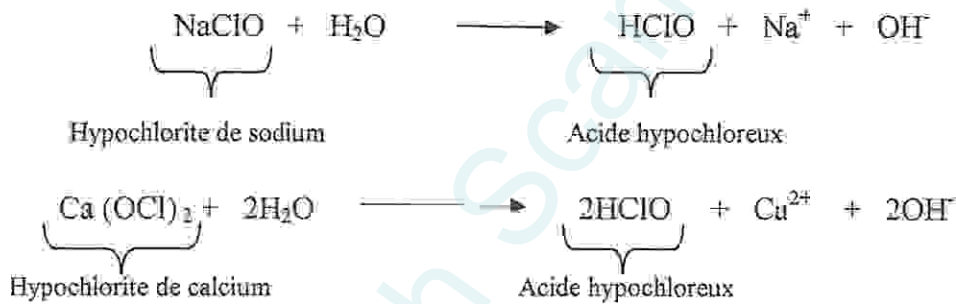
C. Chimie du chlore dans l'eau :

N'importe quel type de chlore qui est ajouté à l'eau pendant le processus de traitement formera de l'acide hypochloreux (HClO) et des ions hypochlorites (ClO⁻), qui sont des composés de désinfection principaux. [21]

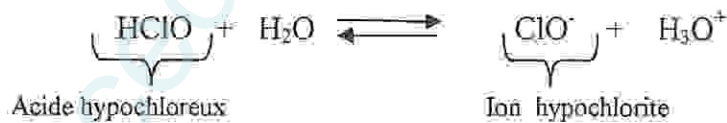
L'introduction de chlore gazeux dans l'eau conduit à sa dismutation et à la formation d'acide hypochloreux et de chlorure suivant la réaction. (Marcel D., 1989)



L'hypochlorite de sodium et de calcium réagissent avec l'eau pour former de l'acide hypochloreux suivant les réactions suivantes :



L'acide hypochloreux résultant de la réaction précédente est un acide faible qui va donc se dissocier suivant la réaction d'équilibre suivante :



Les deux formes (HClO et ClO⁻) résultantes des réactions précédentes n'ont pas le même pouvoir de désinfection. L'acide hypochloreux est de l'ordre de 100 fois plus réactif que l'ion hypochloreux. (Desjadin R., 1997), (Marcel D., 1989)

D. Chloration au point critique :(Fig.07)

Introduisons dans l'eau des doses croissantes de chlore et dosons le taux de chlore résiduel, les phases suivantes sont observées :

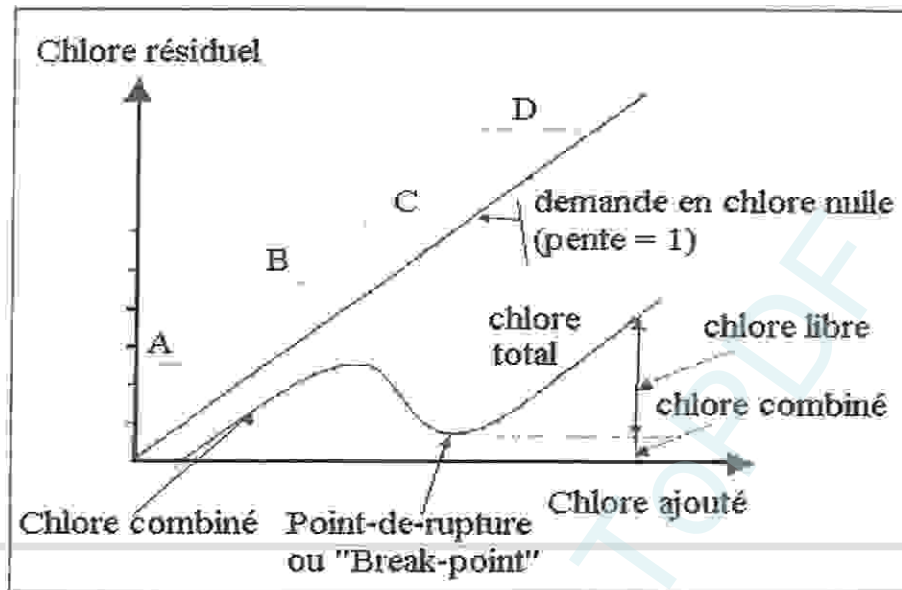


Figure 07 : La chloration au point critique. [23]

Avec ;

A : destruction du chlore par les composés minéraux,

B : formation de composés chlorés organiques et de chloramines,

C : destruction des chloramines par ajout de chlore supplémentaire

D : production de chlore actif.

Le taux de chlore résiduel augmente progressivement, passe par un maximum, puis décroît, passe par un minimum et enfin croît régulièrement. L'allure de la courbe s'explique ainsi : le chlore se combine aux matières organiques de l'eau, avec l'ammoniaque libre ou combiné sous forme d'amine pour donner des composés chlorés ou chloramines. Ceux-ci sont ensuite détruits par le chlore en excès. Le point critique ou « *break point* » correspond à l'apparition de chlore libre et à la disparition des chloramines.

Un traitement au point critique permet :

- ✓ Une disparition maximum des goûts désagréables.
 - ✓ Une amélioration maximum de la clarification.
 - ✓ Une action efficace sur les micro-organismes pathogènes.
- Il évite l'apparition de goûts due à des sous produits chlorés du type chlorophénol et la formation de composés organo-halogénés indésirables. (Champiat D. et Larpent J.P., 1988)

En conclusion, pour ajuster la quantité de chlore nécessaire et éviter la formation de chloramine, il faut déterminer le point d'inversion (point critique ou break point) marquant la fin de la formation des chloramines (odorantes et peu désinfectantes) et leur destruction ; à partir de ce point, le chlore que l'on ajoute se retrouve sous forme libre, on a alors une action désinfectante.

Afin d'éviter de se trouver en deçà de ce point, il est indispensable de mesurer le pH, le chlore libre et le chlore combiné. [28]

E. Dosage du chlore :(Fig.08)

Le dosage du chlore résiduel, libre et total, peut se faire par la méthode à la Diméthyle-para-Phénylène Diamine (D.P.D.) en utilisant des réactifs sous forme de pastilles à dissolution rapide. Les résultats s'expriment en mg/l par lecture de la réaction colorée obtenue par action du chlore sur la D.P.D. à l'aide d'un comparateur à lecture visuelle équipé d'une échelle d'étalons colorés permanents. (Paquin J.L. et al., 1992)



Figure 08 : Dosage du chlore par un comparateur.
(Haddad S.Reghis F.et Samsar Z., 2010)

F. Action du chlore :

- ✦ **Sur les micro-organismes :** L'action du chlore résulte de l'oxydation des structures des microorganismes. En fonction de la dose appliquée le traitement entraîne soit des lésions réversibles, soit des lésions irréversibles causant de fait la mort cellulaire.

L'acide hypochloreux possède l'action biocide la plus efficace. En effet, il ne porte pas de charge électrique et sa forme ressemble à celle de l'eau. La membrane cytoplasmique le laisse donc passer en même temps que l'eau, contrairement au ClO^- qui ne pénètre pas du fait de sa charge négative. (Fig.09)

L'action bactéricide traduit la réaction du chlore avec les polymères des enveloppes bactériennes. Cette oxydation entraîne un changement de perméabilité et inhibe le transport des nutriments. Les bactéries perdent leur capacité à se développer. Elles restent vivantes mais sont non cultivables en particulier du fait des dommages affligés à la membrane cytoplasmique. Les bactéries blessées par l'oxydant sont incapables de se multiplier donnant ainsi un résultat négatif lors de l'analyse et une fausse sécurité (surestimation de l'effet du désinfectant).

L'oxydant agit relativement bien sur des microorganismes en suspension. La désinfection de l'eau par le chlore est donc utile même si imparfaite (beaucoup de ces microorganismes sont réellement abimés ou tués par le traitement). Par contre, ce chlore n'atteint pas sa cible lorsqu'elle est protégée au sein du biofilm et il est impossible aujourd'hui de désinfecter un réseau public d'eau potable avec des oxydants.

La chloration est efficace contre la plupart des bactéries, et dans une moindre mesure contre les virus et contre les parasites. [23], [24]

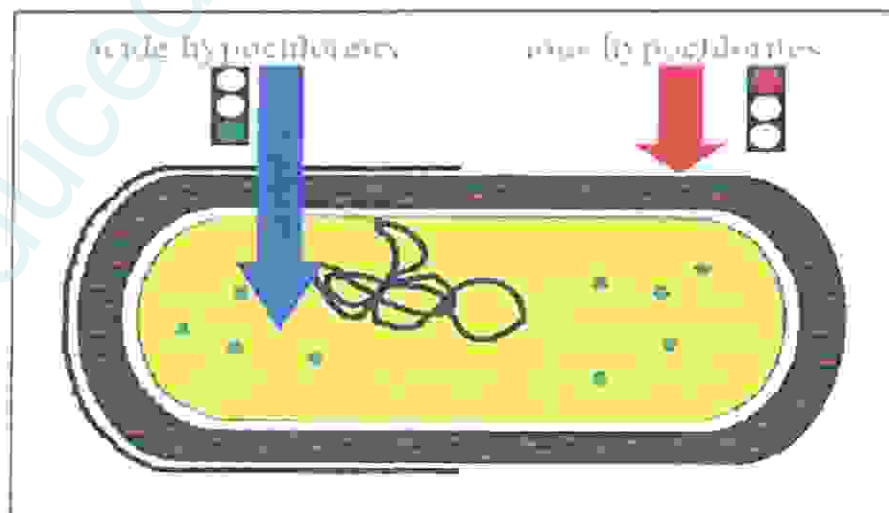


Figure 09: L'activité désinfectante de HClO et ClO^- . (Haddad S, et al., 2010)

⚡ **Sur la matière organique et minérale :** Le chlore est très réactif chimiquement et va oxyder un certain nombre de matière minérales ou organiques contenues dans l'eau avec des vitesses différentes :

- les substances facilement oxydables : les ions métalliques tels que le fer et le manganèse présent dans l'eau alimentaire ou résultant d'une corrosion.

-Action sur la matière organique : essentiellement l'urée. L'urée subit une hydrolyse avec formation d'ammoniaque pour donner des composés appelés « chloramine » elles-mêmes détruites par un excès de chlore.

La méthode utilisée pour éliminer les chloramines est la chloration dite au Break point. [28]

G. Facteurs influençant la chloration :

G.1. L'influence du pH : L'influence du pH sur l'efficacité de la désinfection par le chlore revêt une grande importance. Le pouvoir germicide du chlore dans l'eau diminue à mesure que le pH augmente ; on attribue ce fait à la diminution de la concentration d'acide hypochloreux lorsque le pH augmente. C'est un paramètre clé de la désinfection. Suivant le pH nous aurons donc plus ou moins de chlore actif : (Fig.10)

- À la valeur de pH inférieur à 5, elle agira par chloration (présence de chlore et d'acide hypochloreux dissous, en proportion variant en fonction du pH).
- Aux valeurs de pH supérieur à 5, elle agira par oxydation, transformation en acide hypochloreux et libération d'oxygène gazeux (présence d'acide hypochloreux et d'ions hypochlorites, en proportion variant en fonction du pH).
- A pH=9,5 les concentrations en acide hypochloreux et en hypochlorite sont très voisines de 50%. [30]

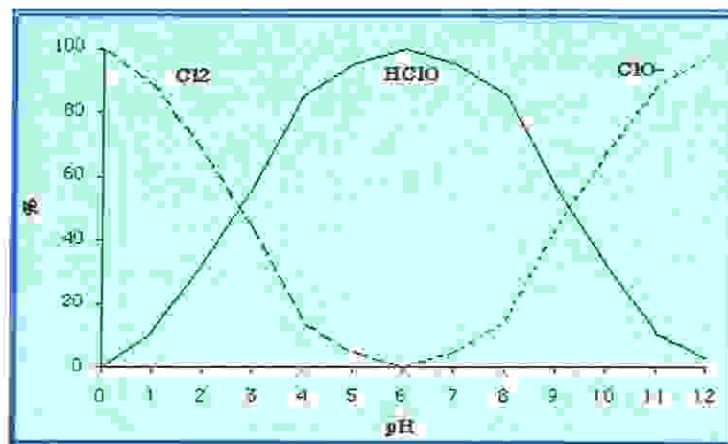


Figure 10 : Les formes chlorées en fonction du pH. [23]

G.2. L'influence de la température : La température a aussi une influence sur l'efficacité de la chloration. Une hausse de la température augmente souvent la vitesse de la réaction et de la chloration. Une hausse de la température peut aussi décroître la chloration, parce qu'elle se désintègre et devient volatile. Tandis que, la diminution de la température de l'eau entraîne une diminution de l'efficacité du chlore, bien qu'elle augmente légèrement la proportion d' HClO par rapport à ClO^- , ce qui nécessite d'ajuster les dosages en fonction des variations de la température.

La rapidité de l'effet bactéricide du chlore est proportionnelle à la température de l'eau, par conséquent cette chloration est plus efficace dans des eaux de température élevée. En revanche, le chlore est plus stable dans l'eau froide, donc subsiste plus longtemps, ce qui compense dans une certaine mesure la lenteur de la réaction. [28], [29]

G.3. L'influence du dose-temps de contact : Pour obtenir une désinfection efficace, il faut laisser au chlore le temps de réagir avec l'eau et les organismes pathogènes visés. La dose de chlore doit être supérieure à la demande en chlore (les réactions causées par la matière organique et inorganique), et il doit rester un taux de chlore résiduel. La désinfection se produit durant le temps de contact entre le chlore et les organismes visés. Plus le temps de contact est long (dans des limites raisonnables), plus efficace est la désinfection.

On applique une concentration de chlore prédéterminée (C) à l'eau pendant un certain temps de contact (T). Le produit de ces deux valeurs est la valeur CT .

La désinfection est moins efficace à pH élevé et à basse température. Par conséquent, il faut des valeurs de CT plus élevées dans ces conditions. En d'autres mots, la désinfection au chlore est plus efficace lorsque le pH est bas (<6) et que la température est élevée ($>20^\circ\text{C}$). [31]

G.4. L'âge des microorganismes : L'efficacité d'un désinfectant particulier dépend aussi de l'âge des microorganismes. Une jeune bactérie est plus facile à tuer que les plus vieilles bactéries. Quand les bactéries vieillissent, elles développent une couche de polysaccharide au-dessus de la paroi des cellules qui les rendent plus résistantes aux désinfectants. Lorsque 2 mg/L de chlore est utilisé, le temps de contact de 1 minute est

suffisant pour désactiver les bactéries vieilles de 10 jours. Les spores peuvent être très résistantes. la plupart des désinfectants ne sont pas efficace contre les spores. [28]

G.5. Le type des microorganismes : On distingue deux grands groupes de bactéries quant à la structure de leur paroi : les Gram positifs et les Gram négatifs. La paroi contient une structure rigide, composée de sucres et de différents acides aminés, appelée le peptidoglycane. Dans la paroi des bactéries Gram négatifs (Fig.12), il existe une membrane externe composée de protéines, lipides et polysaccharides. Cette membrane externe n'est pas présente chez les Gram positifs (Fig.11).

La majorité des désinfectants exercent leur action essentiellement au niveau de la membrane cytoplasmique et doivent donc traverser la paroi. Les bactéries Gram négatifs sont ainsi plus résistantes que les Gram positifs. Les mycobactéries, dont la membrane externe est très épaisse, sont encore plus résistantes. C'est ce qu'on appelle une résistance intrinsèque car celle-ci est due à la structure même de la cellule bactérienne, par opposition à une résistance acquise. (Haddad S. et al, 2010)

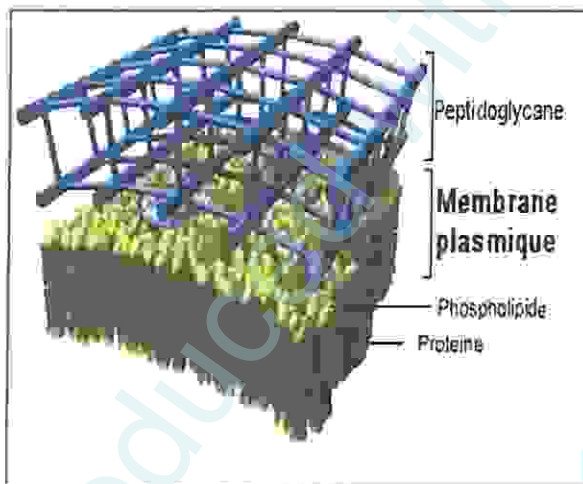


Figure 11 : Structure de la paroi des bactéries Gram +. [33]

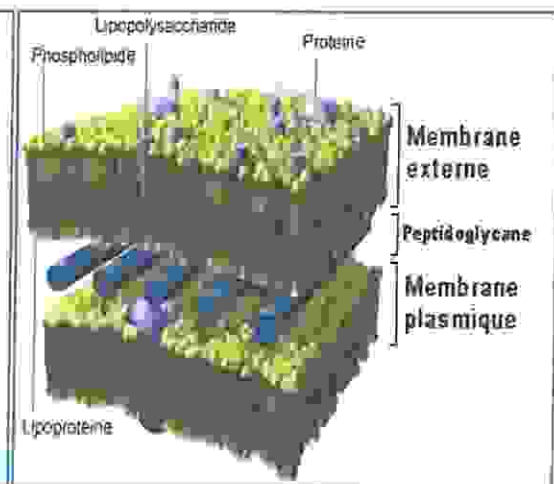


Figure 12 : Structure de la paroi des bactéries Gram -. [33]

G.6. Autres facteurs : Il existe également autres facteurs influençant la chloration. Ils sont cités dans le Tab. VI

Tableau VI : Autres facteurs influençant la chloration. (Mossicot R., 2009)

Facteurs	Remarques
Formulation du désinfectant	Deux produits peuvent avoir les mêmes concentrations nominales d'ingrédients actifs mais être d'une efficacité relative différente en raison des autres éléments qui entrent dans leur formulation.
Micro-organismes cibles	La résistance des pathogènes aux germicides varie beaucoup ; même si l'on observe des chevauchements entre les catégories suivant l'organisme et le produit, l'ordre de résistance reconnu est généralement le suivant : spores bactériennes > virus non enveloppés = mycobactéries > champignons > virus enveloppés = bactéries végétatives.
Dureté de l'eau	L'eau dure peut affecter l'efficacité du produit ; consulter l'étiquette ou le fabricant à ce sujet.
Souillure	Les souillures, organiques ou non, qui demeurent sur les surfaces peuvent interagir et neutraliser partiellement le désinfectant et protéger les contaminants microbiens du contact avec le produit.
Films biologiques (biofilms)	Les surfaces qui sont continuellement ou fréquemment mouillées ou humides sont propices à l'apparition de films biologiques qui opposent une forte résistance aux désinfectants.
Microtopographie de la surface	Même les surfaces d'apparence lisse présentent beaucoup d'irrégularités microscopiques qui peuvent limiter le contact des micro-organismes avec le désinfectant ; des agents mouillants entrent souvent dans la formulation des désinfectants pour faciliter ce contact.
Nettoyage préalable	Il faut vérifier la compatibilité du nettoyeur et du désinfectant, principalement dans le cas des composés d'ammoniums quaternaires.
Humidité relative	L'humidité relative d'une pièce nuit à la pénétration du désinfectant dans les matériaux secs.
Méthode d'application	La quantité de désinfectant atteignant la cible varie selon qu'il est appliqué par immersion, irrigation, brossage ou essuyage ; la nature de l'applicateur doit en outre être compatible avec le type de désinfectant, et l'applicateur doit être propre afin de ne pas neutraliser le désinfectant utilisé.

Suite tableau VI : Autres facteurs influençant la chloration. (Mossicot R., 2009)

Facteurs	Remarques
Fréquence d'application	Le rapport entre la contamination et le désinfectant utilisé est important, surtout en présence de souillures ; la quantité de désinfectant appliquée par unité de surface est habituellement spécifiée par le fabricant.
Entreposage	Les désinfectants devraient toujours être entreposés selon les directives du fabricant.
Âge du produit	Les désinfectants devraient toujours être utilisés pendant la durée limite d'entreposage spécifiée par le fabricant.

II-2-9- L'affinage :

L'eau obtenue à la fin des filières de traitement peut contenir encore des micropolluants minéraux (métaux lourds) et/ou organiques à l'état dissout, présenter des goûts et odeurs désagréables, surtout les eaux industrielles qui ont réellement une qualité des eaux égales, voire supérieure à celle eau potable, il faut alors ajouter aux traitements précédents une étape d'affinage, généralement constituée :

- d'une ozonation conçue simultanément pour une oxydation et/ou une destruction des matières organiques naturelles et de tous les polluants et pour désinfection complète de l'eau.
- suivit d'une filtration sur charbon actif en grains (CAG) lequel peut être utilisé des fins de déchloration. (Boudjellab Z.E. ,2009)

Chapitre III :

Les biofilms

Produced with ScantOPDF

Le maintien de la qualité des eaux potables de la sortie de l'usine de traitement jusqu'au robinet du consommateur est une préoccupation majeure des traiteurs et distributeurs d'eau. Il s'agit de répondre à la demande des consommateurs et d'assurer le maintien de la qualité de l'eau potable au cours de sa distribution. (Gauthier F., 2002)

Dans la plupart des cas, le réseau véhicule une eau respectant les normes de potabilité. Les véritables problèmes viennent du fait que la densité des microorganismes présents va augmenter avec le temps de séjour ou/et la distance entre l'usine de traitement et l'utilisateur, traduisant un vieillissement ou une évolution inopportune d'une eau d'excellente qualité au point de départ. Les causes de cette prolifération bactérienne sont dues, entre autre, à la formation de communauté de microorganismes fixées aux surfaces internes des canalisations : *les biofilms*. (Boudjellab Z.D., 2009)

III-Les biofilms :

III-1-La dégradation de la qualité de l'eau dans les réseaux : (Fig.13)

Les réseaux de distribution d'eau potable sont continuellement exposés à un flux de matière organique biodégradable et de microorganismes provenant de l'usine de traitement, mais également d'incidents (cassures, réparations) survenant sur le réseau lui-même. Une partie de ces microorganismes (bactéries hétérotrophes en particulier) s'adapte à cet environnement oligotrophe, et peut ainsi coloniser l'ensemble d'un réseau de distribution d'eau potable, la plus forte densité de microorganismes se rencontrant à la surface des matériaux supports et s'organisant sous forme de micro-colonies plus ou moins dispersées et mélangées à des produits de corrosion et des précipités inorganiques. (Boubidi R. et al., 2007)

Cette prolifération est suivie de leur détachement ou de leur arrachage et de leur transport par l'eau circulante. Par ailleurs, la population bactérienne de l'eau potable est adaptée à cet environnement et représente le point de départ d'une chaîne trophique complexe. [39]

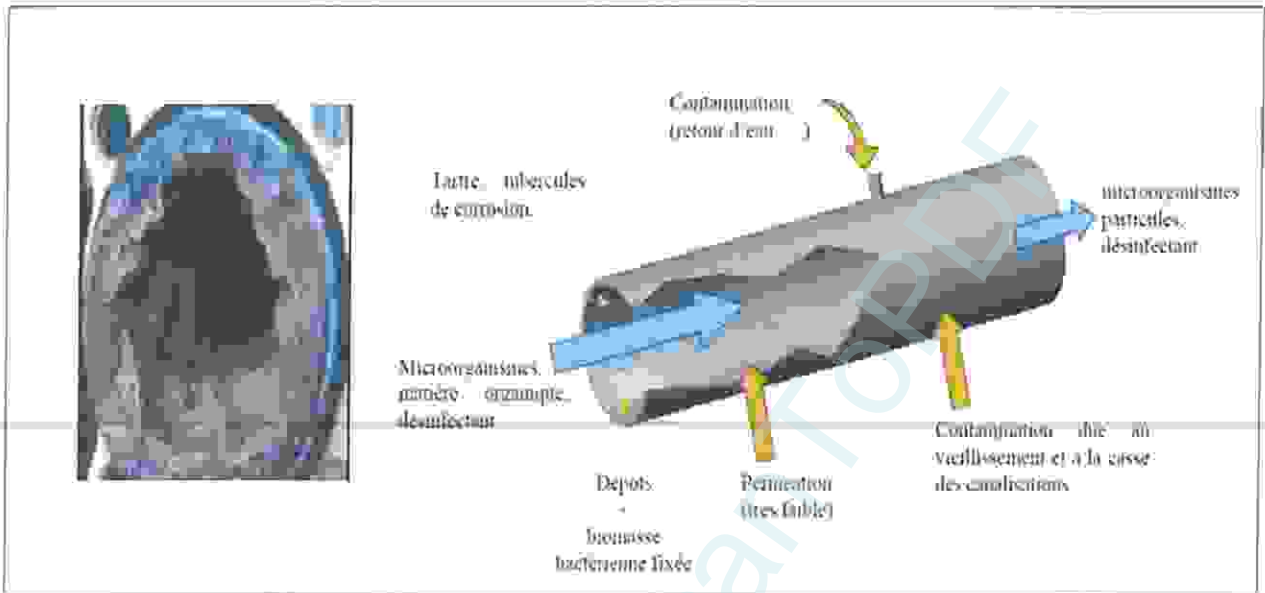


Figure13: Schéma d'un réseau réacteur. (Gauthier F., 2002)

III-2-Les micro-organismes dans le réseau de distribution d'eau potable :

III-2-1-Les différents types de microorganismes retrouvés dans l'eau potable :

Comme tous ce qui nous environne, l'eau contient normalement des organismes vivants (bactéries, champignons, macroinvertébrés,...) ; le traitement de l'eau lorsqu'il est nécessaire, n'a pas pour but de préparer une eau stérile, mais simplement de la rendre agréable à boire (claire, sans mauvais goût...) et non dangereuse pour la santé humaine. De ce fait, dans l'eau de réseau, va se trouver ou/et se développer toute une population d'organismes vivants que l'on peut classer, subjectivement en quatre groupes :

-Autochtones : se sont surtout des microorganismes retrouvés aussi dans le sol, sur les aliments...etc (bactéries, levures, champignons microscopiques).

-Surprenants : lorsqu'ils arrivent par malchance jusqu'au robinet du consommateur. Ce sont entre autre, des protozoaires et des microinvertébrés, induits accidentellement dans le réseau, pouvant y survivre et y proliférer jusqu'à plusieurs milliers par mètre cube d'eau.

-Génant : parce qu'ils amplifient les phénomènes de corrosion chimiques ou provoquant l'apparition de mauvais goût et odeur (G/O) dans l'eau. C'est dans ce dernier cas, le fait des (germes) actinomycètes gênants aussi lorsque la prolifération d'une flore banale masque la détection de germes potentiellement dangereux.

-Dangereux pour la santé : ce sont des germes pathogènes pour l'homme apportés par une contamination accidentelle. (Boudjellab Z.D., 2009)

III-2-2-Origine des microorganismes dans le réseau de distribution d'eau potable :

Pour que des microorganismes et en particulier des bactéries prolifèrent dans le réseau de distribution encore faut-il qu'elles y soient apportées et y survivent. Les sources de contamination, en fait, sont nombreuses :

-La ressource en eau elle-même.

-La chaîne de traitement des eaux la plus sophistiquée n'élimine pas tous les microorganismes présents. Il y a en fait après désinfection une forte inactivation de la population mais il reste au moins 0,1 % de germes vivants. De plus ces microorganismes qui échappent au traitement apparaissent sélectionnés par le traitement (les bactéries isolées des eaux traitées apparaissent plus fréquemment résistantes à plusieurs désinfectants, et aux métaux), d'autre part, la chaîne de traitement apparaît comme une zone où des réactions peuvent se multiplier en particulier dans les filières à charbon actif ou dans les filtres à sable. La flore bactérienne qui se développe dans ces filtres (flore hétérotrophe) est bien adaptée, et par simple compétition pour les molécules nutritives, ne semble pas favoriser la multiplication des coliformes et aussi lors du lavage suivi de la mise en fonctionnement de ces filtres de fines particules chargées de microorganismes seront alors entraînées dans le réseau où elles sont facilement retrouvées.

-Les réservoirs (couverts ou non) capables de piéger des poussières de l'air ou de favoriser la multiplication algale, et les interventions sur le réseau contribuent eux aussi à la contamination plus ou moins importante du système de distribution.

Enfin, le réseau public de distribution c'est-à-dire, depuis le point de traitement jusqu'au compteur d'eau du particulier puis au-delà du compteur d'eau (à l'intérieur des habitats ou autres) dans cette partie du réseau l'eau de distribution peut être contaminée par les

raccordements croisés du réseau « cross connection » et les flux d'eau en retour « back flow ». (Boudjellab Z.D., 2009)

III-3-La découverte des biofilms :

Les biofilms sont présents sur terre depuis des milliards d'années. Toute surface solide en contact avec un fluide contenant des bactéries est susceptible d'être support d'un biofilm. Certains estiment qu'il représente le mode de vie de plus de 99% des bactéries terrestres. (Burin des Rosiers M.C.P.M., 2002)

En 1943, le microbiologiste américain **Claude Zobell** avait montré que, dans un récipient rempli de liquide, les bactéries colonisant les parois sont bien plus nombreuses que celles en suspension. Mais, c'est **William Costerton**, qui a d'abord proposé, puis défendu et finalement popularisé, la notion de « *biofilm* » au sein de la communauté des microbiologistes [34]

C'est seulement depuis les années 1990 que les scientifiques ont commencé à comprendre l'omniprésence et l'importance des biofilms « *Nous constatons de plus en plus que presque toutes les bactéries dans la nature se retrouvent sous la forme de biofilms* », a dit Epstein, « *Cela offre beaucoup d'avantages aux bactéries, y compris une meilleure protection et plus de chances de se fixer aux sources de nutriments. C'est un truc de dingues* ». [35]

III-4-Définition du biofilm :

Un biofilm est une communauté de microorganismes (bactéries, protozoaires, virus, etc.) adhérant entre eux, fixée à une surface et caractérisée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice nommée *substance polymérique extracellulaire* (SPE). Les EPS (Extrapolymérique substances) qui renferment en majorité des polysaccharides macromoléculaires et en moindre mesure des protéines, des lipides et acides nucléiques. (Fig.14) (Berthiaum C., 2010)

Les biofilms se développent sur virtuellement toutes les surfaces dans les environnements naturels aqueux qu'elles soient biologiques (plantes et animaux aquatiques) ou non (béton, métal, plastique et pierres). Les biofilms se forment particulièrement rapidement dans des systèmes où l'eau circule et où les micro-organismes reçoivent un apport régulier de

nutriments. Un intense développement microbien accompagné de l'excrétion de grandes quantités de polymères extracellulaires, conduit à la formation de couches visqueuse visibles (les biofilms) sur les surfaces solides. (Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A., 2003)

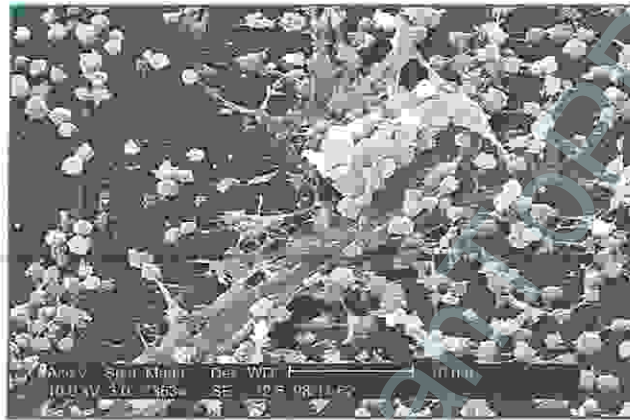


Figure 14 : Biofilm de *Staphylococcus* spp. Image obtenue par microscopie confocale. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-5-Les méthodes d'obtention des biofilms :

Des chercheurs ont développé différents modèles de biofilms artificiels, reproductibles d'un laboratoire à un autre.

Les cuves à flux continu sont de petites chambres à parois transparentes dans lesquelles des biofilms submergés peuvent se former et sont continuellement approvisionnés en nutriments. Comme l'indique le nom de la technique, les biofilms sont dans un milieu aqueux, caractérisé par un flux de liquide, dont la vitesse est constante. Les biofilms formés dans ces cuves à flux continu peuvent être facilement observés avec les techniques de microscopie confocale à balayage laser : on obtient ainsi des images de biofilms à tous leurs stades de développement.

On peut aussi réaliser des cultures en lots, en absence de flux. Cette technique consiste à mettre des bactéries en culture dans des plaques de micro-titrage, sans flux. Avec ce système, on peut analyser rapidement de nombreux échantillons. Cette méthode d'étude est utilisée en

vue du séquençage des génomes des micro-organismes. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-6-Structure et composition des biofilms :(Fig.15)

Le biofilm présente une structure hétérogène et discontinue, marquant une dispersion non uniforme des colonies à la surface du matériau. Les agrégats qui se différencient au niveau des biofilms sont entourés par des canaux qui peuvent occuper jusqu'à 50% de volume total du biofilm. Par ces canaux, circulent eau, nutriments, particules et protozoaires.

Les biofilms sont constitués d'un mélange de microorganismes d'activité variable en fonction de leur position dans l'agrégat, et des caractéristiques de celui-ci. Ainsi, lorsque les biofilms sont de faible épaisseur ($< 40 \mu\text{m}$), le transfert de nutriment et d'oxygène n'est pas limité. De plus, les grandeurs traduisant l'activité de l'ensemble seraient identiques à celles des bactéries en suspension. Lorsque le biofilm (ou colonie) est épais, supérieur à $80\mu\text{m}$, l'activité respiratoire est plus faible pour les couches les plus profondes.

L'accumulation des biofilms à la surface des matériaux se réalise dans des zones où la circulation de l'eau est freinée par des frottements sur la paroi. Les transferts au travers de cette couche de différentes molécules (O_2 , oxydant, nutriment) sont limités par leur vitesse de diffusion, et une différenciation des métabolismes peut être observée.

L'état stationnaire des biofilms n'est sans doute jamais atteint dans les réseaux de distribution réels, du fait des discontinuités fréquentes d'alimentation, et donc de la variation du régime hydraulique du système. Ceci peut également être attribué aux changements de la nature et des concentrations en nutriments et désinfectants, l'introduction de nouveaux organismes. Au cours de leur vieillissement, les biofilms de réseau de distribution d'eau potable doivent subir une réorganisation constante, avec la formation de nouveaux microagrégats, de nouveaux canaux, ... (Gauthier F., 2002)

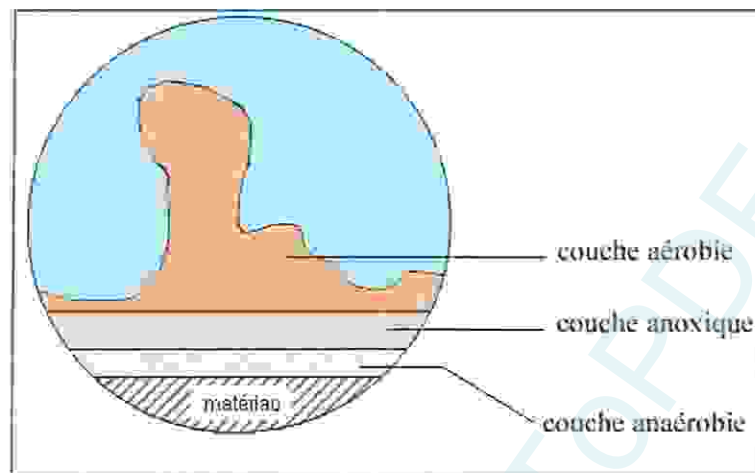


Figure15 : La structure d'un biofilm au sein d'un réseau de distribution d'eau potable. (Gauthier F., 2002)

III-7-Les étapes de formation du biofilm : (Fig.16)

La prolifération bactérienne sous forme de biomasse fixée dans les réseaux de distribution d'eau potable est le résultat d'un ensemble de processus physique, chimique et biologique.

Ainsi, la formation d'un biofilm se réalise en plusieurs étapes faisant intervenir ces différents processus : (Gauthier F., 2002)

III-7-1-Attachement primaire réversible et non spécifique à une surface (adhérence) :

L'interface solide-liquide entre une surface et un milieu aqueux (eau, sang par exemple), fournit un environnement idéal pour la fixation de micro-organismes et la formation d'un biofilm. Les bactéries Gram-négatives, comme *Escherichia coli* ou *Salmonella*, possèdent des flagelles. Ces derniers leur permettent d'entrer en contact avec une surface puis de s'y fixer. Cependant, la motilité flagellaire n'est pas essentielle pour l'attachement initial et la formation d'un biofilm. L'absence de flagelle est compensée par l'existence d'autres molécules adhésives, comme les curli, permettant l'attachement de la bactérie à la surface. Certaines bactéries sont capables d'établir un contact avec une surface par des mécanismes de signalisation et d'exprimer par la suite des adhésines à leur surface. Ce mécanisme est appelé « surface sensing ». Il existe chez *Escherichia coli*, (système de signalisation Cpx) mais les modes de fonctionnement ne sont pas encore connus. Les gènes

codant pour les caractères de motilité (synthèse du flagelle, motilité, chimiotactisme...) sont inhibés une fois que les bactéries se sont fixées à la surface.

L'attachement primaire à une surface est sous l'influence de nombreux facteurs : pH, osmolarité du milieu, température... (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-7-2-Attachement secondaire irréversible et spécifique à une surface (adhésion) :

L'adhésion correspond à une fixation active et spécifique des micro-organismes sur une surface. Les structures d'adhésion varient selon les types de micro-organismes concernés. Pour les bactéries Gram-négatives, il s'agit des pili, des curli, des capsules et du glycocalix. Pour les bactéries Gram-positives, ce sont les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix. D'autres bactéries vivant presque uniquement fixées (comme par exemple *Caulobacter* ou *Hyphomicrobium*) utilisent des structures spécifiques comme le pédoncule ou la gaine.

Ces molécules d'adhésion permettent d'établir des contacts cellule-surface et des contacts cellule-cellule. Chez certaines souches de streptocoques, des protéines exprimés à la surface des bactéries, entre autres la protéine Bap, favorisent les contacts entre cellules et contribuent à la synthèse de la matrice extracellulaire.

Remarque : Les **curli** sont des fibres protéiques extracellulaires produites par des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*. Les curli peuvent se fixer à des protéines de la matrice extracellulaire des cellules de l'hôte ; fibronectine, laminine, plasminogène. Leur synthèse est sous l'influence de nombreuses conditions environnementales comme la température, l'osmolarité, le pH et les concentrations en oxygène. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-7-3- Maturation du biofilm (Phases précoces de développement du biofilm) :

Dès que l'attachement au substrat devient irréversible, le biofilm entame des phases de croissance et de maturation. La maturation du biofilm est divisée en deux phases. La première phase est marquée par des régulations de gènes importantes, engendrant un changement marqué de phénotype par rapport aux formes planctoniques. Elles concernent essentiellement des gènes codant pour des protéines impliquées dans des métabolismes anaérobies; cela suggère la faible présence d'oxygène, surtout dans les zones les plus proches du support. La

seconde phase de maturation du biofilm est marquée par de synthèses protéiques importantes, très différentes de celles ayant lieu lors de la première phase de maturation du biofilm. L'épaisseur maximale du biofilm est atteinte durant la phase de maturation. Soixante-dix gènes subiraient des modifications au cours de la maturation d'un biofilm. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-7-4-Essaimage et dispersion du biofilm :

Lorsque l'épaisseur maximale du biofilm est atteinte, le stade final de développement du biofilm peut avoir lieu. Il s'agit du stade de dispersion: des formes planctoniques sont relarguées dans le milieu extérieur, à partir du biofilm. Des remaniements génétiques sont à l'origine du détachement des formes planctoniques. Ce dernier permet non seulement de promouvoir une diversité génétique mais aussi de favoriser la colonisation de nouvelles niches écologiques et par conséquent la formation d'autres biofilms. La libération des formes planctoniques à partir du biofilm peut se faire selon deux modalités): Les bactéries peuvent se détacher de façon continue, en petites quantités : on parle d' « érosion » du biofilm. Mais on peut assister à un détachement massif et rapide, « en lambeaux », de quantités importantes de bactéries, appelé « sloughing ». Les formes planctoniques ainsi libérées peuvent conserver des caractéristiques du biofilm, comme la résistance aux désinfectants. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

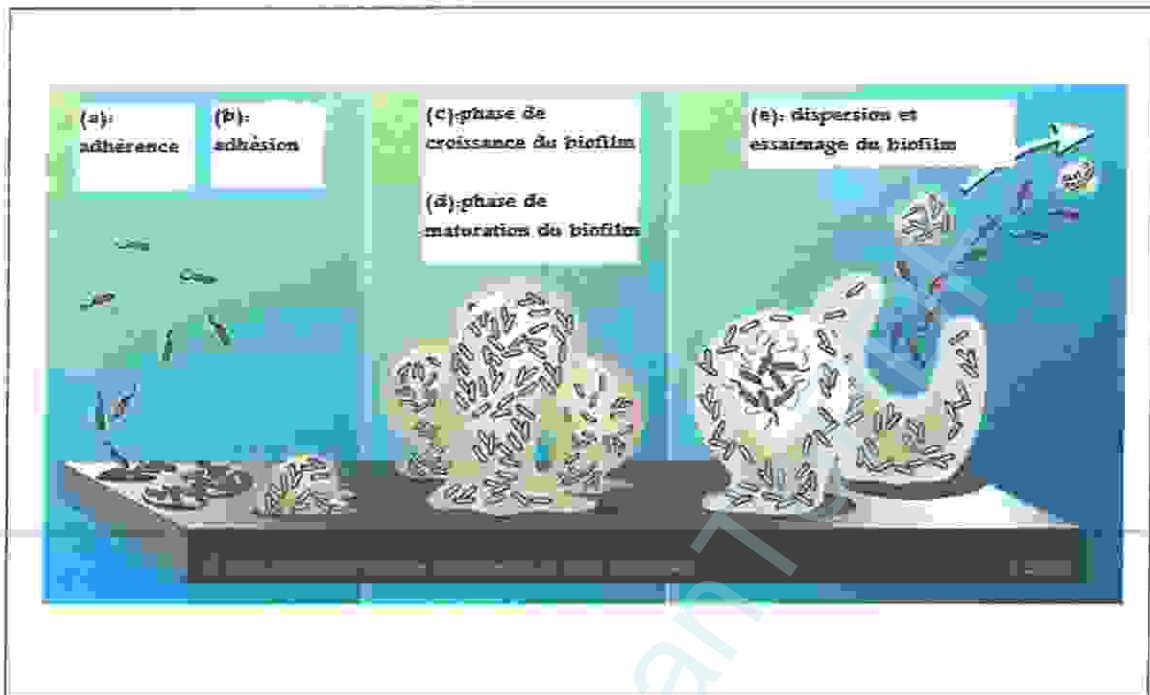


Figure 16: Cycle de développement simplifié d'un biofilm. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-8-Régulation de la formation des biofilms :

III-8-1-Le quorum sensing :

A. Définition et mécanismes :

La formation d'un biofilm est contrôlée par des mécanismes de quorum sensing. Il s'agit de mécanismes de contrôle des processus ayant lieu au sein des cellules, matérialisés par des signaux de cellules à cellules, et dépendant de la quantité de cellules présentes: on parle de mécanismes de perception du quota. Ces mécanismes sont basés sur le principe de masse critique. Une fois que les signaux atteignent une valeur seuil (valeur critique), des régulateurs transcriptionnels sont activés et exercent un contrôle sur des gènes spécifiques. La nature et la fonction des molécules signalant les échanges de cellule-à-cellule changent à partir d'une concentration donnée des bactéries. Des mutations de gènes impliqués dans les mécanismes de quorum sensing entraînent des répercussions sur les stades tardifs de formation des biofilms. Ces gènes exercent un contrôle sur une grande partie de l'expression du transcriptome et du protéome, avec en particulier un contrôle de l'expression de facteurs de virulence comme les protéases par exemple. Les molécules du quorum sensing sont variées, et diffèrent d'une espèce bactérienne à une autre. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

B. Les molécules du quorum sensing :

Les molécules du quorum sensing sont différentes selon les types de bactéries. On trouve des acylhomosérines lactones (AHL) chez la plupart des bactéries **Gram-négatives**. La majorité des bactéries **Gram-positives** utilisent des peptides auto-inducteurs, dont la taille est très variable (de 5 à 87 acides aminés). Les molécules du quorum sensing sont dégradées par des enzymes: AHL-lactonases et AHL-acylases. On obtient par conséquent une ségrégation spatiale des molécules du quorum sensing au sein d'un biofilm. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

C. Rôles du quorum sensing :

Le quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm, et en prenant en compte les conditions environnementales. Il initie les phénomènes de dispersion et d'essaimage de bactérie planctoniques à partir du biofilm. Le quorum sensing aurait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm. Il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, comme par exemple la motilité ou certains facteurs de virulence extracellulaires, comme les protéases. Les molécules du quorum sensing jouent aussi un rôle dans la lutte contre l'attaque d'autres organismes vivants, comme les protozoaires (exemple de *Serratia marcescens*).

Les synergies observées au sein des biofilms constitués de différentes espèces de micro-organismes sont permises grâce aux molécules intervenant dans le quorum sensing. Les biofilms composés de plusieurs communautés de bactéries d'espèces différentes ont de fortes concentrations en molécules du quorum sensing, compte-tenu de la densité élevée de cellules présentes. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

D. Altération du quorum sensing. Conséquences :

L'altération des mécanismes de quorum sensing peut aboutir à d'importantes modifications phénotypiques des micro-organismes du biofilm, par exemple une sensibilité augmentée à des antibiotiques ou à des antiseptiques, ou encore des anomalies dans le cycle de développement du biofilm, surtout lors des étapes de formation et de dispersion. Les biofilms mutants pour les molécules du quorum sensing ont une structure tridimensionnelle déficiente. Par exemple, les mutants de *Burkholderia cenocepacia* pour les molécules du quorum sensing sont toujours capables de se fixer à une surface mais l'organisation spatiale des cellules est altérée de façon

drastique ; de plus, on constate une augmentation de la sensibilité aux antibiotiques de ces bactéries pendant la phase de croissance du biofilm. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-8-2 Régulation génétique par les cellules fixées :

Après fixation sur un substrat, l'expression d'un certain nombre de gènes est régulée par les cellules fixées. Cette régulation peut être de type inhibiteur ou stimulateur. Elle va entraîner une modification phénotypique des bactéries et avoir pour conséquence la formation d'un biofilm. Au cours de la formation d'un biofilm, 22% des gènes sont stimulés et l'expression de 16% des gènes est inhibée. Lors de la formation de biofilms de *Staphylococcus aureus*, des gènes codant pour des enzymes intervenant dans la fermentation et la glycolyse (phosphoglycérate mutase, triosephosphate isomérase et alcool déshydrogénase) sont stimulés. Ceci peut être relié au fait que la concentration d'oxygène dans le biofilm diminue au fur et à mesure de son développement. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-8-3- Régulation de la formation des biofilms par le GMP-c :

Le 3'-5'-guanosine-monophosphate cyclique, plus communément appelé GMP-c, est un régulateur central du mode de vie sous forme de biofilms et de l'expression de facteurs de virulence. Le GMP-c est un second messager, intervenant dans des cascades de phosphorylations et modulant l'expression de certains gènes des bactéries du biofilm, impliqués dans les mécanismes de formation du biofilm et dans l'expression de la virulence. La transformation du GTP en GMP-c par la diguanylatecyclase est activée par des signaux extracellulaires, différents selon les bactéries concernées. Lorsque la quantité de GMP-c augmente au sein de la cellule, la quantité de protéines jouant un rôle de facteurs de virulence augmente. Beaucoup d'interrogations à propos de ce mécanisme restent encore en suspens. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-8-4- Autres mécanismes régulateurs de la formation des biofilms :

Les polysaccharides présents à la surface des cellules jouent un rôle important dans les interactions entre bactéries et leur environnement immédiat. Par exemple, on trouve à la surface d'*Escherichia coli* l'antigène du lipopolysaccharide O (LPS) et l'antigène polysaccharidique de capsule K. Les lipopolysaccharides, appelés aussi endotoxines, font partie de la paroi des bactéries Gram-négatives. Ils peuvent inhiber ou stimuler la formation de biofilms selon les cas. (Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

III-9-Facteurs favorisant la formation des biofilms :

La reviviscence bactérienne au sein des réseaux de distribution d'eau potable est le résultat de l'interaction de différents facteurs tels que :

- la nature des matériaux des conduites d'adduction,
- la température,
- les nutriments, présents au sein du réseau,
- le taux d'oxydant résiduel.

(Gauthier F., 2002)

III-9-1-Nature des matériaux des canalisations :

Les différents matériaux utilisés pour les conduites d'eau potable, influencent le développement de biofilms de diverses façons :

- la rugosité du matériau, qui offre une grande surface de contact avec l'eau ; celle-ci favorise alors l'adhésion des microorganismes sur les parois des conduites.
- le matériau relargue dans l'eau des éléments qui peuvent être métabolisés par les bactéries hétérotrophes présentes au niveau des biofilms : matière organique dans le cas des matériaux organiques, ions métalliques, dans le cas des matériaux corrodables, et ainsi favoriser leur développement,
- la stabilité du matériau : les tubercules de corrosion de certains matériaux peuvent constituer des sites préférentiellement colonisés par les bactéries. (Gauthier F., 2002)

III-9-2- La température :

La température des eaux varie de plusieurs degrés pendant le transit en réseau. Les variations saisonnières de température affectent les eaux, surtout quand elles sont d'origine superficielle. En plus de favoriser le développement de goûts et odeurs désagréables, une température élevée accélère la plupart des réactions physico-chimiques et biologiques dans les réseaux et influence la croissance bactérienne. (Gauthier F., 2002)

III-9-3-Les nutriments :(Fig.17)

Un des facteurs clés qui détermine la reviviscence bactérienne dans les réseaux de distribution d'eau potable est la biodisponibilité des nutriments. En effet, la présence de matière organique peut promouvoir la reviviscence bactérienne et ainsi conduire à la détérioration de la qualité de l'eau. Les substrats organiques en eau potable sont les premiers facteurs de la reviviscence des bactéries hétérotrophes dans les systèmes de distribution. (Gauthier F., 2002)

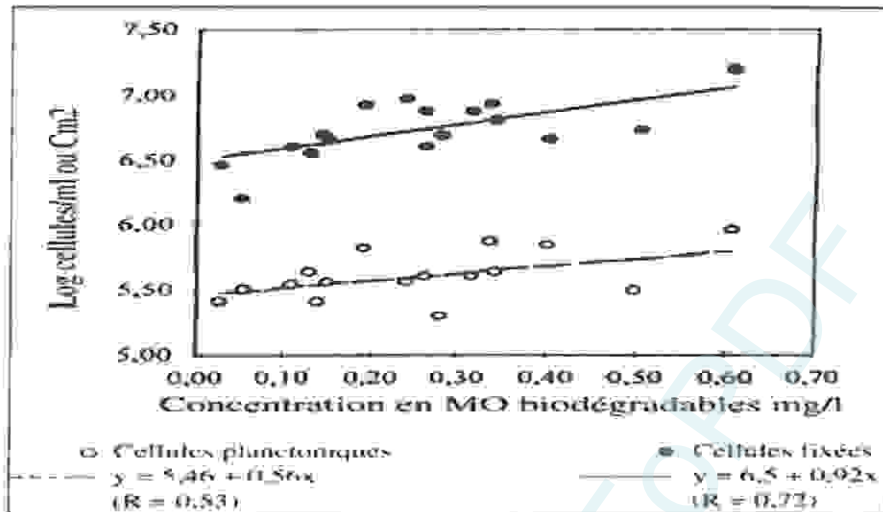


Figure 17 : Relation entre le Log de la densité bactérienne (Epifluorescence) et la concentration en M.O.B [22]

III-9-4-Autre facteurs : Il existe également autre facteurs favorisant la formation des biofilms. Ils sont cités dans le tableau ci-dessous :

Tableau VII: Facteurs influençant l'attachement de cellules et la formation d'un biofilm.
(Alice de Chalvet de Rochemonteix, 2009)

Propriétés du substrat	Propriétés du milieu aqueux environnant	Propriétés des cellules
Texture, rugosité, présence d'aspérités	Vitesse du flux, présence d'un flux laminaire ou non	Hydrophobicité de la surface des cellules
Hydrophobicité	pH	Présence de fimbriae
Présence préalable d'un film protéique recouvrant la surface	Cations (Ca ²⁺ , Na ²⁺ , Fe ³⁺ ,...) *[Fer], *Disponibilité du milieu en oxygène	Présence de flagelles
	Présence d'agents antimicrobiens	Rôle des structures polymériques extracellulaires d'exopolysaccharide.

III-10-Phénomènes de résistance aux désinfectants :

La résistance des biomasses fixées aux oxydants s'explique par :

- la consommation de l'oxydant par le biofilm lui-même, du à son pouvoir réducteur, de la matière organique fixée,
- une pénétration limitée du chlore jusqu'aux couches basales du biofilm, à l'origine d'un gradient de concentration en désinfectant depuis les couches superficielles vers les couches plus profondes,
- la densité cellulaire du biofilm,
- la nature du matériau support.

En plus de la protection mécanique apportée par la structure en biofilm (faible diffusion de l'oxydant vers les couches basales), les bactéries présentent différents moyens de résistance à la désinfection, de réponse à ce stress oxydant. L'exposition des bactéries du biofilm à ces stress oxydants sublétaux entraîne une défense cellulaire marquée faisant intervenir différentes enzymes et systèmes enzymatiques :

- élimination de l'oxydant : superoxyde dismutase, catalase,
- protection vis-à-vis de l'oxydant : glutathion (GSH),
- réparation des dommages : système SOS.

Ces phénomènes de résistance sont notamment observables avec l'utilisation de chlore comme désinfectant. En effet, un résiduel de chlore total de 2,3 à 3,4 mg.L⁻¹, en continu pendant 14 jours, sur un biofilm âgé de deux mois (10⁶ cellules/cm²) ne permet l'élimination que de 1 log des cellules totales, la proportion de cellules cultivables fixées n'étant pas modifiée. (Fig.18) (Gauthier F., 2002)

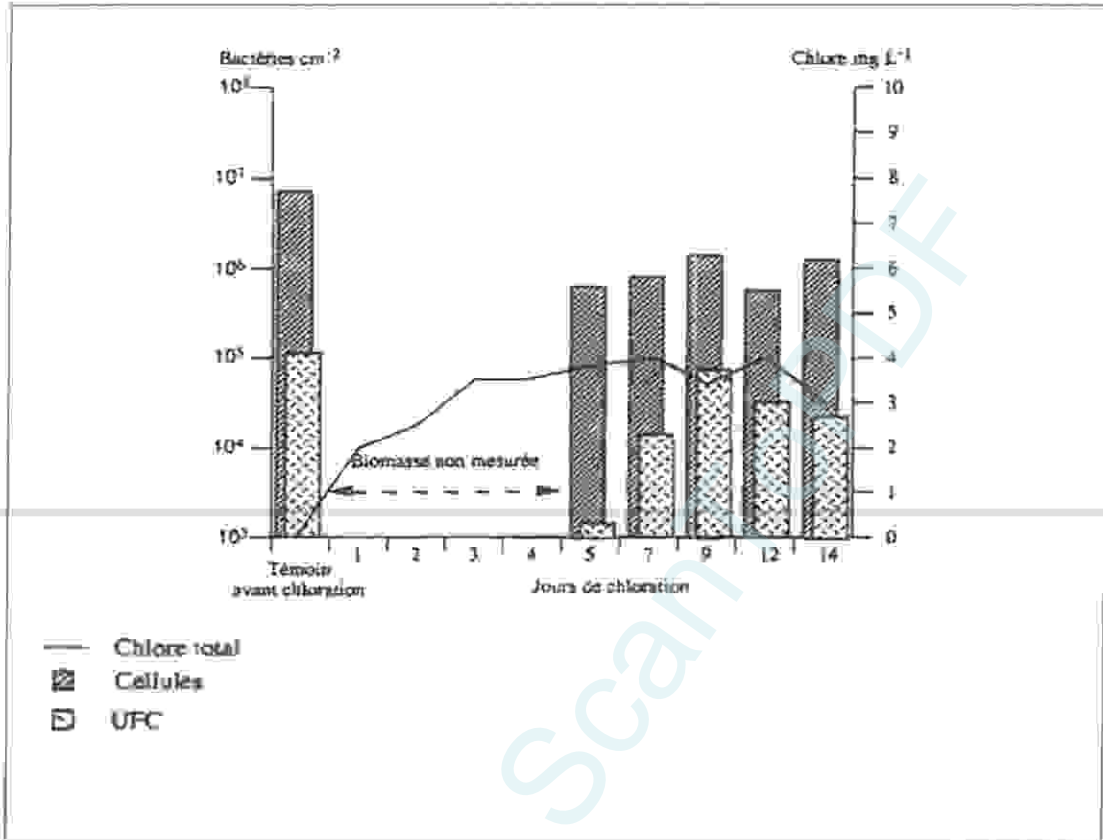


Figure 18: Evolution de la densité bactérienne totale et des bactéries cultivables fixées, dans un réseau expérimental de distribution alimenté avec une eau CAG chlorée en continu pendant 14 jours. (Gauthier F., 2002)

III-11-Conséquences du développement d'un biofilm dans les réseaux :

Différents problèmes peuvent être directement reliés à la formation et au développement d'un biofilm sur les parois des canalisations d'adduction d'eau potable. Ces conséquences peuvent porter sur le réseau de distribution lui-même, ou sur la consommation de l'eau issue du réseau contaminé. (Gauthier F., 2002)

III-11-1- Conséquences de la présence d'un biofilm sur le réseau de distribution :

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

- les bactéries accumulées au niveau d'un biofilm constituent le premier maillon d'une chaîne alimentaire et ainsi favorisent le développement de macro-organismes,
- certains types bactériens peuvent induire, par leur présence ou leur activité métabolique, une augmentation de la turbidité, de la sapidité et de l'odeur de l'eau,

- certaines bactéries peuvent accélérer le phénomène de corrosion. Le terme de biocorrosion est alors utilisé,
- les capacités de distribution d'un réseau peuvent être diminuées par l'augmentation des forces de résistance, induites par la présence de biofilms,
- une augmentation du nombre de non-conformités par rapport aux critères microbiologiques de qualité de l'eau destinée à la consommation peut être observée au sein de réseaux abritant des biofilms (problème d'arrachement des biofilms). Le développement de bactéries nitrifiantes dans des zones d'anoxie, peut également entraîner des non-conformités, avec dépassement de la norme pour les nitrites. (Gauthier F., 2002)

III-11-2- Conséquences du développement du biofilm pour les consommateurs :

L'entrée à flux constant de biomasse au sein des systèmes de distribution d'eau potable et sa prolifération au sein des réseaux posent une problématique du point de vue de la santé publique. En effet, le système est constammentensemencé par des germes dont la plupart sont inconnus (pathogènes opportunistes). De plus, les conditions régnant au sein des réseaux de distribution peuvent permettre le maintien ou la croissance de coliformes, et ainsi entraîner le non-respect des critères de potabilité. (Gauthier F., 2002)

Les scientifiques estiment que les biofilms sont responsables de 65% des infections bactériennes. Les microbes qui forment des biofilms seraient 1000 fois plus résistants que les autres agents antimicrobiens. (Benjama E., 2007)

III-12-Contrôle des biofilms :

À partir du moment où les chercheurs et les distributeurs d'eau avaient pris conscience des nuisances que leur apportait le biofilm, il est normal qu'ils étudient les moyens de l'éliminer ou du moins de contrôler son développement, pour tenter de juguler les problèmes de coliformes dans les réseaux.

- Augmentation de la chloration, utilisation de ClO_2 .
- Application de l'ortho phosphate de zinc comme agent anti corrosion.
- Augmentation de pH de l'eau jusqu'à 9.

-Amélioration de la clarification de l'eau.

Ils concluent que ces mesures n'ont pas apporté de solution satisfaisante. Les mesures curatives sont :

- Soit chimiques (action des oxydants).
- Soit mécaniques (purge ou nettoyages mécaniques)

Les mesures préventives passent essentiellement par la maîtrise de la quantité de carbone organique dissous biodégradable (C.O.D.B) admise dans le réseau et par celle des microorganismes et de leurs formes de résistance. (Benjama E., 2007)

Produced with Scan PDF

Partie pratique

Produced With ScantOPDF

Objectif : Notre étude a pour but de vérifier l'efficacité et la persistance du chlore tout au long des canalisations jusqu'au l'eau de robinet.

I-Matériel et méthodes :

I-1- Plan de travail : Les différentes étapes de travail expérimental effectuées sont indiquées dans la figure 19.

I-2-Technique et précaution du prélèvement :

-La manipulation doit s'effectuée dans les meilleures conditions de stérilité.

-Les prélèvements sont effectués directement du robinet métallique préalablement flambé pendant une minute dans des flacons en verre, stériles, de 150 ml qui doit être remplis immédiatement et fermés hermétiquement.

-L'eau doit être laissée couler 3 à 5 minutes avant le prélèvement.

NB : -Un débit trop rapide gênerait la fixation des particules solides ou resèquerait d'entraîner, celles déjà fixées.

-Chaque prélèvement est suivi par la mesure de la concentration de chlore libre.

-Tous les prélèvements sont analysés dans un délai très court, inférieur à huit heures. (Rodier J.,1984)

I-3-Site du prélèvement : Trois prélèvements ont été réalisés au mois d'Avril à partir de deux sites différents :

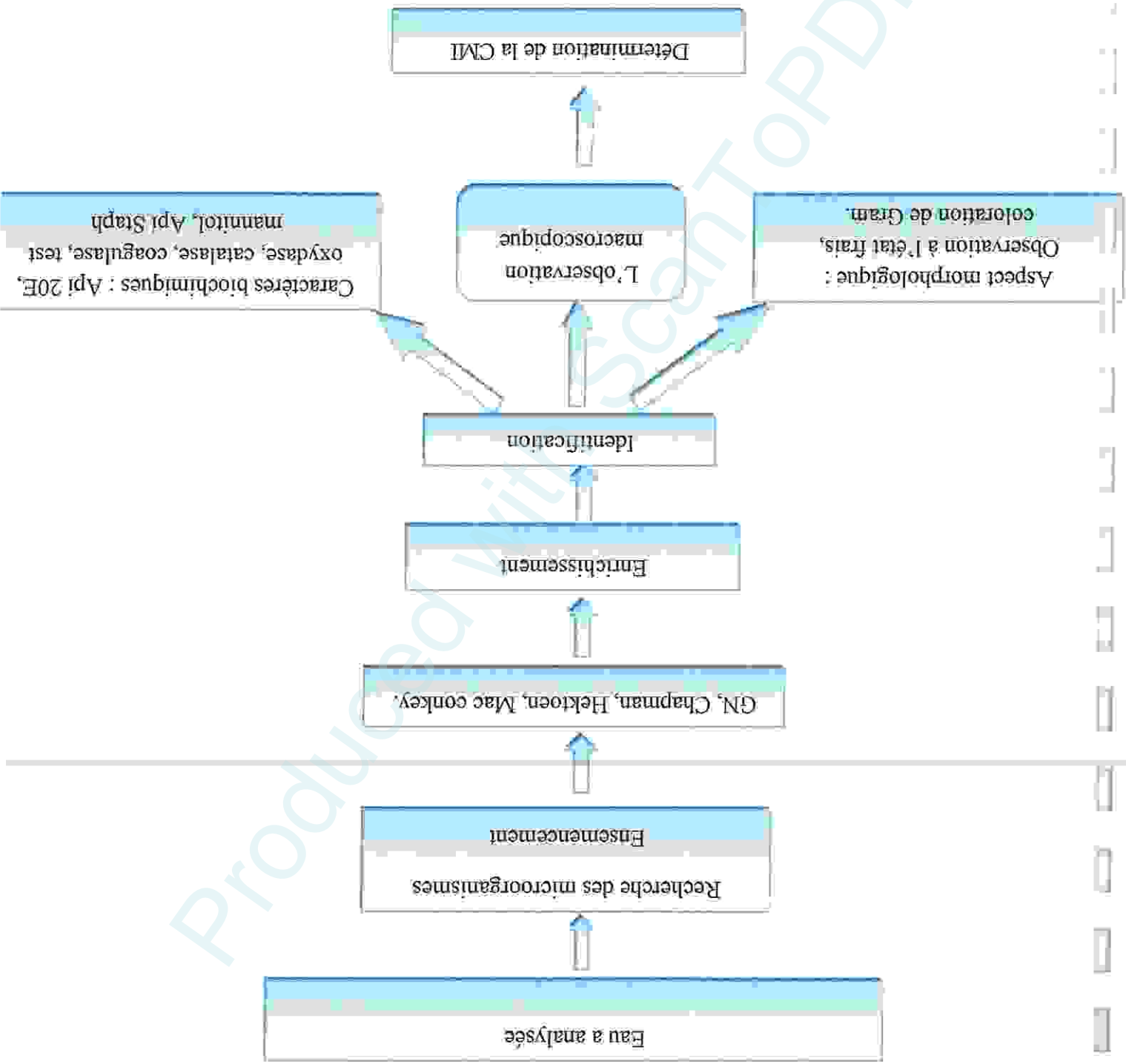
Tableau VIII : Les sites de prélèvement.

Le prélèvement	Le lieu	L'heure	La date
Prélèvement I	Site A	08 :42	11-04-2011
	Site B	09 :00	
Prélèvement II	Site A	11 :16	18-04-2011
	Site B	11 :28	
Prélèvement III	Site A	10 :05	20-04-2011
	Site B	10 :24	

Site A : Résidence Belhassab Omar, université 8 Mai 1945. Guelma.

Site B : Résidence Aggoun Saleh, université 8 Mai 1945. Guelma.

Figure 19 : Le protocole expérimental



I-4-Recherche des germes :

I-4-1-Le choix des milieux de culture :(Fig.20)

* **La gélose nutritive** : est une substance gélatineuse utilisée dans les tests de laboratoire et d'expériences comme un moyen de plus en plus une grande variété de micro-organismes, en particulier les bactéries et les moisissures.

***La gélose Chapman** : est un milieu de culture ancien (Chapman 1945), destiné à l'isolement et à la différenciation des staphylocoques .Du fait de sa grande concentration en chlorure de sodium (75g/l), il inhibe de nombreux germes, sauf les germes halophiles ou halotolérants. (Delarras C., 2007)

***La gélose Hektoen** : est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation pour la recherche des salmonella et shigella .Elle est utilisée pour la recherche des salmonella dans les produits alimentaires. (Delarras C., 2007)

***La gélose Mac Conkey** : est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation destiné à la recherche des entérobactéries (dont Escherichia coli), à partir de prélèvement d'origine déverses (clinique, alimentaire (eau, produits laitiers), pharmaceutique....). (Delarras C., 2007).

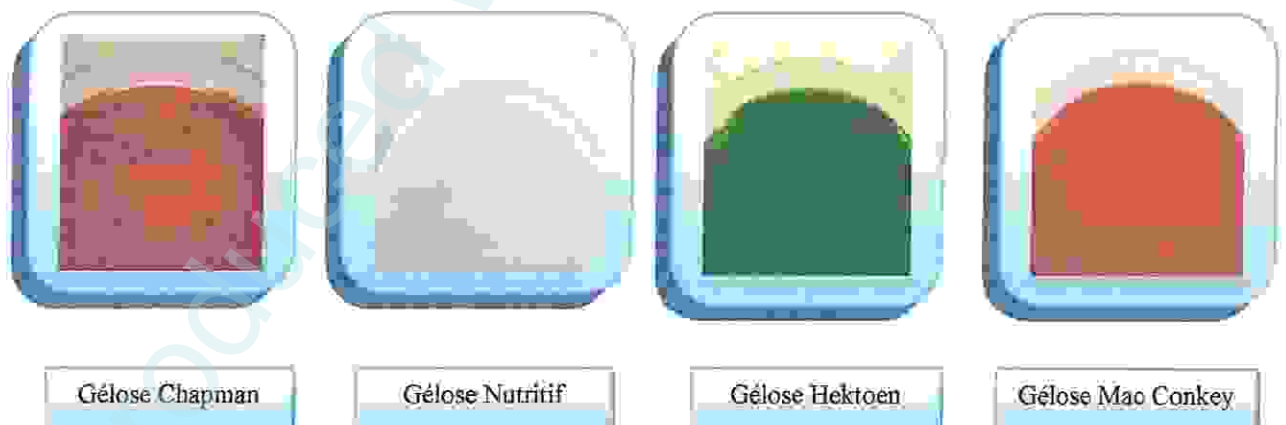


Figure 20 : Les différents milieux utilisés dans la culture bactérienne [37]

I-4-2-L'écoulement des milieux de culture :

On suit les étapes suivantes :

- Faire fondre les milieux de culture (gélose nutritive, gélose Chapman, gélose Hektoen, et gélose Mac Conky) dans l'autoclave jusqu'à fusion de ceux-ci.
- Couler aseptiquement dans des boîtes de pétri la gélose, agiter doucement par un mouvement circulaire sans faire des bulles et sans mouiller les bords des boîtes.
- Le milieu doit être coulé 10 minutes au plus tard après répartition de l'eau à analyser.
- Laisser refroidir sur une surface parfaitement horizontale et fraîche.

I-4-3-l'ensemencement sur gélose :

*Prélever une prise d'essai de 0.1ml avec une pipette pasteur stérile et la déposer à la surface du milieu à l'aide d'un râteau. (Fig.21)

*Répartir uniformément la goutte sur toute la surface de la boîte.

✓ **Autre méthode d'ensemencement : L'inondation**

*Verser une petite quantité du prélèvement, préalablement agité, sur les géloses coulées.

*Faire inonder avec un mouvement circulaire.

*Verser le surplus.

*Incuber les boîtes ensemencées à 37°C et procéder à la lecture des colonies développées sur chaque boîte. (Rodier J., 1984)



Figure 21 : Les étapes de l'ensemencement sur gélose. (Prescott L.M. et al., 2003).

Remarque : Pour assurer la pureté des souches obtenues, une étape de purification est nécessaire.

I-4-4-Enrichissement :

Pour l'enrichissement, on a utilisé un milieu très riche le TGEA qui permet en quelques heures d'augmenter la proportion relative des germes recherchés. (Fig.22)



Figure 22 : L'enrichissement dans le TGEA.

I-5-Identification :

I-5-1-Aspect morphologique :

-Observation à l'état frais : (Fig.23)

Cet examen permet d'apprécier la forme et parfois la mobilité des germes étudiés. Il faut éviter de confondre la mobilité d'une bactérie avec les mouvements de convection susceptibles de l'entraîner.

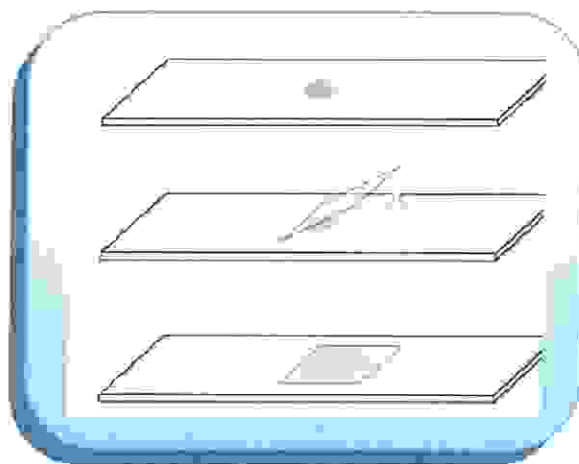


Figure 23 : La préparation à l'état frais. [38]

-**Coloration de gram** : est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et d'utiliser ces propriétés pour diviser les bactéries en deux groupes, soit les bactéries Gram + (coloration bleue) et les bactéries Gram – (coloration rose), se fait selon les étapes suivantes : (Fig.24)

-*Préparation d'un frottis bactérien* : le frottis doit être parfaitement refroidi.

-*Coloration par le violet de Gentiane* : laisser agir la solution de cristal violet pendant 1mn puis laver la lame avec l'eau.

-*Mordançage* : laisser agir le lugol pendant 1mn puis rinçage avec l'eau.

-*Décoloration* : recouvrir la lame avec l'alcool pendant 30 secondes, lavé à l'eau.

-*Recoloration* : laisser agir la solution de fushine pendant 30à40 secondes, laver à l'eau et enfin sécher. (Lassaoud K. et Touhami N. ,2008)

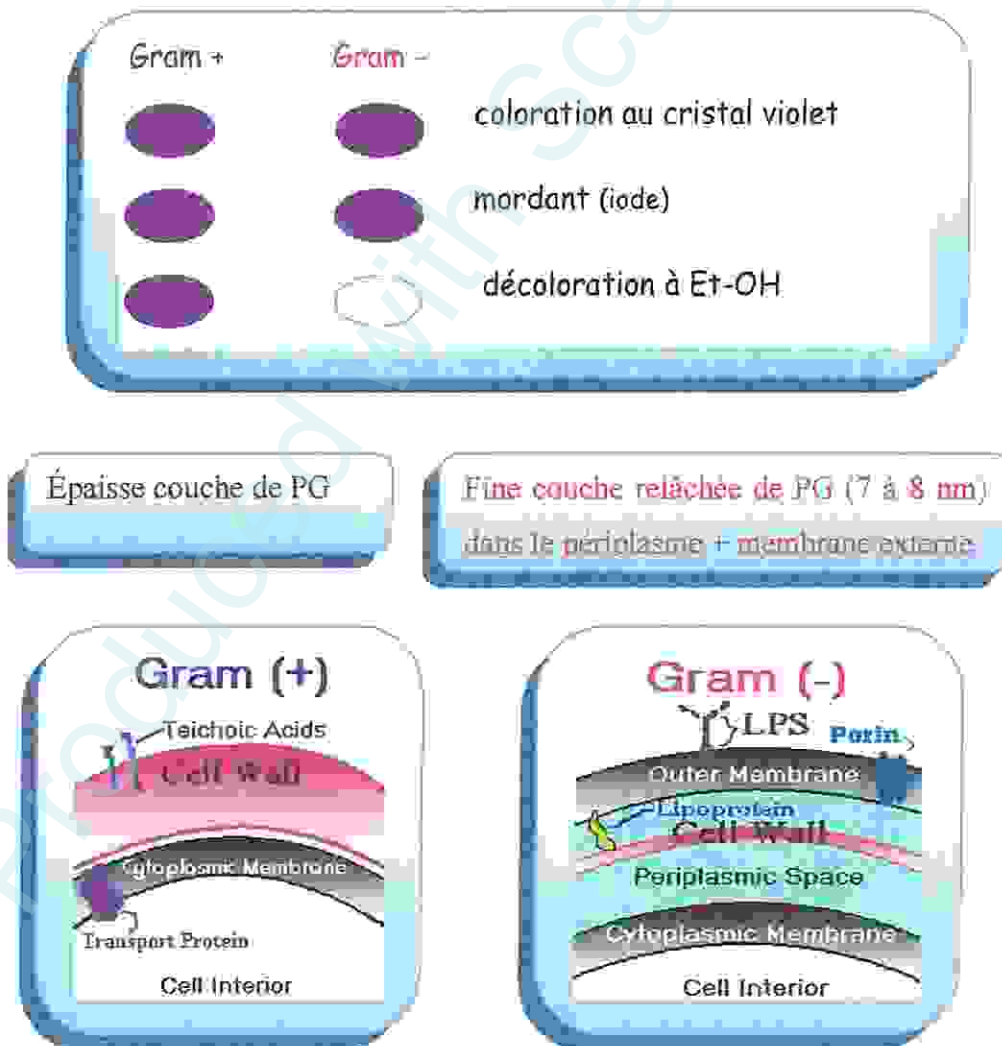


Figure 24 : Les étapes de la coloration de Gram. [38]

1-5-2-Identification biochimique :

Lorsque le champ d'identification possible a été réduit à une ou à quelques familles, le bactériologiste recourt à des tests «biochimique» simples : Ceux-ci vont distinguer les bactéries d'espèces et de genres différents, en détectant les différences entre leurs métabolismes. Par exemple, un test permet de faire la distinction entre les espèces qui peuvent et celles qui ne peuvent pas fermenter un hydrate de carbone particulièrement, ou entre les espèces qui donnent des produits différents en métabolisant un substrat donné. (Singleton P., 2005)

1-5-2-1-Test de catalase : La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène. Synthétisée par la plupart des bactéries aérobies, elle élimine le peroxyde d'hydrogène produit au cours du métabolisme aérobie. Le test de la catalase sert à détecter la présence de cette enzyme dans une souche bactérienne donnée. Il consiste essentiellement à exposer les cellules bactériennes au peroxyde d'hydrogène ; la présence de catalase se marque par la formation de bulles de gaz (oxygène). On transfère un peu de matériel bactérien au moyen d'une boucle, dans une goutte de peroxyde d'hydrogène déposée sur une lame. Avec cette technique, si le test est positif, les bulles en éclatant donnent naissance à un aérosol. (Fig.25) (Singleton P., 2005)

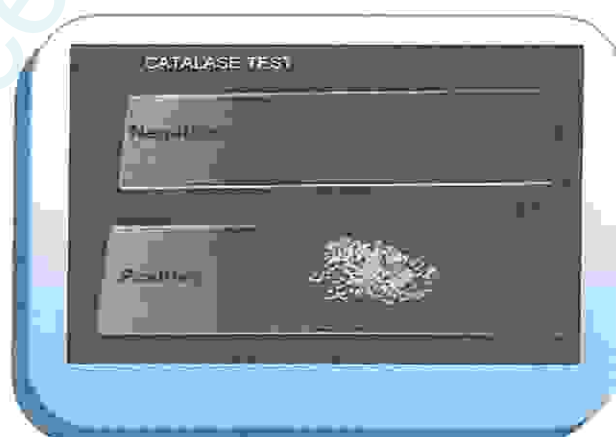


Figure 25 : Test de catalase



I-5-2-2-Le test d'oxydase :

Ce test détecte un type particulier de chaîne respiratoire, qui comporte en fin de chaîne peuvent oxyder des composés chimiques comme le réactif de l'oxydase (dihydro-chlorure de tétra méthyl-p-phénylènediamine 1%). Les électrons sont transférés de ce réactif développe une couleur violette intense.

Pour effectuer le test, on humecte une petite surface du disque d'oxydase et on y étale une petite quantité de matériel bactérien, au moyen d'une boucle de platine.

Les espèces *oxydase-positives* donnent une coloration *violette* immédiatement ou dans les 10 secondes. (Singleton P., 2005)

I-5-2-3-Le test de staphylocoagulase :(Fig.26)

Certaines souches « coagulase-positives » de staphylococcus produisent une ou le plus souvent deux protéines différentes appelées coagulases.

La coagulase libre (coagulase vraie, ou staphylocoagulase) est relâchée dans le milieu. Elle se détecte par sa capacité à coaguler (c'est-à-dire former un caillot) du plasma contenant un anticoagulant comme le citrate, l'oxalate ou l'héparine. L'anticoagulant est nécessaire parce que, sans lui le plasma coagulerait spontanément. Une version de test en tube consiste à ajouter dans un tube à essai, 0,5ml d'une culture liquide de 18 à 24 heures de la souche à tester à 1ml de plasma. Le tube est maintenu à 37°C et est examiné après 2, 3,4 et 24 heures, pour voir si un caillot s'est formé. La coagulase libre déclenche la conversion du fibrinogène du plasma en fibrine laquelle forme le caillot.

Les souches coagulase-positives qui produisent aussi une fibrinolysine (une enzyme qui lyse la fibrine) peuvent ne pas former de caillot ou lyser celui-ci tôt après sa formation d'où la nécessité d'examiner le tube fréquemment. (Singleton P., 2005)

I-5-2-4-Test de Mannitol : (Fig.27)

Le milieu mannitol mobilité se présente sous forme de gélose molle (4 g pour mille d'agar) contenant du mannitol, du rouge de phénol et des nitrates à 1 g/1000.

La présence de nitrate de potassium dans le milieu inhibe les enzymes responsables de dégagement gazeux.

- Le milieu est ensemencé par piqûre centrale unique, ce qui permet d'apprécier en plus de l'utilisation du mannitol, la mobilité du germe.

- **Lecture :**

- Si le milieu prend une coloration jaune : la bactérie est mannitol +.

- Si le milieu reste rouge : la bactérie est mannitol - .

- Si les bactéries sont mobiles, elles se disperseront à partir de la Piqûre d'ensemencement créant un trouble dans le milieu, si non la bactérie est mobilité.(Delarras C., 2007)

Remarque : Pour voir si les souches trouvées fermentent le mannitol en aérobiose ou en anaérobiose, on prépare pour chaque souche deux tubes contenant le milieu mannitol, avec et sans l'huile de vaseline



Figure 26 : Test de staphylocoagulase. [36]

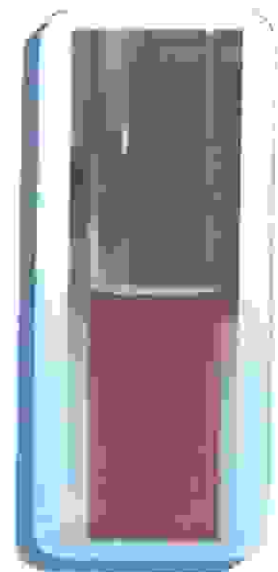


Figure 27 : Test de mannitol

I-5-2-5 La galerie Api 20E :

La galerie Api 20E est un système pour l'identification des Entérobactéries utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de Données. (Fig.28)

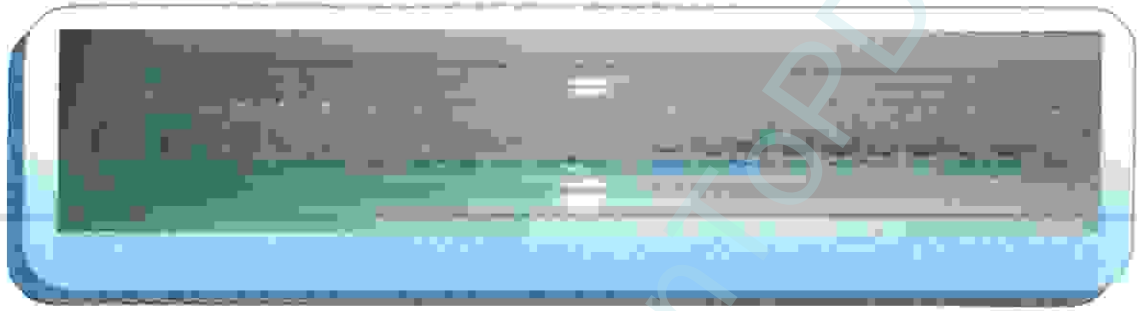


Figure 28 : La galerie Api 20 E.

-Principe :

La galerie API 20E comporte 20 micro -tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique Api 20 E.

-Mode opératoire : L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- ✓ Réunir fond et couvercle de la boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.
- ✓ **Préparation de l'inoculum :**
 - ▶ A partir d'une colonie jeune (18-24h) on réalise une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.



- ▶ L'ouverture de l'ampoule d'eau physiologie et mettre quelques colonies bactériennes à l'aide d'une pipette Pasteur.
- ✓ Remplir tubes et cupules des tests : CTI, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- ✓ Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des tests NO_3 à PNPG.
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests suivants : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules par l'huile de vaseline.
- ✓ Renfermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 18 à 24 heures.
(Fig.29) (Lassaoud K. et Touhami N., 2008)

-La lecture :

- Reporter sur la fiche d'identification tous les résultats spontanés.
- Vérifier si le test glucose est positif et /ou si trois tests ou plus sont positifs. Révéler les tests nécessitant l'addition ou l'ajout de réactifs.
- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Aucun virage de couleur n'indique une réaction négative.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacs, la non formation d'anneau rouge indique une réaction négative.
- Lire les résultats, réunir en un profil numérique de 07 chiffres et identifier à l'aide du catalogue API 20E. (voir annexe) (Lassaoud K. et Touhami N., 2008).

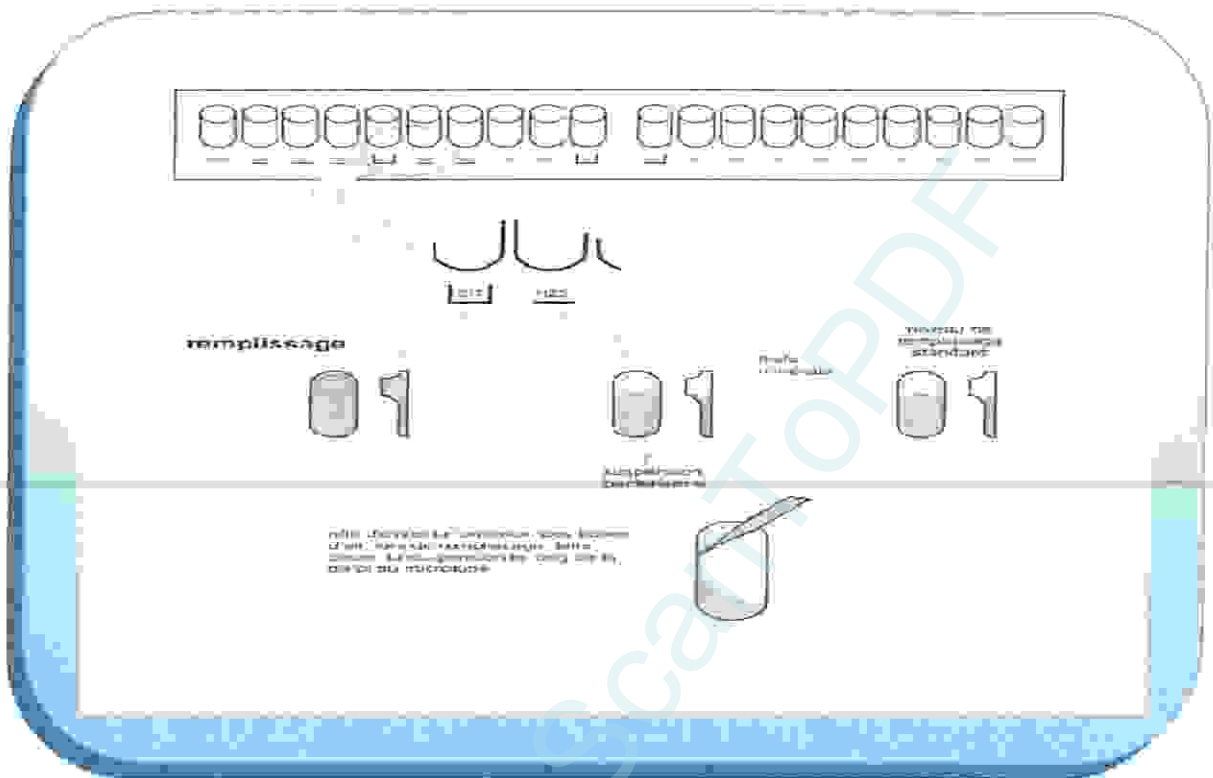


Figure 29 : Méthode de préparation de la galerie Api 20E.

I-5-2-6-Api Staph : (Fig.31)

Api Staph est un système standardisé, conçu dans les années 1980 permettant d'identifier :

- Vingt espèces et sous espèces de staphylocoques, dont quinze d'origine animale.
- La galerie API Staph est composée de 20 microtubes (surmontés de cupules) contenant des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 19 tests biochimiques appartenant au métabolisme respiratoire, glucidique et protéique des bactéries.
- La galerie est inoculée avec API Staph Médium. (voir annexe)
- Après incubation, lire les réactions en appliquant le tableau de lecture. (voir annexe)

(Delarras C., 2007)

✓ Préparation de l'inoculum :(Fig.30)

A partir d'une colonie jeune (18-24h) on réalise une suspension bactérienne dans l'*Apistaph* Medium

- La lecture a été faite à l'aide de la fiche biomérique.

Figure 31 : La galerie Appi Staph.

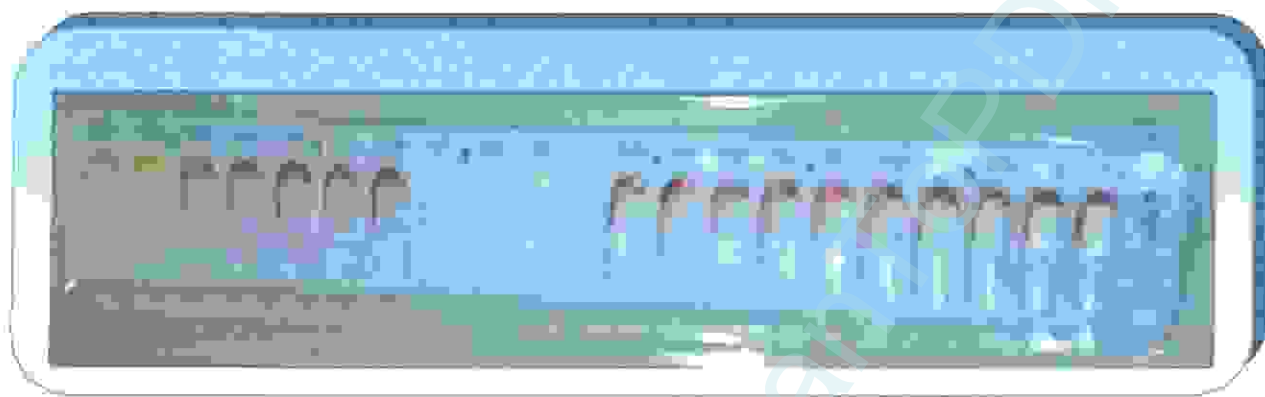
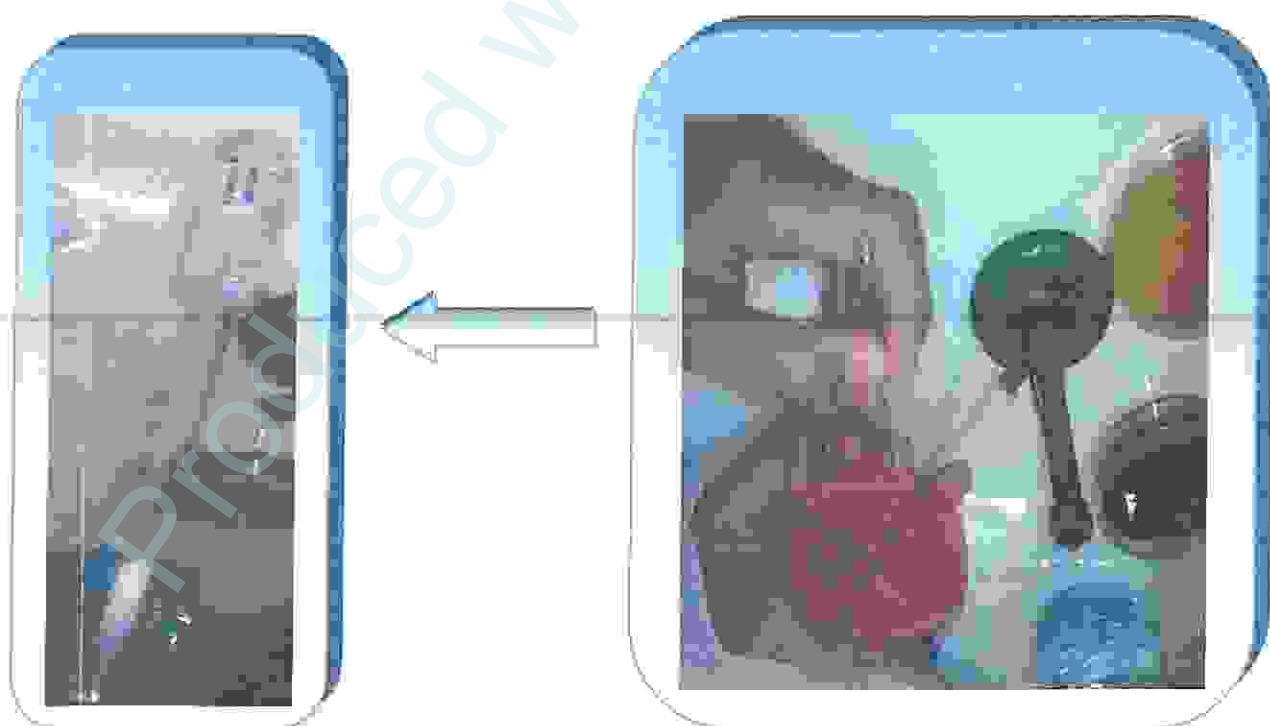


Figure 30: Préparation de l'inoculum des staphylocoques.



I-6- La détermination de la CMI (Concentration minimale inhibitrice) :

I-6-1-Définition de la CMI: C'est la plus faible concentration du produit qui inhibe totalement en 18 ou 24 heures la multiplication des microorganismes.

I-6-2-Mode opératoire :(Fig.32)

La détermination de la CMI est basée sur la mise en contact des microorganismes avec des concentrations croissantes du chlore (de 1 à 10 mg/l) d'une solution mère de 1g/l du chlore selon le protocole suivant :

- Préparation des dilutions de 1 à 10 mg/l de l'eau de javel. (voir annexe)
- Pour chaque germe on prépare :
 - Une série de 11 tubes : 1 tube témoin (sans eau de javel) et les autres tubes contenant des concentrations d'une eau de javel de 1 à 10 mg/l successivement.
 - Les tubes sont remplis avec 5 ml d'eau distillé stérilisée au paravent.
 - Après 5 minutes, on met dans chaque tube des séries 1 ml de l'inoculum après une légère agitation.
 - Les tubes sont laissés pour un temps de contact (5, 10, 20, 30 mn).
 - Onensemence par inondation dans des tubes contenant un milieu ordinaire incliné (GN).
 - Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture : on va suivre la présence des colonies dans les tubes jusqu'à le tube où il n'y a plus de pousser.



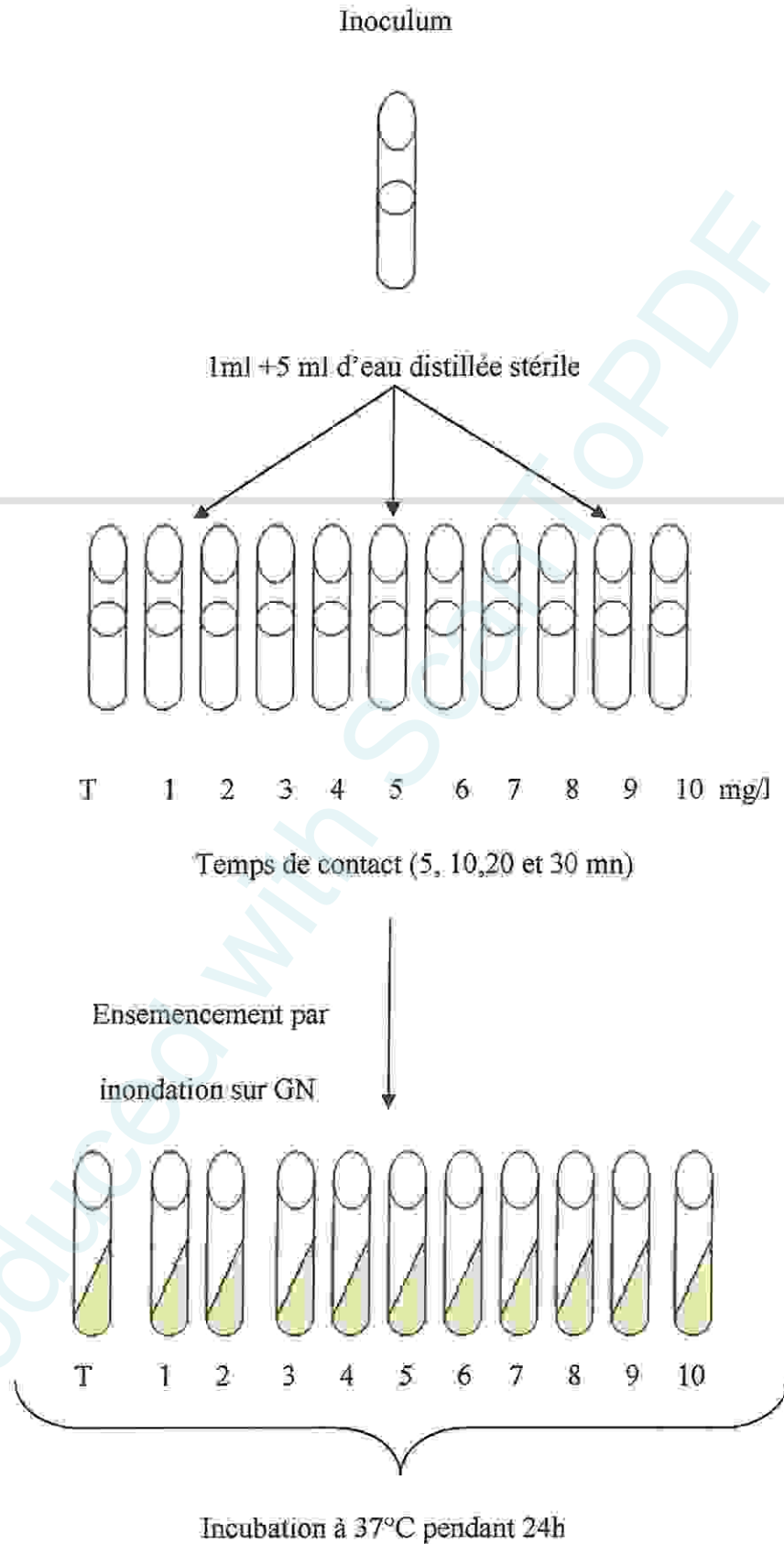


Figure 32 : Méthode de détermination de la CMI des souches isolées

II-Résultats et discussion :**II-1-Dosage du chlore :**

Le tableau ci-dessous représente les résultats de dosage du chlore résiduel dans les trois prélèvements.

Tableau IX : Le dosage du chlore résiduel.

Prélèvement	site	La dose du chlore
I	A	traces
	B	traces
II	A	traces
	B	traces
III	A	Traces
	B	0.25 mg/l

Site A : Résidence Belhasseb Omar, université 8 Mai 1945. Guelma.

Site B : Résidence Aggoun Salah, université 8 Mai 1945. Guelma.

II-2-Identification des bactéries isolées :**II-2-1-Observation macroscopique :**

Les observations macroscopiques des différentes souches isolées sur les milieux de culture sont représentées dans le tableau X :

Tableau X : Les observations macroscopiques.

prélèvement	site	Le milieu de culture	L'aspect macroscopique
Prélèvement I	A	Gélose nutritive	Des colonies lisses, dispersées, sous forme de chaînettes, de couleur blanche.
		Chapman	Des colonies lisses, muqueuses, rondes, de couleur blanche
	B	Gélose nutritive	Des colonies jaunes, régulières, des colonies blanches, de formes régulières.
		Chapman	Des colonies rondes, lisses, de couleur blanche.
Prélèvement II	A	Gélose nutritive	Des colonies blanches, rondes, régulières.
		Chapman	Des colonies blanches, régulières, muqueuses.
		Hektoen	Pas de croissance.
		Mac Conkey	Pas de croissance.
	B	Gélose nutritive	Des colonies blanches, régulières, des colonies jaunes bombées
		Chapman	Colonies muqueuses, bombées de couleur blanches. Colonies jaunes, régulières.
		Hektoen	Des colonies rigoureuses, irrégulières, de couleur verte
		Mac Conkey	Pas de croissance.

Suite tableau X : Les observations macroscopique.

prélèvement	site	Le milieu de culture	L'aspect macroscopique
Prélèvement III		Gélose nutritive	Des colonies jaunes bombées, des colonies blanches, régulières, rondes.
		Chapman	Des colonies plates, rondes, de couleur blanche.
	A		Colonies jaunes crémeuses.
			Colonies rondes bombées, de couleur blanches.
		Hektoen	Pas de croissance.
		Mac Conkey	Pas de croissance.
	B	Gélose nutritive	Des colonies bombées de couleur blanches.
		Chapman	Des colonies rondes, dispersées crémeuses.
		Hektoen	Colonies irrégulières, rigoureuses de couleur verte.
		Mac Conkey	Colonies irrégulières, bombées, de couleur blanches.

Figure 34 : L'observation macroscopique des bactéries sur le milieu Chapman



Figure 35 : L'observation macroscopique des bactéries sur le milieu GN



II-2-2-Observation microscopique :

L'observation microscopique comporte l'observation à l'état frais et une coloration de Gram.

Tableau XI : Observation microscopique.

	La souche	Observation à l'état frais	Coloration de gram
Les staphylocoques	Souche 1 (colonie blanche)	Cocci regroupé en amas immobile	Cocci à gram positif
	Souche 2 (colonie blanchemuqueuse)	Cocci sous forme de grains de raisin, immobile.	Cocci à gram positif
	Souche 3 (colonie jaunes)	Cocci immobile	Cocci à gram positif
Les entérobactéries	Souche H (milieu Hektoen)	Bacille	Bacille à gram négatif
	Souche M (Mac Conkey)	Bacille mobile	Bacille à gram négatif

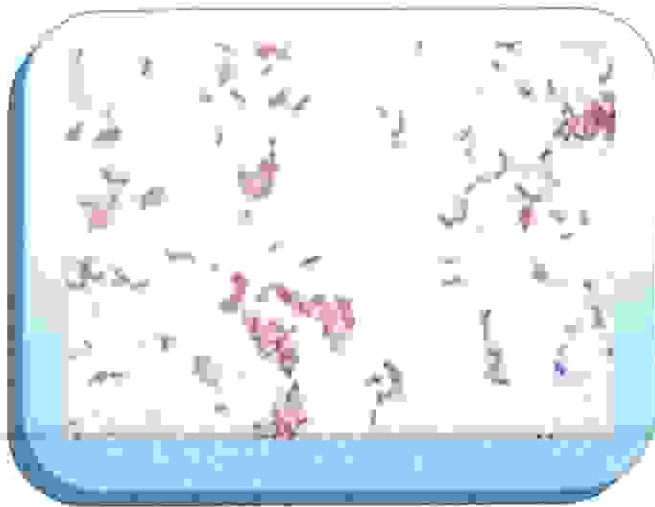


Figure 35 : Bacilles à Gram -

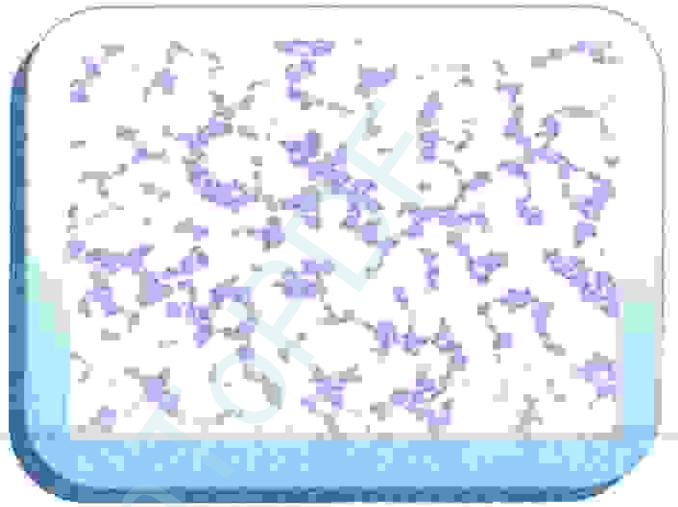


Figure 36 : Cocci à Gram +

II-2-3-Identification biochimique :

Les résultats de l'identification biochimique sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau XII : L'identification biochimique.

Les souches	Test mannitol mobilité		Catalase	coagulase	Oxydase
	aérobie	anaérobie			
Souche 01	+(O)	-	+	-	+
Souche 02	+(O)	-	+	-	+
Souche 03	+(O)	-	+	-	+
Souche 04	/	/	+	/	+
Souche 05	/	/	+	/	+

+ : Positif.

- : Négatif.

/ : Non réalisé.

O : oxydatif

Figure 40 : Test de catalase positif



Figure 39 : Test d'oxydase positif



Figure 38: Test de mannitol



Figure 37 : Test de coagulase négatif



II-2-3-1-L'Api 20E :

Le résultat du test Api 20E montré dans la figure ci-dessous correspond à la souche *Enterobacteriesp* isolée du milieu sélectif Hektoen.



Figure 41 : *Enterobacterie sp.*

Le résultat du test Api 20E montré dans la figure ci-dessous correspond à la souche *Aeromonashydrophila* isolée du milieu sélectif Mac Conkey.

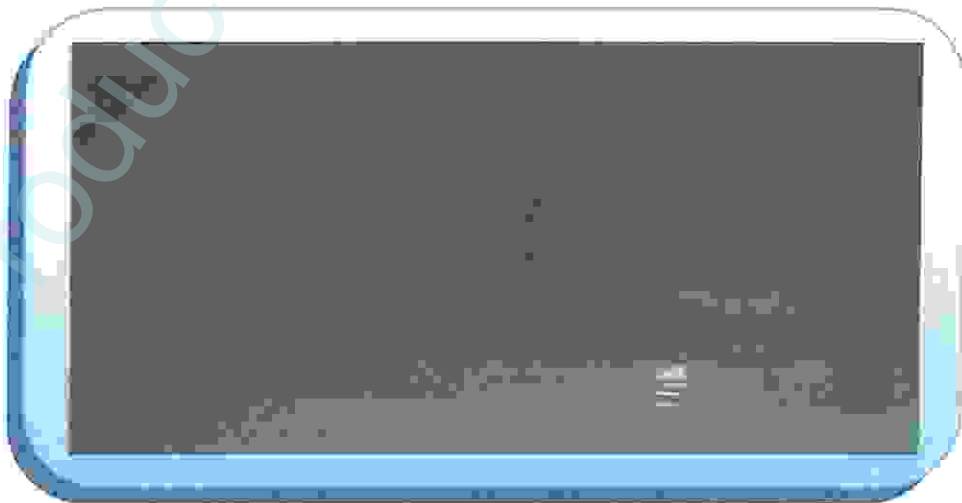


Figure 42: *Aeromonas hydrophila.*

II-2-3-2-L'Api Staph :

Le test Api Staph des souches staphylocoques S_1 , S_2 , S_3 donnant les résultats présentés dans les figures (43, 44, 45), qui correspondent par ordre aux souches : *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saprophyticus*.



Figure 43 : *Staphylococcus epidermidis*.

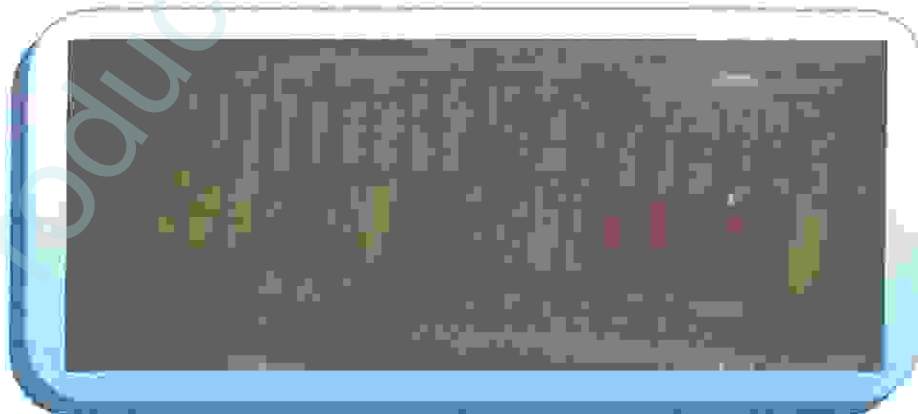


Figure 44: *Staphylococcus hominis*.



Figure 45 : *Staphylococcus saprophyticus*.

II-3-Détermination de la CMI :

Les résultats de la CMI des souches identifiées sont présentés dans l'histogramme suivant :

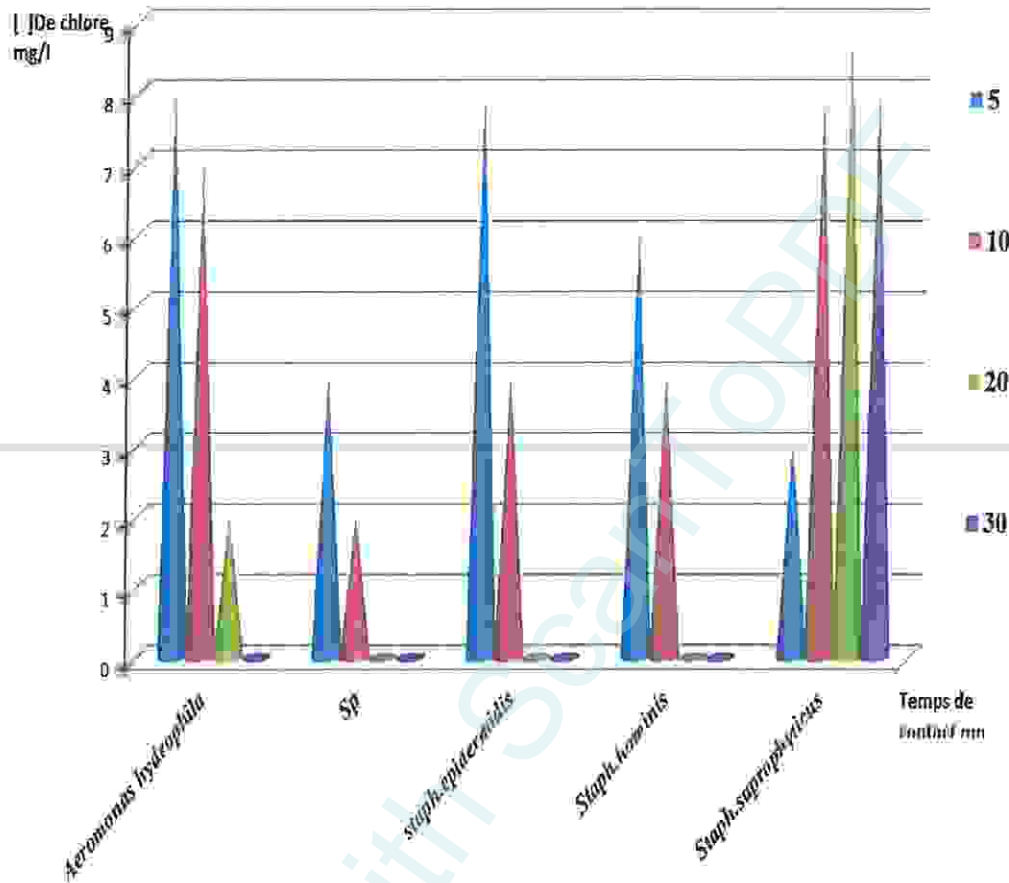


Figure 46 : La CMI des souches identifiées à des temps de contact de 5, 10, 20 et 30 min.

Les souches identifiées sont essentiellement des staphylocoques (cocci Gram +) : *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* et des entérobactéries (bacilles Gram -) : *Aéromonas hydrophila*, *Entérobactérie sp.*

✓ Selon [Meringa, 1985, Smith et al., 1990] : Parmi les espèces microbiennes identifiées dans les canalisations d'eau potable, les bactéries à Gram- semblent prédominer.

On note des bactéries (*Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Flavobacterium*, *Acintobacter*, *Aeromonas*, *Legionella*, certains coliformes, mycobactéries atypiques, *Aquabacterium*).

- ✓ Selon [Le chevalier et al, 1987.Le chevalier, 1990], les espèces bactériennes mises en évidence sont :
- ❖ Dans l'eau distribuée : *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas maltophila*, *Pseudomonas diminuta*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Flavobacterium* sp., *Acinetobacter* sp., *Moraxella* sp., *Arthrobacter* sp., *Micrococcus* sp.
- ❖ Dans le biofilm : *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas picketti*, *Pseudomonas stutzeri*, *Flavobacterium* sp., *Alcaligenes* sp., *Acinetobacter* sp., *Moraxella* sp., *Agrobacterium radiobacter*, *Arthrobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Bacillus* sp., *Enterobacter agglomerans*.

D'après nos résultats, les souches identifiées ne sont pas pathogènes par ingestion. Cependant, les staphylocoques obtenues sont regroupées sous le terme de staphylocoques à coagulase négative et se sont potentiellement pathogènes essentiellement dans certaines circonstances : **implantation de corps étrangers** (prothèses osseuses ou cardiaques, sondes, cathéters,...) et/ou **déficit immunitaire** (SIDA, radiothérapie, chimiothérapie, prématurité) dont la virulence pour l'homme est bien moindre que celle de *Staphylococcus aureus*, se comportent souvent comme des bactéries opportunistes (septicémies sur matériel étranger, notamment sur cathéter).

Bien que *S. epidermidis* soit habituellement non pathogène, c'est une cause importante d'infections chez les patients dont le système immunitaire est compromis ou des patients qui ont des cathéters, des prothèses. Ce microbe est responsable d'infections cutanées, d'infections nasales comme des sinusites, d'infections urinaires chez la femme et l'homme. Ces bactéries ont la capacité de produire des biofilms.

Alors que *Staphylococcus saprophyticus* est une bactérie pouvant être responsable d'infection urinaire et des cystites chez les jeunes femmes. [36]

Depuis quelques années, le secteur de la santé publique reconnaît *A. hydrophila* comme un agent pathogène opportuniste; on l'a incriminé comme agent pathogène

possible de la gastro-entérite, de la septicémie, et de la méningite, et on l'isole souvent dans des infections de plaies subies en milieu aquatique (Krovacek et coll., 1992; Gavriel et coll., 1998). On l'a aussi incriminé récemment dans des infections respiratoires (Janda et Abbott, 1998).

Parmi la flore bactérienne introduite dans les réseaux de distribution, des micro-organismes pathogènes ou potentiellement pathogènes peuvent être détectés sous forme de spores principalement, tels que *Legionella*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholera*, *Shigella* sp, *Helicobacter pylori* peuvent également être présents au sein des réseaux de distribution. L'exposition à une eau du robinet contaminée se produit essentiellement par ingestion. Le contact avec la peau ou l'inhalation (tout particulièrement lors de douches) sont aussi des voies de pénétration possibles.

- La CMI de la souche *Aéromonas hydrophila* diminue en fonction du temps de 8 mg/l jusqu'à 2 mg/l dans un intervalle de temps de 5-20 mn.
 - La CMI de la souche sp diminue aussi dans ce cas mais d'une valeur de 4mg/l dans temps de contact 5mn puis 2mg/l à 10 mn. Jusqu'à un temps de 20mn ou la croissance bactérienne est inhibée.
 - La CMI de *Staphylococcus epidermidis*, ici est plus grande, elle est plus que 10mg/l dans un temps de contact de 5mn mais elle chute à 2 mg/l après 10mn de contact.
 - Pour *Staphylococcus hominis*, la CMI diminue en fonction du temps, elle est de 6 mg/l à un temps de contact de 5 min et 4mg/l à 10 min mais elle ne varie pas même avec un temps de contact de 20mn.
 - *Staphylococcus saprophyticus* est très résistante, la CMI est varié entre 9 et 8mg/l mais elle persiste avec la concentration de 8mg/l même avec un temps de contact de 30mn qui est normalement un temps suffisant pour inhiber la croissance bactérienne.
- Les résultats nous montre que la CMI des bactéries présentes dans le réseau de distribution (les canalisations) arrive jusqu'à 8mg/l par rapport au CMI (1mg/l) des bactéries trouvées dans la station (Haddad, 2010). Ce phénomène est lié au contact de ces bactéries avec des concentrations insuffisantes pour tuer les bactéries et plus en plus

élevée dans les réservoirs de distribution. Ça nous montre que les bactéries ont la capacité d'adaptation rapide.

- Comme les travaux de (Hadded, 2010), les Staphylocoques présentent toujours une résistance plus que les bactéries gram négatif trouvées et testées.
- L'augmentation du temps de contact semble insuffisante pour diminuer la CMI à la norme. C'est pour cela, il faut chercher d'autres solutions pour au moins diminuer la CMI.
- Sur la base de l'ensemble de ces observations, il s'avère que le chlore comme désinfectant devient faible contre les bactéries présentes dans les canalisations qui peuvent être provenues de biofilms. Pour résoudre ce problème, d'après Jean-luc et al, ont montrés que la chloramine, un composé combiné de chlore est beaucoup plus stable que le chlore et plus efficace pour lutter contre les biomasses fixées grâce à une meilleure pénétration au biofilm.
- C'est pour cela, il est conseillé de traiter les canalisations par la chloramine pour éliminer les biofilms.



Conclusion

Produced with ScantOPDF

Conclusion :

En effet, l'utilisation de désinfectants, aux concentrations habituellement rencontrées, ne permet en aucun cas l'inhibition totale de la prolifération bactérienne. La croissance bactérienne en réseau n'est donc que faiblement limitée par l'action d'oxydants, ces derniers réagissent avec les composés organiques et la paroi interne de canalisations.

A partir de nos résultats, nous avons identifié des souches bactériennes auxquelles nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice des souches : *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Aéromonas hydrophila*, entérobactérie sp.

L'idée d'une eau potable, distribuée dans les réseaux, biologiquement stable, c'est à dire pour laquelle la croissance bactérienne, la consommation de matière organique biodégradable et la prédation ne sont pas significatives, et donc à remettre en question.

Il est aujourd'hui démontré que les microorganismes existants dans l'eau potable mettent en jeu un ensemble complexe de mécanismes de résistance au stress oxydant en général et aux produits chlorés utilisés en particulier.

La situation n'est pas dramatique, mais elle interpelle acteurs privés et pouvoirs publics pour souhaiter maîtriser complètement la qualité microbiologique des eaux potable et délivrer en toute sécurité une eau sans risque. Cette démarche passe à la fois par une évaluation objective des risques microbiologiques, par l'emploi de nouveaux produits, mais aussi par une utilisation différente des anciens produits traditionnels.

Il convient donc de combiner plusieurs actions complémentaires :

- ❖ Limiter la quantité de matière organique biodégradable capable de soutenir la croissance des bactéries hétérotrophes.
- ❖ Corriger les paramètres induisant une corrosion des matériaux ferreux.
- ❖ Fixer la dose efficace du désinfectant sans modifier exagérément le goût ou l'odeur de l'eau.
- ❖ Changer complètement le réseau des canalisations afin d'éviter le problème du biofilms et puisque cette opération est très coûteuse il est important au moins de nettoyer les canalisations.

Les références bibliographiques :

- **Alice de Chalvet de Rochmonteix, 2009.** Les biofilms et la peau. Thèse pour le Doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 147 pages.
- **Anonyme, 1998.** Mémento technique de l'eau, Tome2, 9^{ème} édition du cinquantenaire. Paris : Lavoisier, 1459 pages.
- **Benjama Esma, 2007.** Analyse microbiologique de l'eau potable du réseau de distribution et étude de la résistance aux ATB de certaines souches bactériennes (cas de la ville d'Annaba). Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en microbiologie, option : Microbiologie de l'eau. Université : Badji Mokhtar, Annaba, 172 pages.
- **Berthiaum Christin, 2010.** Caractérisation du biofilm en lien avec la dégradation des acides humiques dans un réseau de distribution d'eau potable. Mémoire pour l'obtention du grade de Maître des sciences. Université LAVAL : Québec, 82 pages.
- **Boubidi Wassila, Fardjallah Selwa et Saaidia Nabila, 2007.** Traitement et critères de potabilité de l'eau (les normes). Mémoire d'ingénieur d'état en génie-biologique. Université 8 Mai 1945, Guelma, 53 pages.
- **Boudjellab Zine Eddine, 2009.** Etude microbiologique, physico-chimique et organoleptique de l'eau potable de la région d'Annaba. Mémoire de magister en microbiologie appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba, 182 pages.
- **Burin des Rozières Marc, Patrice, Claude, Marie, 2002.** Les biofilms. Thèse pour le Doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 79 pages.
- **Cardot Claude, 1999.** Les traitements de l'eau. Paris : Ellipses, 247 pages.
- **Champiat Dominique et Larpent Jean-Paul, 1988.** Biologie des eaux : méthodes et techniques. Paris : Masson, 374 pages.
- **Delarras Camille, 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire. Paris : Technique et documentation-Lavoisier, 476 pages.

- Desjardins Raymond, 1997.** Le traitement des eaux, 2^{ème} édition. Canada : Presses internationales polytechnique, 304pages.
- Gauthier Fanny, 2002.** Biofilms et qualité biologique de l'eau potable au cours de sa distribution. Mémoire de DESS en qualité et gestion de l'eau. Université de Picardie-Amiens, 69 pages.
- Haddad Soumia, Reghis Fatima et Samsar Zineb, 2010.** Chloration des eaux potables et émergence des bactéries résistantes au chlore. Mémoire de Master en biologie moléculaire et cellulaire, option : Biologie moléculaire des procaryotes. Université 08 Mai 1945, Guelma, 73 pages.
- Haslay C. et Leclerc H., 1993.** Microbiologie des eaux d'alimentation. Paris : Lavoisier, 495pages.
- Karaali Ryma, Khettal Meriem et Reggam Rawiya, 2009.** Etude comparative de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées avant et après épuration : Cas de la station d'épuration de la ville de Guelma (Nord-est Algérien). Mémoire d'ingénieur d'état en génie-biologique. Université 8 Mai 1945, Guelma, 110pages.
- Kettab A., 1992.** Traitement des eaux, les eaux potables. Alger : Office de publications universitaires. 151pages.
- Khallel Messaouda, 2004.** Evaluation de l'activité mutagène et gétoxique des eaux potables traitées par le chlore (station Chaiba : ville d'Annaba) Mémoire pour l'obtention de Magister en microbiologie appliqué, option : Microbiologie de l'environnement. Université Badji Mokhtar, Annaba, 87 pages.
- Lassaoud Khdidja et Touhami Nadia, 2008.** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau du Barrage de Hammam Debagh. Mémoire d'ingénieur d'état en génie-biologique. Université 8 Mai 1945, Guelma, 42 pages.
- Marcel Doré, 1989.** Chimie des oxydants et traitement des eaux. Paris : Technique et documentation-Lavoisier, 505pages.
- Massicot Richard, 2009.** Désinfectants et désinfection en hygiène et salubrité : principes fondamentaux. Québec : Santé et services sociaux, 73 pages.

- **Mayet Jacques, 1994.** La pratique de l'eau, 2^{ème} édition. Paris : Le moniteur, 382 pages.
 - Mirad Blondie, 2004.** La consommation et les usages domestiques de l'eau dans les pays-Cœur-Entre-Deux-Mers. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'ingénieur Maitre (I.U.P.3). Université Michel de Montaigne (Bordeaux III) ,60 pages.
 - Paquin J.L., Block J.C., Haudidier K., Hartemann P., Colin F., Miazga J. et Levis Y., 1992.** Effet du chlore sur la colonisation bactérienne d'un réseau expérimental de distribution d'eau. Revue des sciences de l'eau. 5, p 399-414.
-
- Prescott Lansing M., Harley John P. et Klein Donald A., 2003.** Microbiologie, 2^{ème} édition. Paris: De Boeck, 1137 pages.
 - Rodier Jean, 1984.** L'analyse de l'eau, 7^{ème} édition. Paris : Dunod, 1365 pages.
 - Singleton Paul, 2005.** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6^{ème} édition Paris : Dunod, 542 pages
 - Vilaginés Roland, 2003.** Eau, environnement et santé publique, 2^{ème} édition. Paris : Lavoisier, 994 pages.
 - Zerluth Josef et Michael, 2006.** L'eau et ses secrets. Paris : Des Iris, 223 pages.

1- Les sites d'internet :

- 1- [http : //www.eaurmc. fr / juniors / cahiers-pédagogiques/cycle-eau.php](http://www.eaurmc.fr/juniors/cahiers-pedagogiques/cycle-eau.php) (consulté le 14/03/2011)
- 2-[http://www.orieau.fr/ReFEA/module 2b .html](http://www.orieau.fr/ReFEA/module%202b.html) (consulté le 14/03/2011)
- 3-
[http //www.observationenvironnement.org/tbespip.php?page=notions&id_outil=5&rubrique=15&id_article=](http://www.observationenvironnement.org/tbespip.php?page=notions&id_outil=5&rubrique=15&id_article=) (consulté le 14/03/2011)
- 4- [http:// christian.coudre.pagesperso-orange.fr/pedago-repar.html](http://christian.coudre.pagesperso-orange.fr/pedago-repar.html) (consulté le 14 /03/2011)

- 5-<http://www.ec.gc.ca/eau-water/default.asp?lang=Fr&n=C6A005A2-1>(consulté le 15/03/2011)
- 6-<http://fr.wikipedia.org/wiki/Eau> (consulté le 07/03/2011)
- 7-<http://www.ecoconso.be/l-eau-de-distribution-origine> (consulté le 14/03/2011)
- 8-<http://fr.move-eat.be/page.php?myfiche=5447> (consulté le 14/03/2011)
- 9- <http://www.ode38.fr/11024-eaux-souterraines.htm> (consulté le 14/03/2011)
-
- 10 -<http://www.sololiya.fr/tout sur l eau et quotidien/activites humaines/les usages de leau/2 leau potable> (consulté le 14/03/2011)
- 11-<http://www.vedura.fr/environnement/eau/consommation-eau> (consulté le 14/03/2011)
- 12- <http://www.suez-environnement.fr/fr/activites/l-eau/gestion-de-l-eau/les-usages-de-l-eau/les-usages-de-l-eau/> (consulté le 15/03/2011)
- 13-<http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/usages/consoIndus.html> (consulté le 15/03/2011)
- 14-<http://www.veoliaeau.com-solutions/eau-potable/traitement> (consulté le 01/03/2011).
- 15-http://f.feldis.pagesperso-orange.fr/page%20prem/doc_pdf/1L/eau/criteres%20potabilite.pdf (consulté le 02/03/2011).
- 16- http://www.courdeau.com/junior_4/dossiers/eau potable-criteres.html (consulté le 10/03/2011).
- 17-<http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/198-cartable Eau/Personnes Vuln> (consulté le 08/05/2011).
- 18-<http://www.futura-sciences.com/fr/question-reponse/t/eau/d/quelles-sont-les-etapes-du-traitement-de-l'eau-potable-1124/> (consulté le 04/04/2011).

- 19- <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/potable/trai/Eau.html> (consulté le 15/04/2011).
- 20- http://www.google.com/#sclient=psy&hl=fr&biw=1366&bih=605&source=hp&q=les+etapes+de+traitement+de+l%27eau+potable+ppt&aq=&aqi=&aql=&oq=&pbx=1&bav=on_2,or_r_gc_r_pw.&fp=e5c9169801287b94 (consulté le 07/04/2011)
- 21- <http://www.safewater.org/PDF/knowthefacts/frenchfactsheets/chloration.pdf>. (consulté le 15/04/2011).
- 22- http://www.prominent.fr/desktopdefault.aspx/tabid-979/125_read-7816/ (consulté le 15/04/2011).
- 23- <http://hydroland.pagesperso-orange.fr/Désinfectant.htm> (consulté le 04/04/2011)
- 24- <http://www.lenntech.fr/francais/desinfection/qu-est-ce-que-la-desinfection-eau.htm> (consulté le 06/04/2011)
- 25- <http://fr.wikipedia.org/wiki/D%C3%99sinfectant> (consulté le 08/04/2011).
- 26- <http://www.conso.org/pdf/chloreeteau.pdf> (consulté le 01/03/2011).
- 27- http://www.remed.org/eau_de_javel.pdf (consulté le 01/03/2011).
- 28- <http://hmf.ensee.ht.fr/travaux/CDO304/optsee/bei/5/binome5/genechlo.htm> (consulté le 15/03/2011).
- 29- http://www.pseau.org/outils/ouvrages/cahier10_chloration.pdf (consulté le 21/04/2011).
- 30- http://www.eaudejavel.fr/pages/eau/documents/Partie2-Generalites_pages2à9.pdf (consulté le 21/04/2011).
- 31- <http://www.4.agr.gc.ca/AAFC-AAC/display-afficher.do?id=1236097753569&lang=fra> (consulté le 08/03/2011)
- 32- <http://www.eau-seine-normandie.fr/fileadmin/mediatheque/bocage-normands/pdf/traitement%20des%20eaux%20et%20consommation.pdf> (consulté le 22/04/2011)

- 33-<http://les-antibiotiques-la-penicilline.e-mensite.com/rubrique/ii-le-fonctionnement.158500.html> (consulté le 09/05/2011)
- 34-<http://www.la-recherche.fr/content/recherche/article?id=9988> (consulté le 16/05/2011)
- 35-<http://amgar.blog.processalimentaire.com/?p=15203> (consulté le 15/05/2011)
- 36-<http://www.toxic-shock.com/overview.htm> (consulté le 06/06/2011)
- 37-<http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html#tubes> (consulté le 20/05/2011)
- 38-<http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p62/cours1bio63.pdf> (consulté le 20/05/2011)
-
- 39-http://www.fndae.fr/documentation/PDF/fndaens_12_bis.pdf (consulté le 15/05/2011)

Produced with Scantopdf

Tableau I : Normes de potabilité d'eaux pour la consommation humaine (OMS).
Tableau II : Différentes formes de chlore en solution dans l'eau.
Tableau III : Différentes formes de chlore en solution dans l'eau.
Composition des milieux de culture.
Tableau IV : Tableau de lecture (Api 20E).
Tableau V : Tableau de lecture (Api Staph).
Composition du médium de l'Api staph
Préparation de la solution mère du chlore

Produced with ScanTopDF

Tableau I : Normes de potabilité d'eaux pour la consommation humaine (OMS).

Analyses bactériologiques	Coliformes totaux	0
	Coliformes fécaux ou Escherichia coli	0
	Streptocoques fécaux	0
	Clostridium Sulfitoréducteurs	0
	Staphylocoques	0
	Salmonelles	0
Analyses chimiques	Turbidité	< à 15 gouttes de mastic
	pH	entre 6,5 et 9,5
	Titre hydrotimétrique ou dureté	maximum 30° (valeur conseillée : < à 15°)
	Ammoniaque	< à 0,5 mg/litre
	Nitrites	< à 0,1 mg/litre
	Nitrates	< à 50 mg/litre
	Fer	< à 0,2 mg/litre
	Chlorures	< à 250 mg/litre
Sulfate	< à 250 mg/litre	

Tableau II : Différentes formes de chlore en solution dans l'eau.

Chlore	Composition	Formule	Activité
Chlore libre	Chlore élémentaire	Cl ₂	+++
	Acide hypochloreux	HClO	(maximale)
Chlore libre	Chlore élémentaire	Cl ₂	++
	Acide hypochloreux	HClO	(suivant teneur en HClO)
	Hypochlorites	ClO ⁻	
Chlore combiné	Monochloramine	NH ₂ Cl	+
	Dichloramine	NHCl ₂	(faible)
	Trichloramine	NCl ₃	
Chlore total	Chlore élémentaire	Cl ₂	++
	Acide hypochloreux	HClO	(suivant teneur en HClO)
	Hypochlorites	ClO ⁻	

Tableau III : Différentes formes de chlore en solution dans l'eau.

Microorganismes	Maladies	Symptômes cliniques	Persistance dans l'eau	Résistance au chlore
<p>Virus</p> <ul style="list-style-type: none"> -Hépatite A -Virus de l'hépatite E -Norovirus et Sapovirus -Entérovirus -Adénovirus (serotype 40-41) -Autres virus entériques 	<ul style="list-style-type: none"> Hépatite virale Hépatite virale Gastroentérite Variés dont poliomyélite Gastroentérites 	<ul style="list-style-type: none"> Hépatite Hépatite Diarrhées, vomissement Variés 	<ul style="list-style-type: none"> > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois 	<ul style="list-style-type: none"> Modérée Modérée Modérée Modérée Modérée
<p>Bactéries</p> <ul style="list-style-type: none"> -<i>Vibrio cholerae</i> -<i>Salmonella</i> spp. -<i>Salmonella typhi</i> -<i>Shigella</i> spp. -<i>Campylobacter</i> spp. -<i>Legionella</i> -<i>E. coli</i> entérotoxigène -<i>A. salmonicida</i> hémorragique -<i>Yersinia</i> spp. -<i>Francisella tularensis</i> -<i>Helicobacter pylori</i> -<i>Mycobacterias</i> spp. (sauf <i>M. tuberculosis</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Choléra Salmonellose Fièvre typhoïde Shigellose (dysenterie bacillaire) Campylobactériose et fièvre de Pontiac Legionellose Yersiniose Tularémie Variés Cancer gastrique 	<ul style="list-style-type: none"> Large spectre de diarrhée. Diarrhées et Fièvre Fièvre, douleur abdominale et mortalité Diarrhées avec perte de sang Diarrhées avec perte de sang Diarrhées liquide Diarrhées avec perte de sang Fièvre, diarrhées et douleur abdominale Lésions purulentes ou mucocufannées avec symptômes de typhoïde Lésions multiples (respiratoire, peau, etc.) 	<ul style="list-style-type: none"> > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois Non établi Non établi Possibilité de multiplication 	<ul style="list-style-type: none"> Faible Faible Faible Faible Faible Faible Faible Faible Faible Faible Non établi Non établi Élevée
<p>Parasites</p> <ul style="list-style-type: none"> -<i>Schistosoma</i> spp. -<i>Dracunculus medinensis</i> -<i>Giardia duodenalis</i> -<i>Cryptosporidium parvum</i> -<i>Cyclospora cayentanensis</i> -<i>Entamoeba histolytica</i> -<i>Toxoplasma gondii</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Schistosomiase Dracunculiasis Giardiase Cryptosporidiose Cyclosporiase Ambiase Toxoplasmose 	<ul style="list-style-type: none"> Infection urinaire, cancer de la vessie Ulcères Diarrhées et douleurs abdominales Diarrhées prolongées Diarrhées et douleurs abdominales Diarrhées Fièvre glandulaire, mortalité du fœtus 	<ul style="list-style-type: none"> > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois > 1 mois 	<ul style="list-style-type: none"> Modérée Modérée Élevée Élevée Élevée Élevée Élevée

❖ Composition des milieux de culture :

➤ GN :

La composition chimique de ce milieu de culture en g/l d'eau distillé est :

- peptone 5
- Extrait de viande 1
- Extrait de levures 2
- chlorure de sodium 5
- Agar 15

pH final 7,4± 0.2 à 25 C

➤ **Gélose chapman :**

La formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifiée est :

-Extrait de viande (bovin ou porcine).....	1
-peptone de caseine et de viande (bovin ou porcine).....	10
-Chlorure de sodium	75
-D-Mannitol	10
-Agar	15
-Rouge de phénol.....	0.025

pH 7,4

➤ **la gélose Mac Conkey :**

La formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifiée est :

Peptone de gélatine (bovin ou porcine).....	17g
Peptone de viande (bovin ou porcine).....	3g
Lactose (bovin).....	10g
Sels biliaires (ovin ou bovin).....	1,5g
Chlorure de Sodium.....	5g
Agar.....	13,5g
Rouge neutre.....	0,03g
Cristal violet.....	0,01g

pH 7,1

➤ **Hektoen :**

La formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifiée est :

Peptone de viande (bovin ou porcine).....	12g
Extrait de levure.....	3g
Sels biliaires (bovin ou ovin).....	9g
Lactose (bovin).....	12g
Saccharose.....	12g
Salicine.....	2g
Chlorure de Sodium.....	5g
Hyposulfite.....	5g
Citrate de Fer ammoniacal.....	1,5g
Bleu de bromothymol.....	0,064g
Fuchsine acide.....	0,040g
Agar.....	13,5g

pH7,6

➤ TGEA (gélosetryptone-glucose-extrait de levure) :

Tryptone.....	5g
Glucose.....	1g
Extrait de levure.....	2, 5g
Gélose.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH = 7

Tableau IV : Tableau de lecture (Api 20E).

Tests	Composants Actifs	Réactions/Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-Nitrophényl-BD-galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine déshydrolyase	Jaune	Rouge/Orange
LCD	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/Orange
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/Orange
CIT	Trisodium citrate	Citrate per méase	Vert Pale/Jaune	Bleu-vert
H ₂ S	Sodium thiosulfate	Production d'H ₂ S	Incolore	Dépôt noir
URE	Urée	Urease	Jaune	Rouge/Orange
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/Immédiat	
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Jaune	Marron-rougeâtre
			Kovac/Immédiat	
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	Incolore	Rose
			VP1+VP2/10min	
GEL	Gélatine	Gélatinase	Incolore	Rose/rouge
			Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/Oxydation glucose	Bleu/Bleu vert	Jaune/Jaune gris
MAN	D-mannitol	Fermentation/Oxydation mannitol	Bleu/Bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/Oxydation Inositol	Bleu/Bleu vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/Oxydation sorbitol	Bleu/Bleu vert	Jaune
RAH	L-rhamnose	Fermentation/ Oxydation rhamnose	Bleu/Bleu vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/Oxydation saccharose	Bleu/Bleu vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/Oxydation melibiose	Bleu/Bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/Oxydation Amygdaline	Bleu/Bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/Oxydation arabinose	Bleu/Bleu vert	Jaune

Tableau V : Tableau de lecture (Api Staph).

Tests	Composants Actifs Réactions/Enzymes	Résultats	
		Négatif	Positif
0	Aucun (témoin négatif)	Rouge	-
GLU	D-glucose (témoin positif) ³	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose ³		
MNE	D-mannose ³		
MAL	D-maltose ³		
LAC	D-lactose(bovin) ³		
TRE	D-tréhalose ³		
MAN	D-mannitol ³		
XLT	Xylitol ³		
MEL	D-mélibiose		
NIT ¹	Nitrate de potassium (réduction des nitrates en nitrites)		
PAL ¹	B-naphtyl phosphate (phosphatase alcaline)	Jaune	Violet
VP ¹	Pyruvate de sodium (production d'acétoïne-Voges Proskauer)	Incolore à rose pâle	Violet à rose
RAF	D-raffinose ³	Rouge	Jaune
XYL	D-xylose ³		
SAC	D-saccharose ³		
MDG	Méthyl-αD-glucopyranoside		
NAG	N-acétyl-glucosamine		
ADH ²	L-arginine (arginine dihydrolase)	Jaune	Orange à rouge
URE ²	Urée(uréase)	Jaune	Rouge à violet

1. Ajout de réactifs pour la lecture de ces tests.

2. En anaérobiose, avec huile de paraffine dans la cupule.

3. Réaction d'acidification pour utilisation des sucres

❖ **Composition du medium de l'Api staph :**

La galerie *Api staph* est inoculée avec *Api staph* Medium, milieu de culture dont la composition chimique de 1000ml d'eau minéralisée est la suivante :

Extrait de levure.....	0,5
Bactopeptone(origine bovin/porcine).....	10
NaCl.....	5
Oligo- éléments.....	10ml

Ph = 7,0-7,2 à 25°C

Ce milieu est disponible en ampoule de 7ml

❖ Préparation de la solution mère du chlore :

$$\begin{array}{l}
 1^{\circ} \longrightarrow 3,17\text{g} \\
 12^{\circ} \longrightarrow X \text{ g}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1^{\circ} \\ 12^{\circ} \end{array}} \right\} X = 3,17 \times 12 / 1$$

$$V_1 = 1\text{ml} \quad C_1 = 3,17\text{g/ml}$$

$$C_2 = [\text{chlore actif}]$$

$$V_2 = V_1 \times C_1 / C_2$$

Produced with ScanTOPDF