

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement supérieur Et de la recherche scientifique

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA

FACULTE DES SCIENCES ET DE L'INGENIERIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



570 150

10/13/00

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire
Option : Biologie Moléculaire des Procaryotes

**Thème: Etude microbiologique et physico-chimique de l'eau
rejetée par la station d'épuration de la ville de Guelma.**

Présentée par :

BESKRI SIHEM

BECHKOURA HADJER

KHAZNADJI ASMA

Membre de jury :

Président : ROUIBI A. (C.C.)

Université de Guelma

Examineur : DJEKOUNE M. (C.C.)

Université de Guelma

Encadreur : HOUHAMDI M. (Pr.)

Université de Guelma

Juin 2010

Remerciements

Nous remercions Allah, le bon Dieu miséricordieux de nous avoir aidé à réaliser ce travail.

On tient à remercier nos très chers parents pour toutes leurs prières et leurs encouragements.

*Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Monsieur **ROUIBI A.**, chargé de cours à l'Universitaire de Guelma, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nos reconnaissances, nos vives gratitude et nos sincères remerciements vont aussi à Monsieur **HOULAMDI M.**, Professeur au département de Biologie pour nos avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Ses orientations, ses encouragements, sa disponibilité constante nous ont été d'une précieuse aide.*

*Nous tenons à remercier aussi Monsieur **Djekoune M.**, chargé de cours au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury.*

*On remercie également Monsieur **Seyf eddine MERZOUG**, Magister en biologie au département de Biologie Guelma, pour son aide et son appui.*

*On ne manquerait pas de remercier très vivement M^{lle} **KARA ALI Rym**, de la station d'épuration Guelma, qui a collaborer et aidé a la réalisation des prélèvements.*

*On ne saure oublier de remercier M^{me} **ALIWA Samira**, de l'hôpital Ibn Zohr pour son aide matériel.*

Enfin, nous exprimons nos vives et profondes reconnaissances à tous ceux qu'on a oublié de citer et qui de près ou de loin se sont associés pour l'élaboration de ce travail.

Liste des abréviations

BCPL : bouillon lactosé au pourpre de bromocresol.

DBO : la demande biochimique en oxygène.

DBO5 : la demande biochimique en oxygène après 5 jours à l'abri de la lumière.

DCO : la demande chimique en oxygène.

Hect: Hektoen.

MC: Mac conkey.

MES : matières en suspension.

GN: gélose nutritive.

PH : potentiel d'hydrogène.

SB: Sabauraud.

SS : Salmonella, shigella

STEP: station d'épuration.

T (°C): la température.

Produced with ScanTOPDF

Table des figures

Numéro de figure	Le titre	Numéro de page
1	vue générale de la STEP de Guelma	3
2	Prétraitement.	6
3	Décanteur primaire	7
4	Clarificateur.	9
5	Bassin d'aération	10
6	Bassin de désinfection	10
7	Lits de séchage	12
8	Evolution des précipitations moyennes annuelles (Station de Guelma 1994-2008).	14
9	Evolution des températures maximales annuelles (Station de Guelma 1994-2008).	14
10	Diagramme pluviothermique de BAGNOULS et GAUSSEN.	15
11	Climagramme d'EMBERGER	16
12	Plan de travail	18-19
13	points de prélèvement	20
14	Dénombrement des germes totaux.	22
15	Recherche et dénombrement des coliformes totaux (test de présomption).	24
16	Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (test confirmatif)	25
17	recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	27
18	Test catalase	30
19	La galerie API20E.	31

20	Mode opératoire de l'API20E(a,b) , La lecture d' API20E(c)	32
21	pH mètre, conductimètre.	35
22	L'installation pour mesurer la DBO5.	36
23	Dessicateur ,filtre a pompe,Etuve à 105°C .	38,39
24	. l'installation pour mesurer la DCO	42
25	représentation graphique des germes totaux	44
26	Représentation graphique des coliformes totaux	45
27 (a,b,c)	Résultats du test présomptif (coliformes totaux).	45
28	Représentation graphique des coliformes fécaux.	46
29	Résultats du test confirmatif (coliformes fécaux)	46
30	Représentation graphique des streptocoques fécaux.	47
31	Résultats des Streptocoque fécaux : (a: test présomptif) (b : test confirmatif)	48
32	Les géloses utilisées pour la recherche des germes pathogènes.	48
33	Aspect des colonies sur gélose Mac-Conkey.	50
34	Aspect des bacilles Gram (-).	50
35	Aspect des colonies sur gélose Chapman.	50
36	Aspect des cocci Gram (+).	50
37	Résultats des API 20E.	52
38	Evolution de la température avant et après l'épuration.	53
39	Evolution de PH avant et après l'épuration	54
40	Evolution de la conductivité avant et après l'épuration	54
41	Evolution des DBO5 avant et après l'épuration.	55
42	Evolution des MES avant et après l'épuration.	56
43	Evolution des DCO avant et après l'épuration.	57

Listes des tableaux

01	charge polluante. (STEP de Guelma, 2003)	04
02	Charges hydrauliques. (STEP de Guelma, 2003)	04
03	Quantité de chlore a dosé.	10
04	Données climatiques de la station météo de Guelma (de 1994à 2008).	13
05	Site et période de prélèvement	20
06	Aspect macroscopique et microscopique ainsi que le s tests réalisés.	49
07	Résultats des API 20E.	51

Produced with ScanToPDF

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I.....	2
1. les eaux usées.....	2
2. Epuraton.....	2
3. Description du site *La station d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma.....	2
3.1. Localisation.....	2
3.2. Caractéristique et Nature des effluents.....	4
3.2.1. Nature du réseau.....	4
3.3. Charges Hydrauliques et Polluant.....	4
4. Objectif du Traitement (Objectif de la STEP).....	5
5. Les étapes d'épuration.....	5
5.1. prétraitement.....	6
5.2. traitement primaire.....	6
5.3. Traitement secondaire.....	8
5.3.1. Un traitement biologique.....	8
5.3.2. Une décantation secondaire.....	9
5.4. Traitement tertiaire.....	9
5-5 traitement des boues.....	11
6. Points de Rejet (destination).....	12
6.1. L'eau épurée.....	12
6.2. Les sous produits issus de l'épuration.....	12
7. Etude climatique.....	13
7.1. La pluviométrie.....	13
7.2. La température.....	14
7.3. Synthèse climatique.....	15
7.3.1. Diagramme pluviothermique de BAGNOULS et GAUSSEN.....	15
7.3.2. Quotient pluviométrique d'EMBERGER.....	15
Chapitre II.....	17
1. Plan de travail.....	17
2. Technique de prélèvement.....	17
3. Précaution concernant l'échantillonnage.....	17
4. Site et période de prélèvement.....	20
5. Méthode d'analyse microbiologique.....	21
5.1. Germes totaux.....	21
5.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux.....	23
5.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	26
5.4. Recherche des germes pathogènes (ensemencement sur gélose).....	27

5.5. Tests complémentaires	29
5.5.1. Coloration de Gram	29
5.5.2. Test catalase	29
5.5.3. Mise en évidence d'une coagulase.....	30
5.5.4. La galerie API 20 E.....	30
6. Méthode d'analyse physico-chimique.....	33
6.1. Les paramètres physiques.....	33
6.1.1 La température	33
6.1.2. Potentiel hydrogène pH	34
6.1.3. La conductivité électrique.....	34
6.2. Les paramètres Chimiques	35
6.2.1. La demande biochimique en oxygène DBO	35
6.2.2. Les matières en suspension MES.....	37
6.2.3. La demande chimique en oxygène DCO.....	40
Chapitre III.....	43
1. Analyse bactériologique.....	44
1.1 Dénombrements	44
1.2. Germes totaux	44
1.3. coliformes	45
1.4. streptocoque fécaux	47
2- Résultats des analyses physico-chimiques	48
2-1 La température (T°C)	52
2-2 Le potentiel Hydrogène (pH)	53
2-3 La conductivité électrique	54
2-4 La demande biochimique en oxygène DBO5	55
2-5 Les matières en suspension (MES)	56
3-6 La demande chimique en oxygène (DCO)	57

Produced with ScanTopdf

Introduction

Produced

ScanTopPDF

Introduction :

L'eau est une ressource vitale pour les êtres vivants malheureusement, elle est aujourd'hui devenue une denrée rare précieuse et elle est menacée par une pollution qui prend des dimensions de plus en plus importante qui est liée notamment aux activités humaines, à l'industrialisation et l'urbanisation des milieux dans de nombreux pays.

Toutes ces eaux vont subir une pollution directe après leur évacuation dans le milieu naturel, parce qu'ils contiennent de nombreuses substances toxiques que les processus naturels ne réussissent pas à décomposer, même en quantité minime dont certaines peuvent être très nocifs.

Pour gérer et protéger la source en eau, il est important de bien connaître ses caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques, à partir de ceux-ci, nous pouvons attribuer aux eaux usées une classe de qualité qui permet d'évaluer son degré de pollution.

Le problème des eaux usées doit tenir compte du fait que si ces eaux sont utilisées avec précaution ou subissent un traitement adapté et de qualité, elles auront une valeur économique indéniable en terme de rentabilité économique. Une station d'épuration est en fait une succession de dispositifs empruntés tour à tour par les eaux usées pour en extraire au fur et à mesure les polluants et pour rendre à la nature une eau suffisamment propre pour son utilisation future.

Le but recherché par ce travail est d'étudier la qualité des eaux usées de la station d'épuration avant et après traitement et par conséquent étudier la fiabilité des procédés utilisés dans cette station utilisant un procédé fonctionnant avec les boues activées.

Pour cela, nous avons structuré notre démarche en trois parties :

- Une partie bibliographique dans laquelle nous avons présenté notre site d'étude,
- Une partie expérimentale où nous avons effectué des analyses microbiologiques avant et après chloration et d'autres physico-chimiques à l'entrée et à la sortie de la STEP de la ville de Guelma.
- Enfin, une dernière partie résumant les résultats obtenus suivie d'une discussion.

chapitre 1

Produced with ScantOPDF

L'eau est salie après usage : si elle n'est pas traitée avant de rejoindre le milieu naturel, elle peut lui causer de graves dommages (destruction partielle ou totale de la faune et de la flore). La station d'épuration est une véritable "machine à laver l'eau" qui permet de respecter l'environnement en rejetant dans le milieu naturel des eaux propres. Le but n'est pas de transformer cette eau de nouveau en eau potable (buvable par l'homme), d'où, il ne faut pas confondre eau potable et eau propre (1).

1. les eaux usées:

Les eaux usées: sont toutes les eaux qui sont de nature à contaminer les milieux dans lesquelles elles sont déversées. Les eaux usées sont des eaux altérées par les activités humaines à la suite d'un usage domestique, industriel, artisanal, agricole ou autre. Elles sont considérées comme polluées et doivent être traitées. Dans les milieux urbanisés, les eaux usées sont collectées et acheminées par un réseau d'égout (aussi appelé réseau d'assainissement), soit dans une station de traitement soit sur un site autonome de traitement (1).

2. Epuration:

L'épuration des eaux est un ensemble de techniques qui consistent à purifier l'eau soit pour recycler les eaux usées dans le milieu naturel, soit pour transformer les eaux naturelles en eau potable. Une station d'épuration nettoie les eaux usées avant de les rejeter dans le milieu naturel. Son principe de fonctionnement, calqué sur celui de la nature, génère des boues résiduelles qui, si leur qualité le permet, seront utilisées comme fertilisants dans l'agriculture. Une fois traitées par la station d'épuration, La capacité d'une station d'épuration se mesure en équivalent habitant (2).

3. Description du site

La station d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma

3.1. Localisation:

La Station d'épuration des eaux usées de la wilaya de Guelma est fonctionnelle depuis le 28 Février 2008. (Fig.1)



Fig.01 .vue générale de la STEP de Guelma

Elle est implantée sur un terrain agricole de 08 Hectares à (01) kilomètre environ au nord de la ville de Guelma, sur le flanc droit de la vallée développée par oued Seybouse, et sans habitations existantes à la proximité. Elle est alimentée par 02 conduites de refoulement, l'une en diamètre 700 en provenance du premier poste de refoulement SP1 (Oued Maiz), l'autre en diamètre 500 en provenance du second poste de refoulement SP2 (Oued Skhoune). (STEP Guelma, 2003)

Station: SP1 (STEP Guelma, 2003)

Débit Global	1575	m ³ /h
--------------	------	-------------------

Station: SP2 (STEP Guelma, 2003)

Débit Global	1125	m ³ /h
--------------	------	-------------------

Compte tenu de la qualité des effluents à traiter et du niveau de rejet requis, la filière de traitement est du type **boues activées à moyenne charge**.

3.2. Caractéristique et Nature des effluents:

La station est alimentée par des effluents d'origine domestique (à hauteur de 199086 Equivalent-Habitants) en 2010.

3.2.1. Nature du réseau:

Les eaux Usées de la ville de Guelma sont collectées gravitairement sur 02 bassins versant par un ensemble de réseaux d'assainissement existant. Le réseau d'assainissement est du type unitaire (autrement dit; englobe tout en même temps; les égouts, les rejets industriels, individuels... etc.).(STEP Guelma, 2003)

3.3. Charges Hydrauliques et Polluant

Les différents nombres de charges à retenir sont (Tab 01):

Tab.01. charge polluante. (STEP de Guelma, 2003)

paramètres	Charge première Phase Perspective 2010	
	KG/J	MG/L
DBO	10 800	338
DCO	16 000	500
MES	14 000	438

Tab.02. Charges hydrauliques. (STEP de Guelma, 2003)

	Volume Journalier Eaux Usées (m ³ /j)	Volume maxi journalier temps pluie ⁽¹⁾ (m ³ /j)	Débit moyen temps sec (m ³ /j)	Débit moyen temps pluie (m ³ /j)	Débit de pointe temps sec (m ³ /j)	Débit de pointe temps pluie (m ³ /j)
Charge Première Phase Perspective 2010	32 000	43 388	1333	1807	2091	4182

(¹) Sur la base de 40 jours pluie par an.

-Notons qu'il existe une différence entre le débit maximum relevé par les 02 postes de refoulement (2700m³/h) et la capacité maximale de la station d'épuration par temps de pluie (4182m³/h).

4. Objectif du Traitement (Objectif de la STEP)

Le rôle principal de la station de traitement des eaux usées est de réduire la pollution « en nettoyant » les eaux usées domestiques et industrielles de façon à rejeter à la rivière des eaux traitées compatibles avec la qualité souhaitée et dans les normes idéales.

Pour la station de la ville de GUELMA le rejet doit se conformer aux normes ci-après:

*DBO: inférieure à 30 mg/l sur 24h. Sans dépasser 40mg/l sur 02 heures.

*MES: inférieure à 30mg/l sur 24heures.

*DCO: inférieure à 90mg/l sur 24h sans dépasser 120mg/l sur 02heures.

Ceci conduit aux rendements d'élimination moyens suivant:

*DBO: 91,12%

*MES: 93,15%

*DCO: 82,00%

La station permet ainsi de respecter l'environnement et de produire des boues (amendement organique et substance fertilisantes utilisés éventuellement en agriculture). (STEP Guelma, 2003)

5. Les étapes d'épuration :

La dépollution des eaux usées urbaines de la ville de Guelma nécessite une succession d'étapes faisant appel à des traitements physiques, physico-chimiques et biologiques.

En dehors des plus gros déchets présents dans les eaux usées, l'épuration doit permettre, au minimum, d'éliminer la majeure partie de la pollution carbonée.

Selon le degré d'élimination de la pollution et les procédés mis en oeuvre, trois niveaux de traitements sont définis. (STEP Guelma, 2003), (Fig.4).

5.1. Prétraitement:

Les prétraitements ont pour objectif d'éliminer les éléments les plus grossiers, qui sont susceptibles de gêner les traitements ultérieurs et d'endommager les équipements. Il s'agit des

déchets volumineux (dégrillage), des sables et graviers (dessablage) et des graisses (dégraissage déshuilage).

***Le dégrillage:**

Les eaux usées, acheminées par des réseaux, passent dans un dégrilleur : une sorte de tamis qui les débarrasse des matières grossières et inertes (chiffons, morceaux de bois, plastiques, feuilles...). (Meinck et al, 1977). Après nettoyage des grilles par des moyens mécaniques, manuels ou automatiques, les déchets sont évacués avec les ordures ménagères. Le tamisage, qui utilise des grilles de plus faible espacement, peut parfois compléter cette phase du prétraitement (3). (Fig.2)

*** Le dessablage et le déshuilage dégraissage :**

Consistent ensuite à faire passer l'eau dans des bassins où la réduction de vitesse d'écoulement fait se déposer les sables et flotter les graisses. L'injection des micros bulles d'air permet d'accélérer la flottation des graisses. Les sables sont récupérés par pompage alors que les graisses sont raclées en surface (3).



Fig. 02. Prétraitement.

5.2. Traitement primaire:

Le traitement "primaire" fait appel à des procédés physiques, avec décantation plus ou moins aboutie, éventuellement assortie de procédés physico-chimiques, tels que la coagulation-floculation (2). Ces traitements éliminent 50 à 60 % des matières en suspension, mais ne suffisent généralement plus pour satisfaire les exigences épuratoires de réglementation actuelle. Avec coagulation et floculation dans des decanteurs lamellaires, on peut éliminer jusqu'à 90 % des MES (10). Les principes généraux utilisés sont illustrés

*** Coagulation :**

Consiste à déstabiliser des suspensions pour faciliter leur agglomération. Il faut neutraliser leurs charges de manière à réduire leur force de répulsion.

on utilise des coagulants organiques : mélanine formaldéhyde, épichlorohydrine diméthylamine, polyamides quaternaires, polychlorure de diallyl-dyméthylammonium.

***Floculation:**

La floculation a pour but de favoriser, à l'aide d'un mélange lent, les contacts entre les particules déstabilisées. Ces particules s'agglutinent pour former un floc qu'on pourra facilement éliminer par décantation. (6).

Les matières décan tables se déposent au fond ou flottent à la surface par différence de densité ou après adjonction de produits agglomérant les matières et accélérant leur flottation ou leur sédimentation.

La décantation classique est possible lorsque les eaux prétraitées séjournent en eaux calmes dans le bassin de décantation primaire. Les matières en suspension, organiques ou non, se déposent dans le fond du bassin simplement par gravité. Elles y sont raclées et évacuées formant ainsi les boues primaires (Fig.3).



Fig. 03. Décanteur primaire.

***Neutralisation .**

Il s'agit d'une opération par laquelle on ajoute à une eau à caractère acide ou basique une quantité suffisante soit de bases, soit d'acides de manière à neutraliser cette eau.

***Oxydo-réduction :**

L'Oxydo-réduction est une opération par laquelle on ajoute à une eau contenant une substance à caractère oxydant ou réducteur une quantité suffisante soit d'un réducteur, soit d'un oxydant, de manière à amener la totalité du polluant vers une forme moins réactive.

***Précipitation :**

La précipitation est une méthode utilisée pour éliminer les composés solubles présents dans les eaux. Elle est souvent précédée d'une opération chimique (neutralisation, alcalinisation, oxydation, réduction). Elle est toujours suivie d'une opération physique qui sépare la phase liquide de la phase solide précipitée (floculation, décantation, filtration) (Imane, 2007).

5.3. Traitement secondaire :

C'est lors de ce traitement que s'élimine l'essentiel des agents polluants dans les eaux usées à savoir l'élimination de la pollution carbonée biodégradable.

Il consiste à mettre en contact l'eau usée avec une biomasse épuratrice qui est en fait un écosystème simplifié et sélectionné ne faisant appel qu'à des micro-organismes. Elle est constituée d'être vivants de petite taille, inférieure au millimètre, microflore de bactéries et microfaune d'animaux, protozoaires (10).

Dans le cas des eaux usées urbaines, on favorise le développement de bactéries aérobies, autrement dit, qui utilisent l'oxygène pour se développer. (7)

Il comporte deux étapes principales :

5.3.1. Un traitement biologique :

C'est la partie essentielle du traitement. Les eaux arrivent dans un second bassin où sont développées des cultures de micro-organismes ; les impuretés sont alors digérées par ces êtres vivants microscopiques et transformées en boues. Ce processus naturel est observable dans les rivières. Par un brassage mécanique ou un apport d'air, les micro-organismes se reproduisent très rapidement (leur nombre double toutes les 10 minutes). Ils se

nourrissent de la pollution organique et du oxygène de l'air pour produire du gaz carbonique et de l'eau. [7]

5.3.2. Une décantation secondaire :

Une décantation permet de recueillir sous forme de boues les matières agglomérées par les bactéries. (Les boues, plus denses que l'eau, tombent au fond du bassin où elles sont raclées).

Un clarificateur permet de séparer par décantation l'eau épurée et les boues obtenues lors des traitements de dépollution. L'eau clarifiée se situant à la surface du décanteur est ensuite dirigée vers un filtre (8) (Fig.4).



Fig. 04. Clarificateur.

5.4. Traitement tertiaire

Le traitement tertiaire n'est pas toujours réalisé. Cette étape permet de réduire le nombre de bactéries, donc de germes pathogènes présent dans l'eau, ou de réduire d'autres paramètres de pollution (9) (Fig.05).

Il comporte trois étapes principales :

***élimination de l'azote**

***élimination de phosphore**

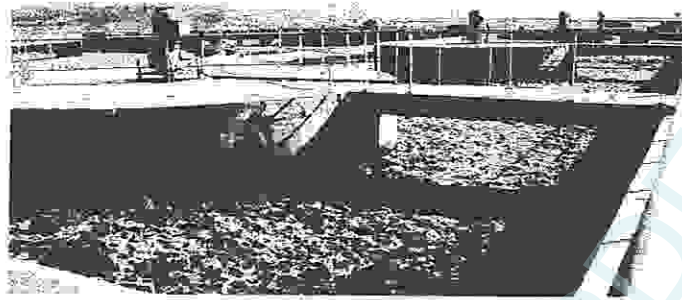


Fig. 05. Bassin d'aération.

***Elimination des germes pathogènes (chloration):**

*Débit à traiter : 2,180m³/h

*dose de chlore : 05mg/l

*choix de l'oxydant : NaClO

*Concentration en chlore actif : 138g/l

*degré chromométrique solution utilisée : 12%

La chloration se fait dans un bassin à l'aide d'hypochlorite de calcium équipée de chicane pour permettre un temps de contact suffisant (Fig 6).

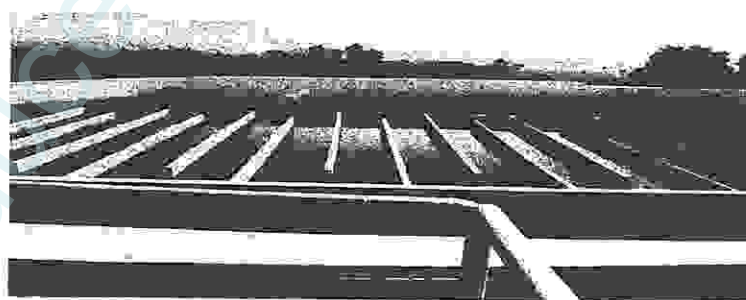


Fig. 06. Bassin de désinfection.

- Caractéristiques de l'hypochlorite :

*Concentration : 12%

*Densité : 1,15g/l

*Concentration en chlore à doser : 138g/l

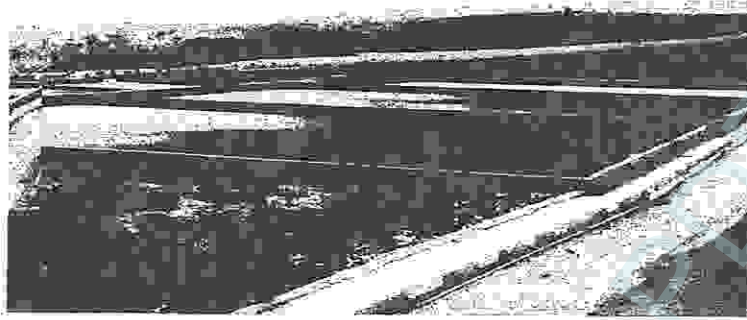


Fig. 07. Lits de séchage.

6. Points de Rejet (destination):

6.1. L'eau épurée:

Le rejet est réalisé dans l'Oued Seybouse situé en contre bas de la station d'épuration à 331 m de distance, les effluents sont acheminés jusqu'à l'Oued par une canalisation de rejet. (STEP Guelma, 2003)

6.2. Les sous produits issus de l'épuration:

-**Boues:** Les boues sont épaissies puis hydratées sur lits de séchage avant leur envoi en décharge (ou autres= utilisation Agricole).

-**Les produits de Dégrillage:** Les refus de dégrillage sont évacués par un tapis transporteur, ou une vis de convoyage dans une benne à ordures.

-**Graisses et Huiles:** Elles sont stockées dans une fosse à graisse avant enlèvement.

-**Sables:** Ils sont extraits de l'ouvrage de prétraitement, séparés de leur eau par un classificateur, puis stockés dans une benne relevable. (STEP Guelma, 2003)

7. Etude climatique

Les caractéristiques climatiques influencent les variations de la qualité des eaux de surface et par conséquent les eaux usées. De ce fait il est impératif de connaître leurs évolutions dans le temps et dans l'espace. Aujourd'hui de nombreuses questions se posent concernant l'avenir de la planète terre vis-à-vis des changements des caractéristiques climatiques. Dans cette partie nous avons procédé à une étude des variations des paramètres influençant directement la qualité des eaux usées de la station d'épuration de Guelma.

Tab 04. Données climatiques de la station météo de Guelma (de 1994 à 2008) :

		Jan	Fev	mars	avril	mai	juin	juill	aout	sep	ooc	nov	dec
T°C	Mini	4.67	4.94	5.92	8.27	12.17	15.97	17.90	19.97	17.29	13.76	9.13	6.27
	Max	20.52	16.00	19.68	22.02	25.33	32.72	36.07	36.24	31.32	25.78	20.62	16.62
	Moy,	12.59	10.47	12.80	15.14	18.75	24.34	26.98	28.10	24.30	19.77	14.87	11.44
Précipitation		102.27	62.77	60.12	67.71	48.17	16.45	2.96	11.86	45.74	37.05	71.66	81.94

7.1. La pluviométrie :

Les précipitations constituent le premier facteur important dans le cycle de l'eau, leur distribution dans le temps et dans l'espace conditionne la forme des écoulements et les apports aux nappes.

La précipitation annuelle dans la région de Guelma équivaut à : 635mm. D'après les données climatiques, le mois de janvier est le mois le plus pluvieux avec une précipitation moyenne de 102.03 mm, par contre le mois de juillet est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 2,96mm. (Fig.08)

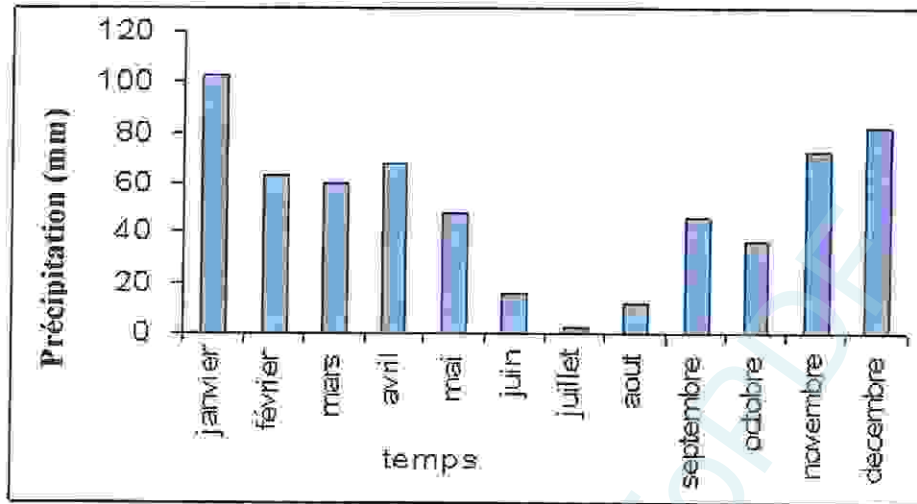


Fig. 08. Evolution des précipitations moyennes annuelles
(Station de Guelma 1994-2008).

7.2. La température:

La température est le deuxième élément important dans l'étude du climat. Elle joue un rôle important dans la détermination des paramètres climatiques particulièrement la détermination du bilan hydrologique.

À partir de ces données nous constatons que le mois d'août est le mois le plus chaud avec une température maximale de $36,34^{\circ}\text{C}$ et que janvier est le mois le plus froid avec une température minimale de $04,67^{\circ}\text{C}$. (Fig.09)

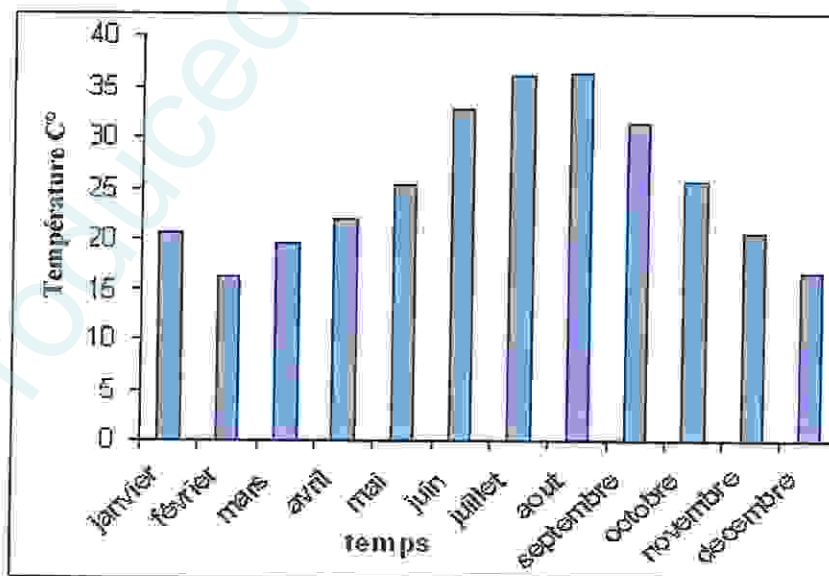


Fig. 09. Evolution des températures maximales annuelles
(Station de Guelma 1994-2008).

7.3. Synthèse climatique :

7.3.1. Diagramme pluviothermique de BAGNOULS et GAUSSEN :

Le diagramme pluviothermique de BAGNOULS et GAUSSEN nous permet de mettre en évidence la répartition des périodes sèche et humide de notre zone d'étude. Il est tracé avec deux axes d'ordonnées où les valeurs de la pluviométrie sont portées à une échelle double de celle des températures. (Bagnouls et Gausсен. 1957). Ce dernier montre la succession de deux saisons l'une sèche et l'autre humides. La première s'étale du mois de Mai jusqu'au mois d'octobre la seconde va du mois de Novembre jusqu'au mois d'avril compris. (Fig. 10)

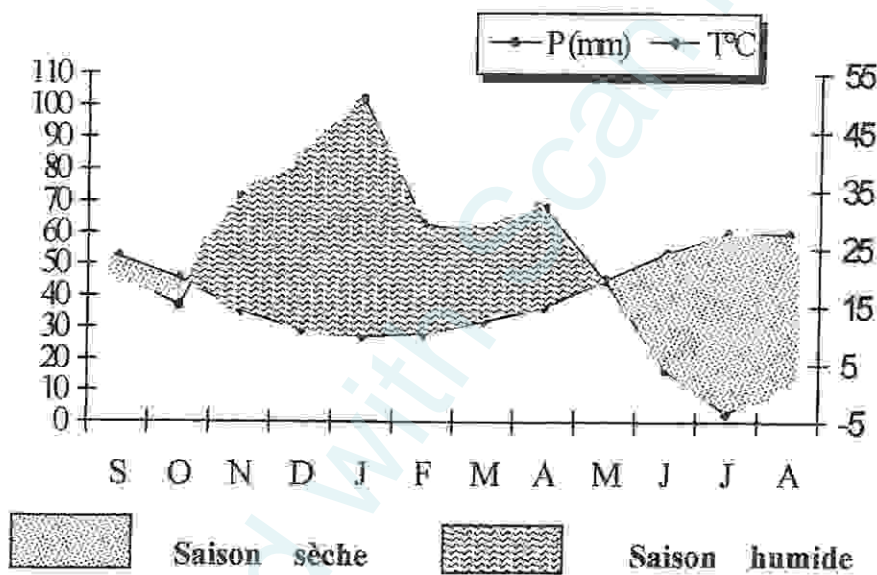


Fig. 10. Diagramme pluviothermique de BAGNOULS et GAUSSEN.

7.3.2. Quotient pluviométrique d'EMBERGER :

Cet indice nous aide à définir les 5 types de climat méditerranéen du plus aride jusqu'à celui de haute montagne (EMBERGER, 1955). Il se base sur le régime des précipitations et des températures et il s'exprime selon la formule suivante :

$$Q_2 = \frac{1000 \cdot P}{\left[\frac{M + m}{2} \right] (M - m)}$$

Q₂ : quotient pluviométrique d'EMBERGER.

P = Précipitation annuelle moyenne (mm)

M = Températures des maxima du mois le plus chaud (°K).

m = Températures des minima du mois le plus froid (°K).

Nos calculs donne un $Q_2=65,70$ ce qui classe la région de l'étude dans l'étage bioclimatique semi-aride a hiver tempéré

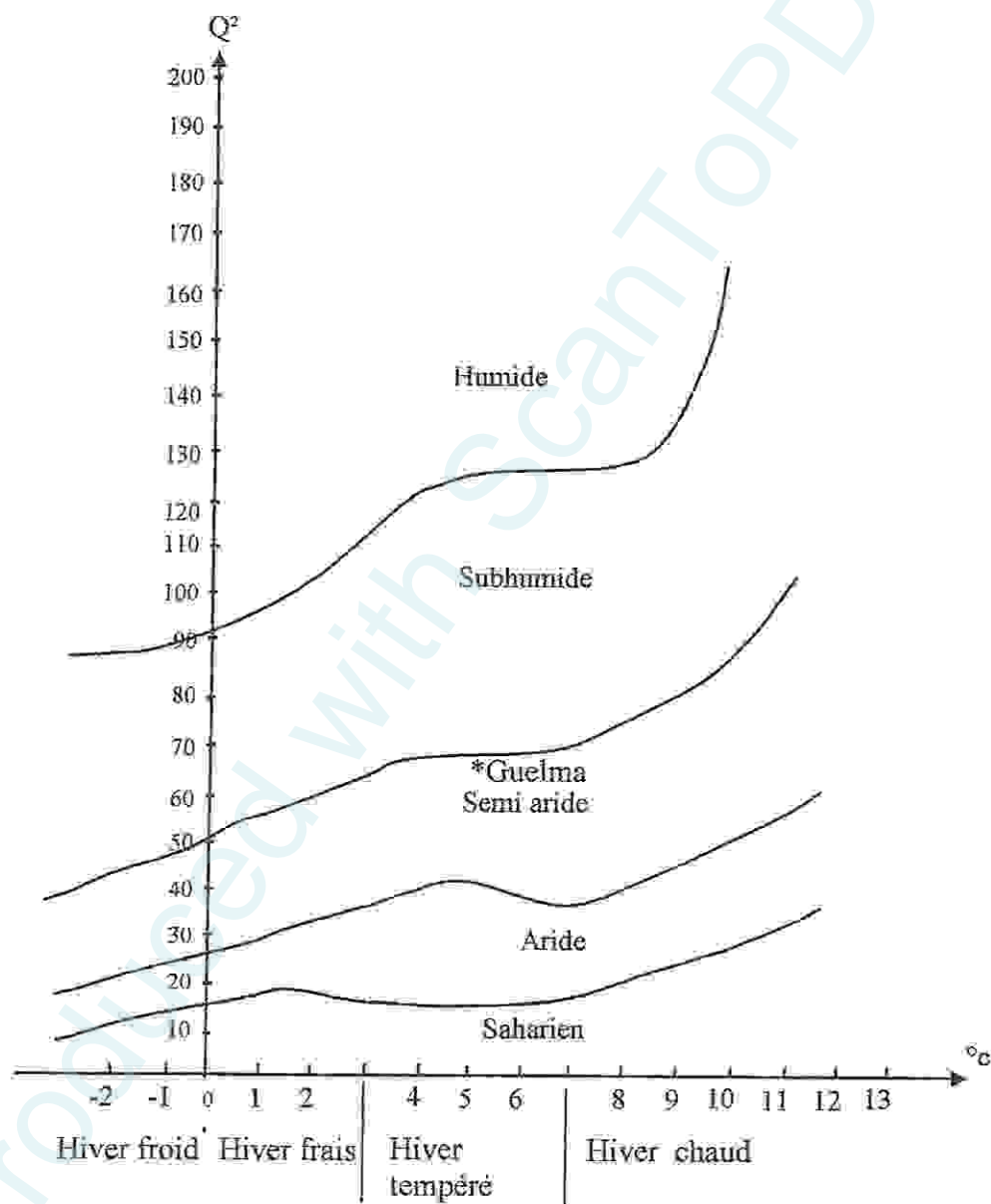


Fig.11. Climagramme d'EMBERGER.

chapitre II

Produced with ScantOPDF

Notre étude pratique a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie du département de biologie de l'université de Guelma et au niveau de laboratoire de la STEP de Guelma.

1. Plan de travail

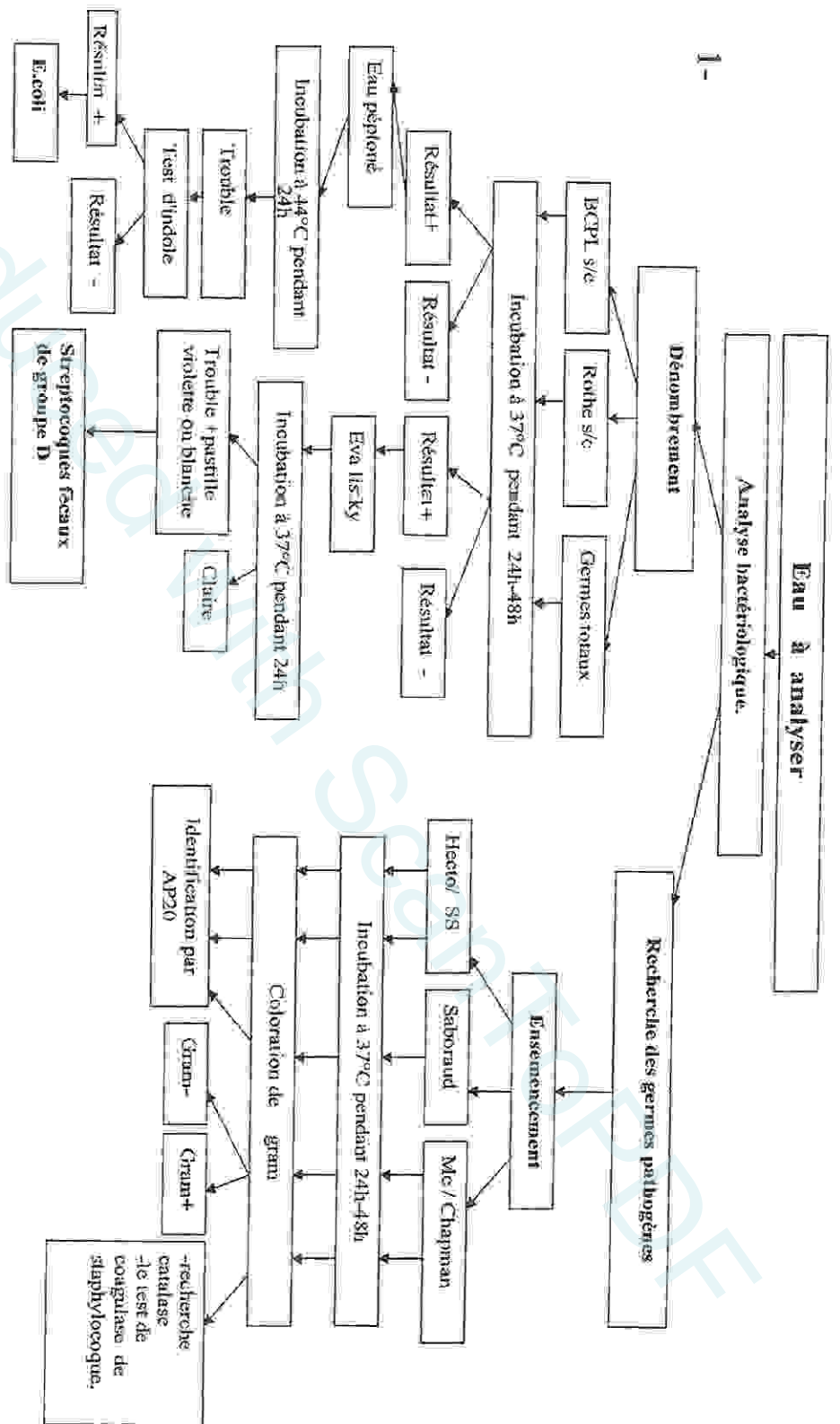
Les différentes étapes effectuées durant notre travail expérimental sont indiquées dans la (Fig.12)

2. Technique de prélèvement

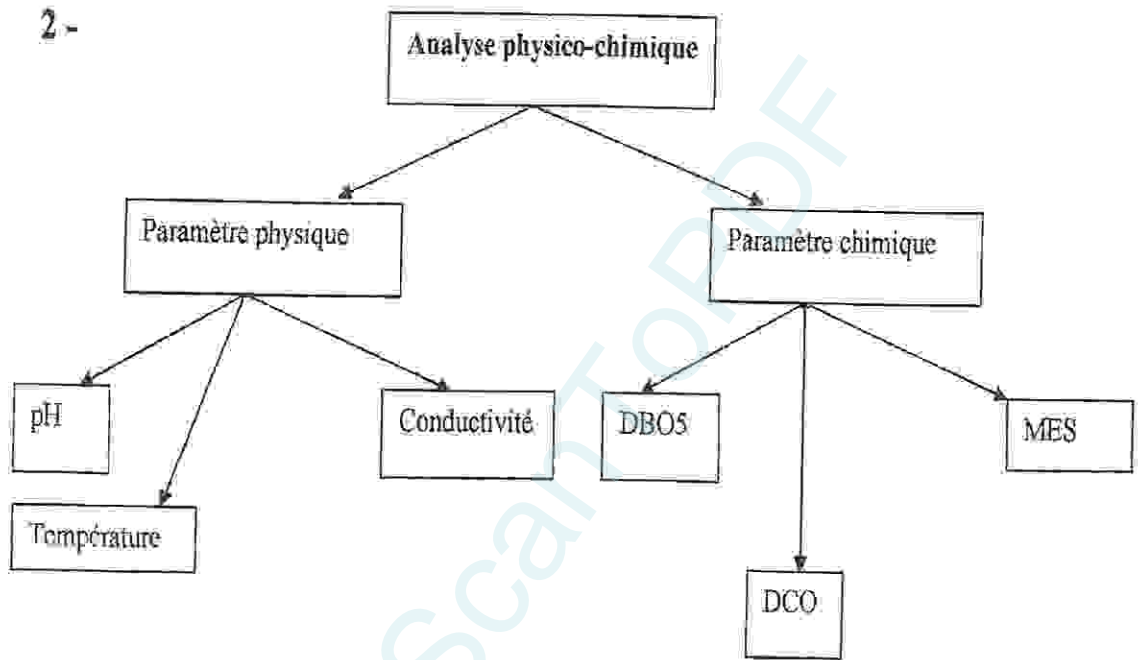
- Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour une eau de surface (eau superficielle) :
- utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vis métallique.
- le flacon débouché et immergé complètement en position verticale renversé en le tenant par fond: il est alors retourné jusqu'à ce que l'ouverture soit légèrement plus haute que le fond et dirigée sans le sens contraire du courant.
- Après le prélèvement les flacons doivent être soigneusement rebouchés, il faut éviter, le fond, la proximité de la surface (au moins 30cm) (Guiraud, 1998).
- Le flacon ne sera jamais complètement rempli afin de permettre l'homogénéisation de l'ensemble au moment de la mise en culture. (Delarras, 2003)

3. Précaution concernant l'échantillonnage

- Les flacons doivent être soigneusement étiquetés et transmis sans retard au laboratoire.
- L'analyse doit s'effectuer dans un délai très court, inférieur à 2h.
- La température de l'eau ne doit pas être modifiée jusqu'à son traitement au



2 -



Produced with Scantopdf

laboratoire. Si le transport doit dépasser 1h, il faut utiliser une boîte isotherme munie d'éléments réfrigérants (Guiraud, 1998).

4. Site et période de prélèvement

L'objectif de notre manipulation était double: d'une part, contribuer à analyser l'eau rejetée de la station et d'autre part d'étudier les effets de la désinfection par le chlore. (Fig. 13).

Tab 05 : Site et période de prélèvement

Nature de prélèvement	Lieu de prélèvement	Nombre de prélèvement	Site de prélèvement	Date de prélèvement
Microbiologique	STEP de Guelma	-prélèvement 1	-Avant chloration	05-04-2010
		-prélèvement 2	-Après chloration	02-05-2010
Physico-chimique	STEP de Guelma	Plusieurs prélèvements	-Avant épuration	De Mars
			-Après épuration	jusqu'à Mai



- A:** Entrée de station.
B: Entrée de bassin de désinfection.
C: Sortie de bassin de désinfection.

Fig.13.Points de prélèvement.

5. Méthode d'analyse microbiologique

Les germes teste recherchés sont les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux. Ces germes sont peu ou pas pathogènes, ils sont révélateur de contamination fécale et entraînent par leur abondance la présomption de contamination plus dangereuse. Les germes supplémentaires recherchés sont les staphylocoques et cela pour leur intérêt pratique concernant les eaux de baignades. La méthode de détermination du nombre le plus probable (NPP) par inoculation des tubes en milieu liquide a été utilisée pour la recherche des germes. La détermination du nombre caractéristique (le nombre de tubes positifs) permettra l'établissement du nombre le plus probable à l'aide de la table de Mc Grady.

(Rodier et al, 1996)

5.1. Germes totaux :

C'est une estimation du nombre total de germes présents dans 1ml d'eau. Lorsque des ensemencements avec 1ml d'eau non diluée sont à pratiquer nous agitons soigneusement et de façon prolongée l'échantillon pour remettre en suspension d'une façon homogène les bactéries. Nous prélevons ensuite 1ml de cette eau que nous déposons dans une boîte de Pétri stérile.

Si la lecture doit porter sur l'eau diluée, nous introduisons dans une série de tubes stériles correspondant au nombre de dilutions à utiliser, 9ml d'eau stérile. Nous prélevons 1ml de l'échantillon avec une pipette stérile et nous l'ajoutons au premier tube, ensuite nous prélevons de la même façon avec une pipette 1ml et nous le déposons dans une boîte de Pétri stérile. Ensuite nous agitons soigneusement le tube de dilution au 1/10 ainsi préparé, prélever à l'aide d'une nouvelle pipette stérile 1ml d'eau diluée au 1/10 et nous le déposons dans le deuxième tube, réalisant ainsi la dilution 1/100.

Une fois la gélose est fondue, il faut la refroidir à 45-48°C et la maintenir au bain-Marie à cette température. Nous coulons aseptiquement la gélose dans la boîte de Pétri, agitons doucement par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, sans faire de bulles et sans mouillir les bords de la boîte. Nous laissons refroidir sur une surface parfaitement horizontale et fraîche.

Les boîtes sont incubées après solidification dans une étuve à 37°C durant 48h. (Gharsallah, 2002)

Nous prenons en compte les boîtes de deux dilutions successives, à la condition qu'elles contiennent moins de 300 colonies et qu'une boîte au moins de la dilution la plus forte contienne au moins 15 colonies.

Dans cette méthode, si l'on nomme:

- ΣC : somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues.

- d : taux de dilution de la première dilution.

$$\text{Alors: } N = \frac{\Sigma C}{1,1 \times d}$$

Les résultats sont exprimés en nombre total de bactérie aérobies mésophiles revivifiables dans 1 ml de l'échantillon (Joffin et Noël Joffin, 1999) (Fig. 14).

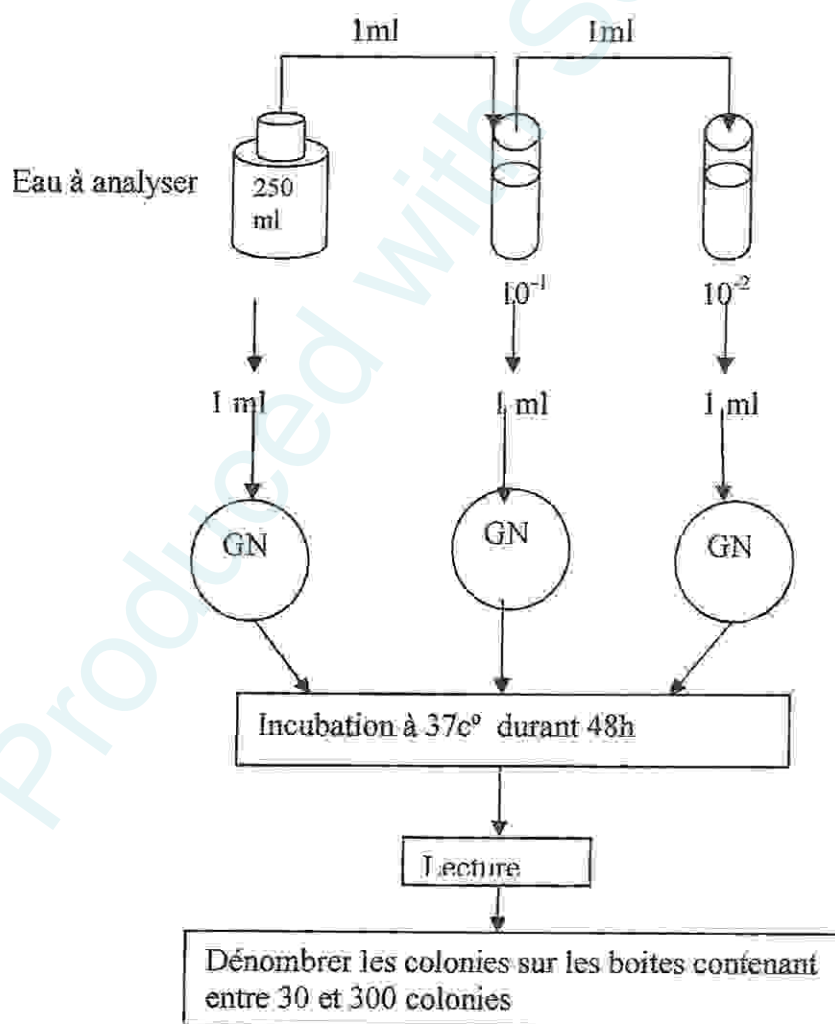


Fig.14. Dénombrement des germes totaux

5.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et identification (Dénombrement en milieu liquide, NPP)

5.2.1. Principe:

Cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire (loi de Poisson). Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide inoculé qui vire à la "positive" (trouble ou virage de l'indicateur). Un jugement quantitatif est possible en jouant sur les volumes de la prise d'essai.

La précision s'accroît avec le nombre de replicats par dilution. Celle-ci permet, en fonction du nombre de tubes "positifs" dans chaque série, d'indiquer la valeur statistique la plus probable "nombre le plus probable NPP" (Rodier, 2005).

5.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux: Test présomptif :

Nous faisons une dilution de 1/100 de notre eau à analyser ensuite nous prenons 9 tubes de BCPL (Bouillons Lactosé au Pourpre Bromocrésol) simple concentration, munis d'une cloche de Durham, à raison de 09ml par tube, pour chaque série de dilution. Après l'avoir homogénéiser soigneusement ,prélever 1ml d'eau à analysé à l'aide d'une pipette Pasteur et la porter dans le premier tube de la série de dilution (10^{-1}).

La pipette ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant. Avec une nouvelle pipette Pasteur, homogénéisée par aspiration et soufflage le contenu de ce tube (10^{-1}), prélever 1ml etensemencer le tube (10^{-2}), et ainsi de suite jusqu'au tube (10^{-9}), changer à, chaque fois de pipette et incubé à 37°C pendant 48h (Aouissi et al., 2007) (Fig.15).

2.5.3. Recherche et dénombrement des *E. coli*: Test confirmatif :

Ce test fait suite à un dénombrement en milieu liquide des coliformes. Il utilise la propriété d'*E. coli* de produire l'indole à 44°C . Pour chaque tube positif, nous prélevons une ose de culture que l'on reporte dans une eau peptonée. Incuber 24 h à 44°C . Dans les tubes montrant un trouble, ajouter quelques gouttes de réactif Kowacs. Une réaction considérée positive correspond à la formation d'anneau rouge, témoigne

de la production d'indole, donc la présence d'*Escherichia coli*. (Joffin et Noël Joffin, 1999)

Nous notons le nombre de tubes positifs dans chaque série et nous reportant aux tables de NPP. Pour obtenir le nombre de coliformes fécaux présent dans 100ml de l'échantillon. (Fig.16).

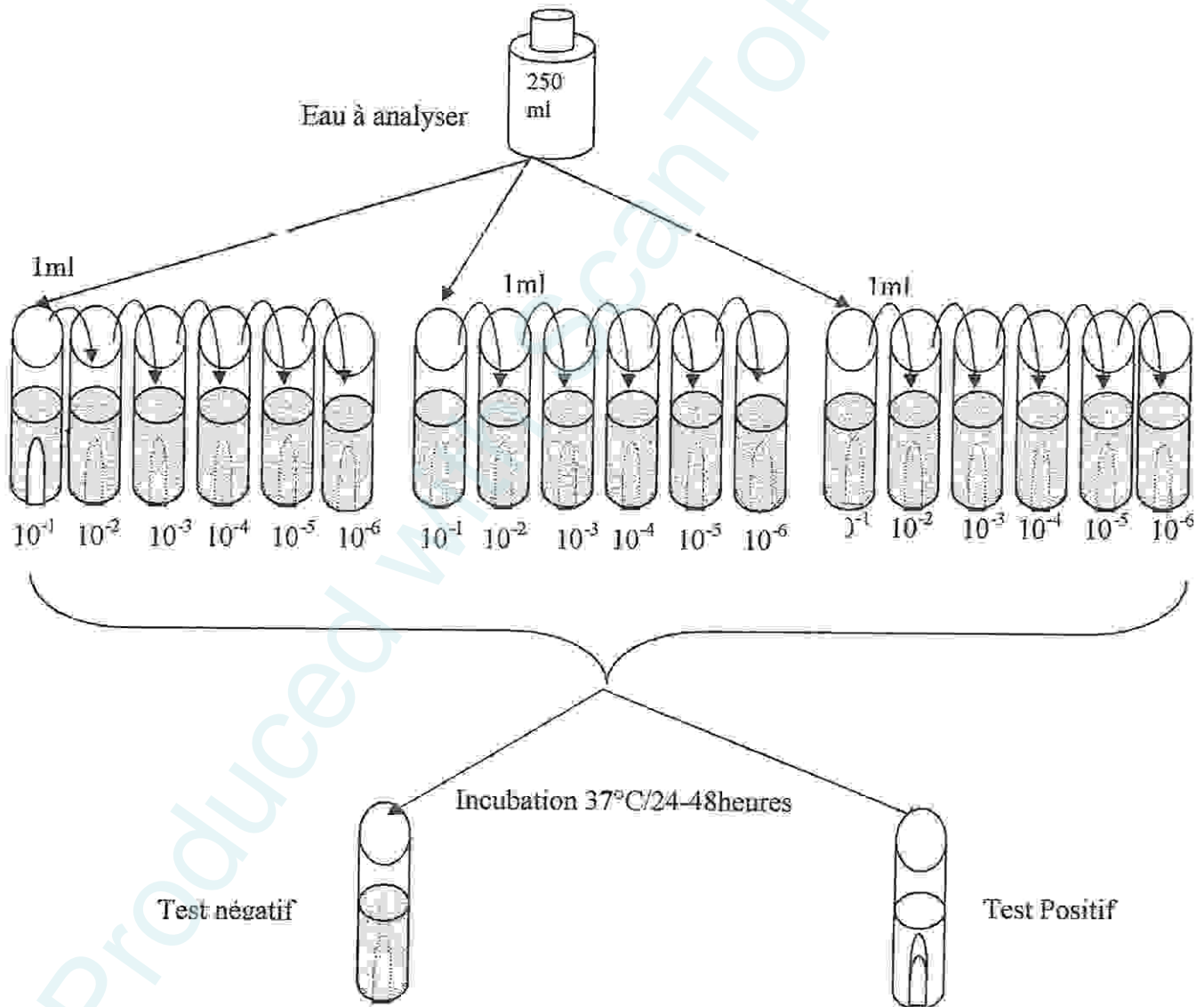


Fig.15. Recherche et dénombrement des coliformes totaux (test de présomption).

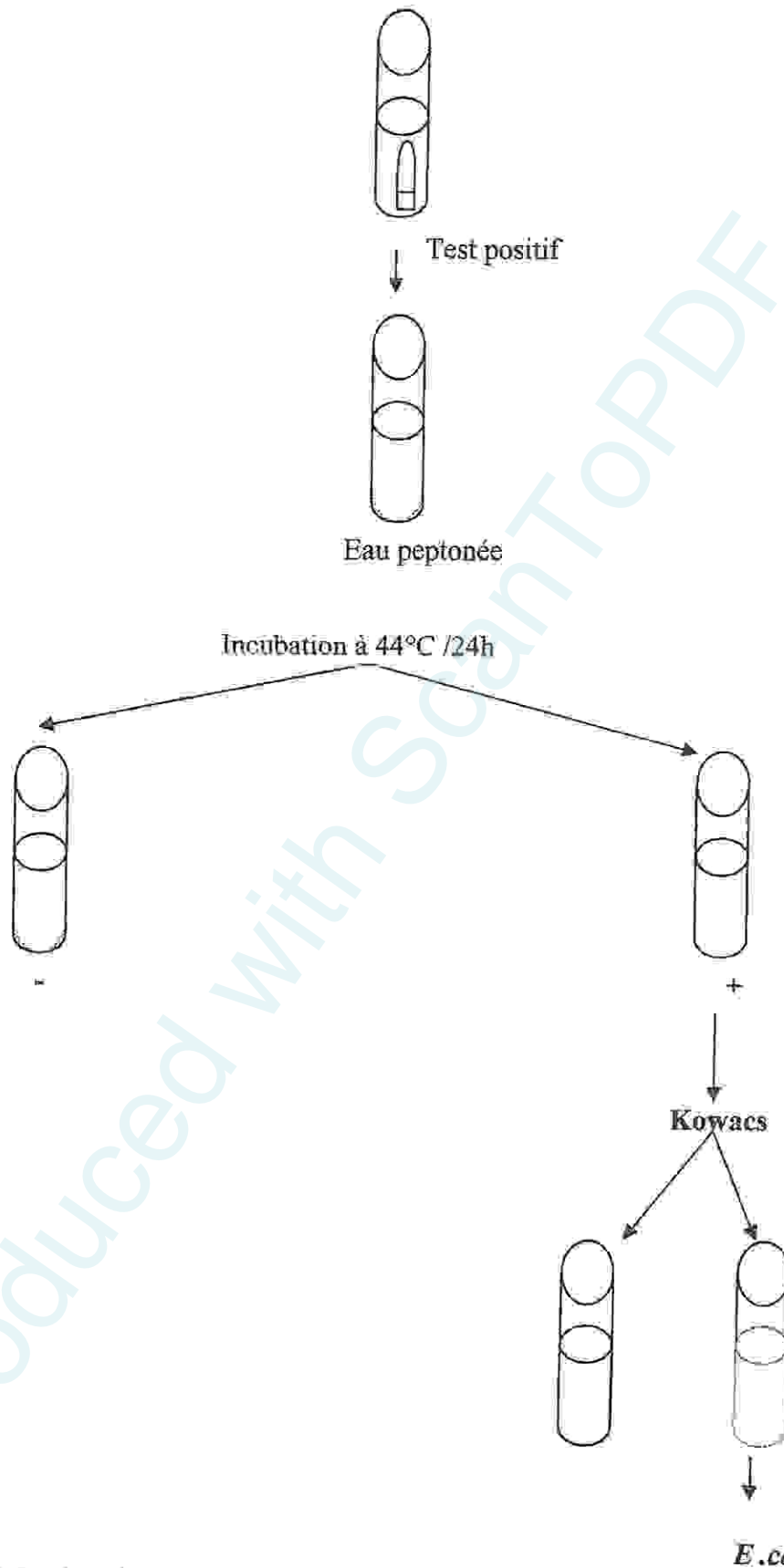


Fig.16. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (test confirmatif).

5.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

La technique de recherche des Streptocoques fécaux indiquée dans la figure 20, nécessite deux tests consécutifs (Rodier et al, 2001) :

5.3.1. Test de présomption :

La recherche se fait en bouillon à l'azide de sodium (bouillon de Rothe), en utilisant des milieux à simple concentration et on réalise le même procédé utilisé pour la recherche des coliformes totaux autrement dit la méthode classique de dilution de 03 séries. Nous incubons les tubes à 37°C et nous les examinons après 24 et 48 heures. Les tubes présentant un trouble microbien pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test confirmatif.

5.3.2. Test de confirmation :

Après agitation des tubes positifs, nous prélevons sur chacun d'eux successivement quelques gouttes de pipette Pasteur, et les reporter dans des tubes de Litsky à l'éthyle violet et azide de sodium.

Après incubation à 37°C pendant 24 h, tous les tubes présentant une culture et un jaunissement seront considérés comme positif. Nous notons généralement la présence dans le fond des tubes d'une pastille blanche ou violette.

Nous notons le nombre de tubes positifs dans chaque série et se reporté aux tables de NPP pour connaître le nombre de streptocoques fécaux présent dans 100ml de l'échantillon (Gharsallah, 2002).

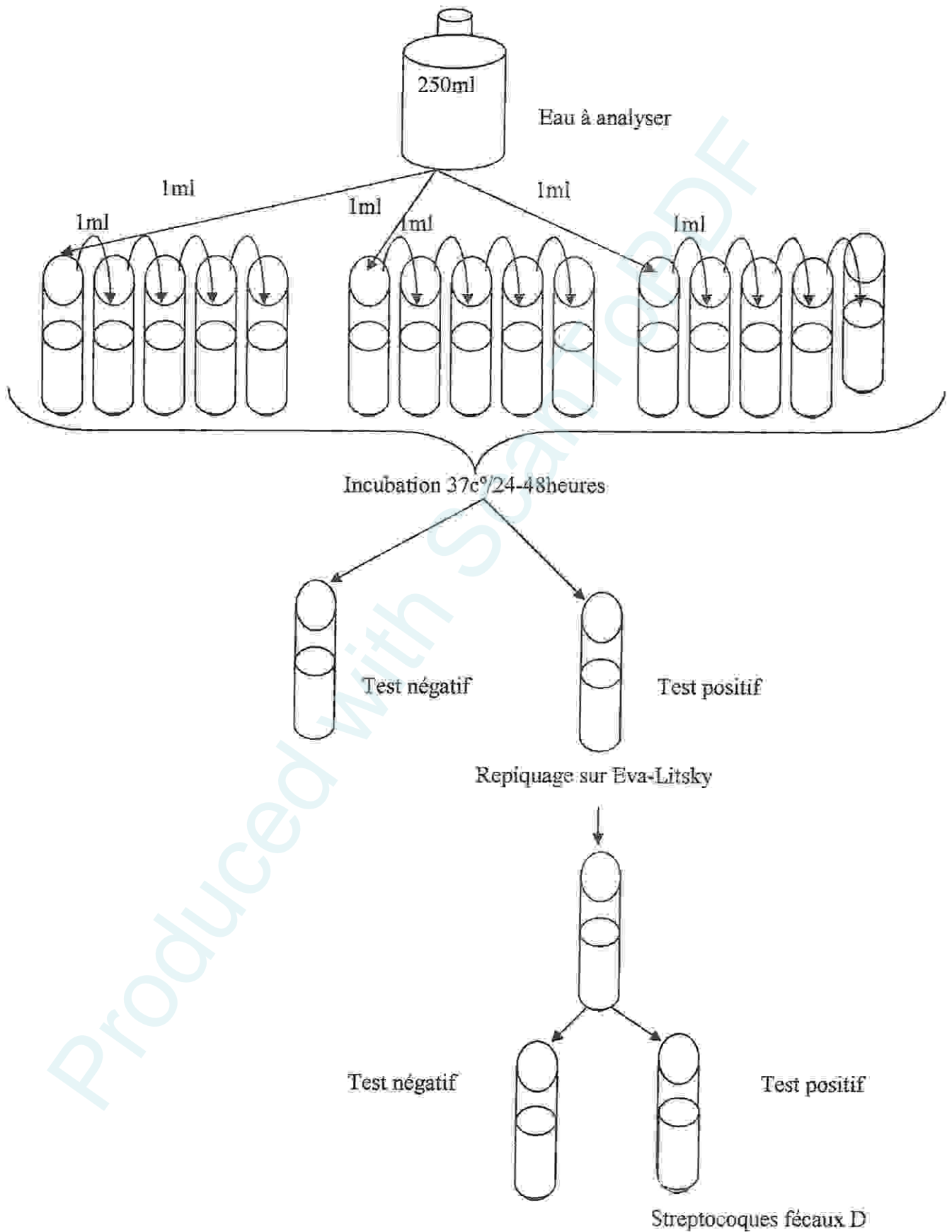


Fig.17.Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.

5.4. Recherche des germes pathogènes (ensemencement sur gélose) :

- Les géloses employées sont:

*gélose nutritive, * gélose Chapman, *gélose Mac- Conkey, * gélose SS (*Shigella-Salmonella*), * gélose Sabouraud, * gélose Hektoen.

- L'inoculum est prélevé directement à partir de l'eau à analyser est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface.

- L'ensemencement par stries est pratiqué le plus souvent dans un but d'isolement

- Les boîtes sont codées puis incubées à 37°C pendant 24-48h (Rodier, 2005).

5.4.1. Recherche des staphylocoques :

Après ensemencement de l'échantillon sur le milieu Chapman et son incubation les souches de *Staphylococcus aureus* sont de taille importante et élaborent leur propre pigment; elles apparaissent en jaune, surmontant une zone jaune du milieu sous la membrane, par suite de la fermentation du mannitol. D'autres espèces de staphylocoque peuvent donner naissance à de petites colonies qui le plus souvent ne se colorent pas et ne modifient pas la teinte du milieu.

Les colonies suspects, ou si elles sont très nombreuses pourront être confirmées par:

-un examen microscopique après coloration de Gram.

-un test à la catalase qui doit être positif.

-un test à la coagulase. (Rodier, 2005).

5.4.2. Recherche des *Salmonella*, *Shigella*:

Après ensemencement de l'échantillon sur le milieu SS (*Salmonella- Shigella*) et son incubation à 37°C pendant 24h, des colonies apparaissent de couleur blanches et de couleur vertes au centre noir, seront identifiées par le système API 20E.

5.4.3. Recherche des levures :

Nous ensemencerons l'échantillon à étudier sur un milieu gélosé (Sabouraud) c'est un milieu qui permet la croissance des moisissures et levures. On met les boîtes à

l'étuve à 22°C pendant 24h après la pousse des colonies nous réalisons une coloration de Gram.

5.5. Tests complémentaires :

5.5.1. Coloration de Gram :

A partir de colonies suspects isolés sur les milieux de cultures, nous avons réalisé une coloration de Gram.

-Principe:

La coloration de Gram ou coloration différentielle s'effectue selon les étapes suivantes:

-**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.

-**Mordantage**: laisser agir le Lugol pendant 1mn puis rinçage avec de l'eau.

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

-**Recoloration**: laisser agir la solution de Fushine pendant 30 à 40 secondes.

Laver à l'eau et enfin sécher (Lassoued et Touhami, 2008).

5.5.2. Test catalase :

Ce test sert notamment à différencier les bactéries de la famille des exemples: Micrococcaceae (*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Kocuria*... ..) catalase+, de celle des exemples: Stertococcaceae (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*....) catalase- (Delarras, 2003).

- Méthode de travail:

Sur une lame porte-objet, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10volumes, puis émulsionner une ose de bactérie prélevée sur la culture en milieu gélosé de la souche. Si un dégagement de bulles de gaz (oxygène) apparaît le test dit positif (Delarras, 2003) (Fig.18).



Fig.18. Test catalase.

5.5.3. Mise en évidence d'une coagulase:

Ce test est utilisé en bactériologie médicale ou des eaux pour caractériser des souches de *Staphylococcus aureus* isolée sur le milieu de Chapman. (Delarras, 2003)

-Méthode de travail:

On mélange dans un tube à hémolyse stérile 0.5ml de plasma et 0.5ml de la culture en bouillon de la souche à étudier. Mettre à incuber à 37°C. Une coagulation rapide, en moins de trois heures, et massive (le tube peut être retourné) survient généralement pour les souches de *Staphylococcus aureus*. Une coagulation plus tardive (avant la 24^e heure cependant) et plus légère doit cependant être considérée comme positive.

Conclure: présence ou (absence) de *Staphylococcus aureus* (Rodier, 2005).

5.5.4. La galerie API 20E :

La galerie API20E est un system pour l'identification des Entérobactériaceae et autre bacilles Gram négatif. Utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés ainsi qu'une base de données (Chibani et al, 2007) (Fig. 19)



Fig.19. La galerie API20E.

***-Principe:**

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. 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 20E (Chibani *et al*, 2007).

***-Mode opératoire:**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes:

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 05ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir tubes et cupules des tests: CTI, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests: ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupules avec l'huile de vaseline.
- Renfermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 18-24h. (Delarras, 1998) (Fig.20.a.b)

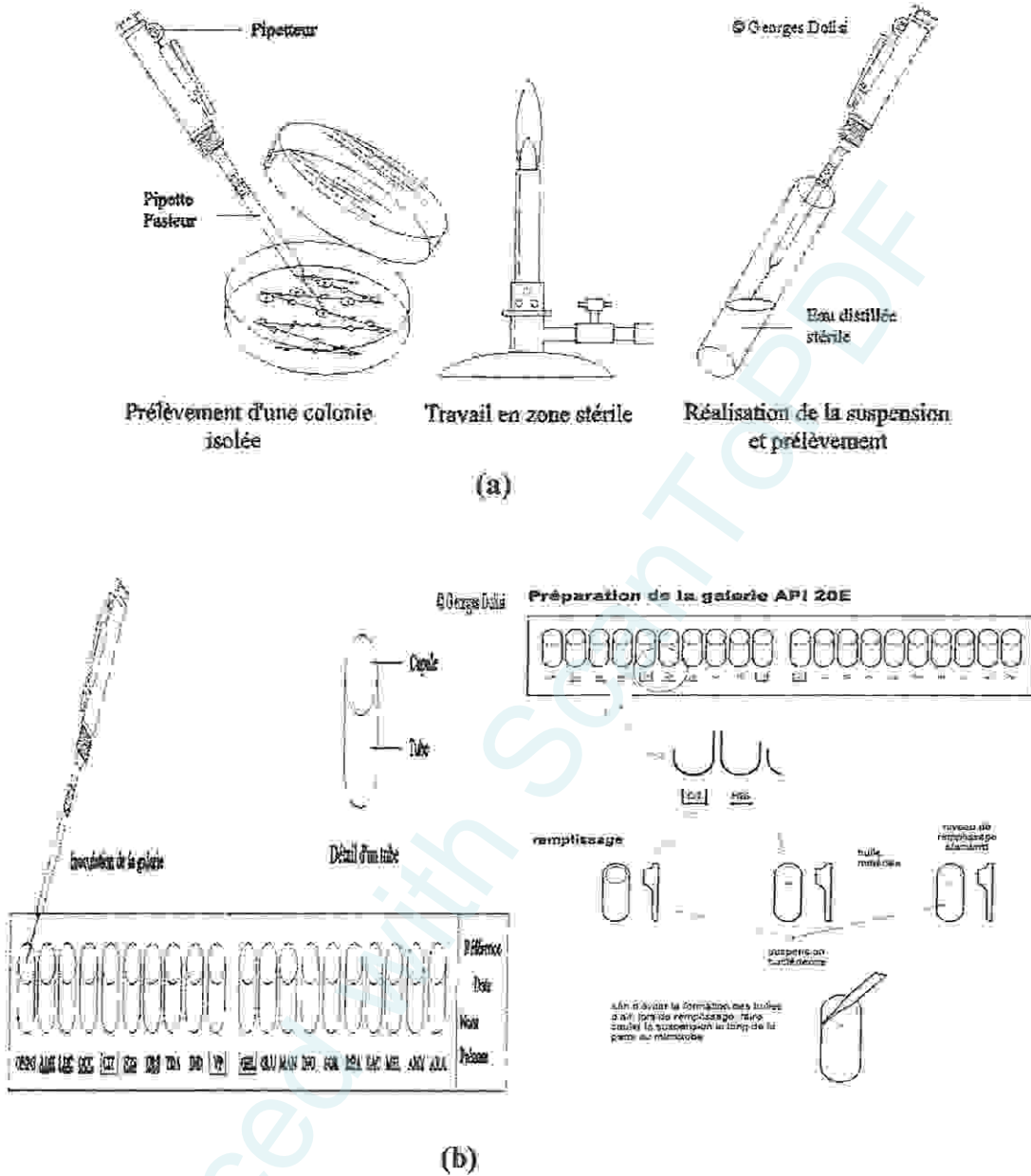


Fig.20.a.b.Mode opératoire de l'API 20E

***-Lecture :**

- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.
- Si le glucose est positif et/ou si 03 tests ou plus sont positifs: révéler les tests nécessitant l'addition des réactifs:
 - Test VP: ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2 .Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
 - Test TDA: ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncé indique une réaction positive.

-Test IND: ajoute une goutte de réactif de Kowacs. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

-La lecture doit se faire selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API20E. (Aouissi et al. 2007) (Fig.20.c)

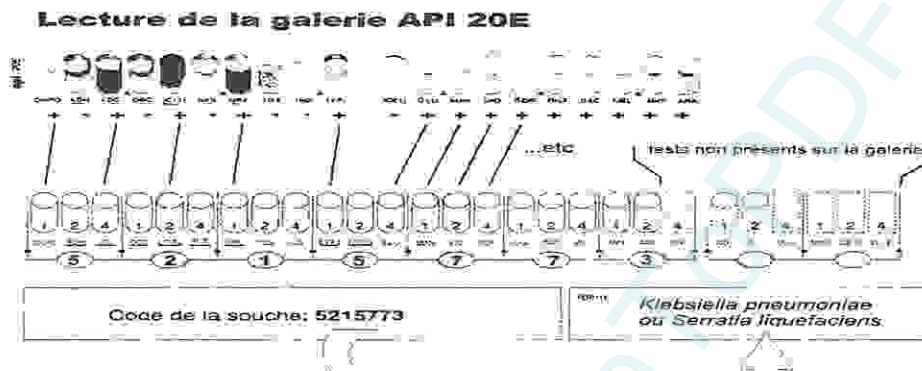


Fig.20.c. la lecture de l'API 20 E.

6. Méthode d'analyse physico-chimique

La détermination des paramètres physico-chimiques peut être effectuée sur les eaux usées résiduaires urbaines (ERU) brute ou sur les effluents après traitement. Bien qu'ils ne figurent pas dans les normes de rejet des stations d'épurations, hormis le pH, ils sont susceptibles de fournir des renseignements utiles pour apprécier la qualité de ces eaux ainsi que la qualité du traitement effectué. Leur mesure peut être réalisée également à différents endroits de la filière de traitement de l'eau et apporter ainsi de précieux renseignements sur le déroulement de l'épuration, permettant de conduire et d'améliorer le traitement. Ils sont donc indispensables au responsable de la station d'épuration (Rejsek, 2002).

6.1. les paramètres physiques:

6.1.1 La température :

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout du gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, dans la

détermination du pH pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges. (Rodier, 1989)

La température influence aussi directement la réaction de dissolution de l'oxygène dans l'eau c'est à dire plus l'eau est froide plus la dissolution est importante. [11]

6.1.2. Potentiel hydrogène pH :

6.1.2.1. Principe :

Le pH est un facteur physique qui participe au même titre que la conductivité, l'alcalinité, la température à la répartition des organismes dans les écosystèmes aquatiques. Ainsi pour une reproduction piscicole acceptable, le pH doit être compris entre 6,5 et 8,5.

Le Potentiel Hydrogène a une échelle de valeur allant de 0 à 14 et est utilisé pour mesurer le degré d'acidité.

6.1.2.2. Interet de la mesure du pH:

Le pH de l'eau traitée rejetée dans le milieu naturel va influencer la vie de la faune et de la flore de ce milieu. C'est pour cette raison que le PH des rejets de la station d'épuration doit être compris entre 6 et 8,5 (Rejsek, 2002).

6.1.2.3. Mode opératoire:

- Rincer l'électrode d'abord avec de l'eau distillée.
- Immerger l'électrode dans l'échantillon.
- faire la lecture après la stabilisation de pH au pH mètre.

6.1.3. La conductivité électrique :

Toute eau est plus ou moins conductrice du courant électrique, elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Elle dépend de la nature de ces ions et de leur concentration.

La conductivité électrique d'une eau augmente avec la température, car la mobilité des ions augmente avec elle (Rodier, 1989).

Donc la conductivité s'agit de la capacité de l'eau à conduire le courant. Elle renseigne sur le degré de minéralisation d'une eau, c'est-à-dire qu'elle traduit la présence d'ions dans l'eau brute (11).

6.1.3.2. Appareillage :

La température, le PH et la conductivité sont mesurées au même temps par le pH mètre à électrodes.

- Récipient contient l'eau à examiner. (Fig.21)

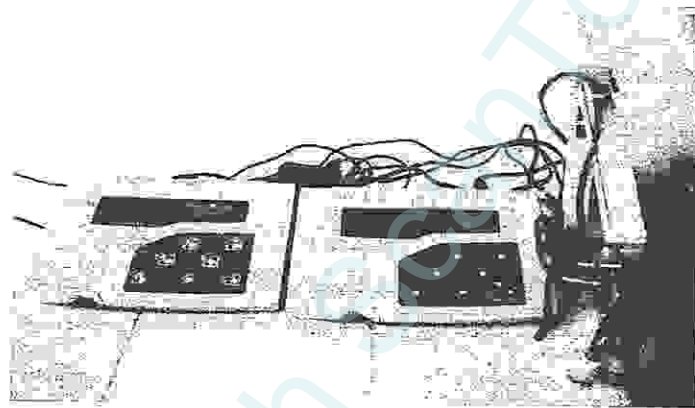


Fig.21. pH mètre, conductimètre.

6.1.3.3. Mode opératoire :

- Rincer plusieurs fois l'électrode de l'appareil d'abord avec de l'eau distillée.
- plonger l'électrode dans le récipient qui contient l'eau à examiner en prenant soin que l'électrode soit complètement immergée (Boubidi et *al.*, 2008).
- faire la lecture.

6.2. Les paramètres Chimiques :

6.2.1. La demande biochimique en oxygène DBO :

La demande biochimique en oxygène exprime la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction ou à la dégradation des matières organiques d'une eau par les micro-organismes du milieu. Il s'agit d'un paramètre mesurant une oxydation biologique des matières organiques qui fait intervenir des réactions enzymatiques complexes intra ou extracellulaires (Rodier, 2005).

Il s'agit donc d'une consommation partielle de dioxygène par voie biologique. Ce paramètre constitue un bon indicateur de la teneur en matière organique biodégradable d'une eau au cours des procédés d'autoépuration. (Rejsek, 2002)

6.2.1.1. Principe d'analyse :

La DBO est mesurée au bout de 5 jours à 20°C (T° favorable à l'activité des microorganismes consommateurs d'oxygène) et à l'obscurité (afin d'éviter toute photosynthèse parasite).

- 02 échantillons sont nécessaires ; le 1^{er} sert à la mesure de la concentration initiale en O₂, et le second à la mesure de la concentration résiduaire en O₂ au bout de 5 jours .

- la DBO₅ est la différence entre les O₂ concentrations.

Les mesures seront effectuées sur un même volume et le second échantillon sera conservé 5 jours à l'obscurité et à 20°C (Hakmi, 2002).

6.2.1.2. Matériel:

- Oxymètre
- Agitateur magnétique.
- Aérateur.
- Flacon

Eau ultra pure pour la dilution (Fig.23).

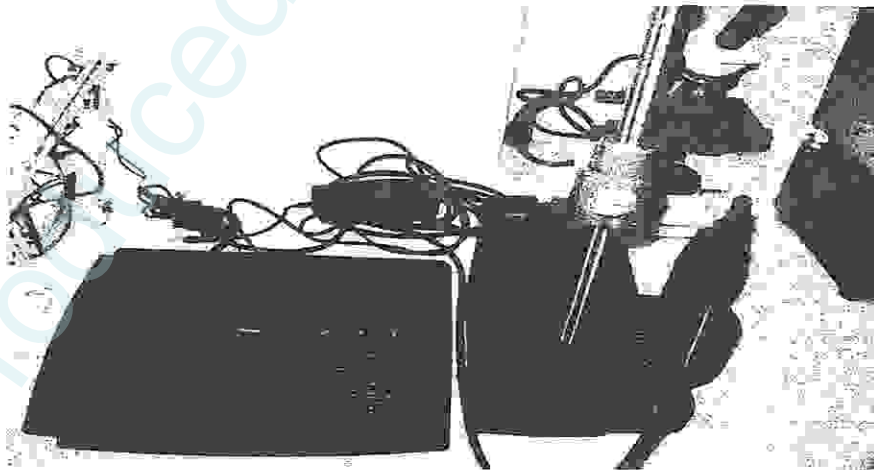


Fig.23. L'installation pour mesurer la DBO₅.

6.2.1.3. Protocole opératoire :**1. Préparation de l'eau de dilution:**

Mettre la vielle de prélèvement, dans un récipient de 10l de l'eau du robinet dans la quelle on plonge pendant 24h un aérateur pour la saturation en O₂ laisser reposer 12h. Le facteur de dilution pour une eau usée et de 50 à 100 (DBO moyen =300mg/l pour un effluent domestique) (Rejsek, 2002).

2. Préparation des flacons de mesure :

-Verser dans le flacon un peu d'eau de dilution puis la quantité prévue d'échantillon puis remplir le reste du flacon avec de l'eau de dilution.

-Fermer le flacon sans y laisser d'air pénétrer.

- Faire ainsi 2 flacons identiques.

***Mesure de temps:**

Doser l'O₂ dissous dans 1 flacon d'échantillon dilué (T° en mg/l).

***Incubation**

Placer les 02 flacons restant à l'étuve 20°C et à l'obscurité pendant 5jours.

*** Mesure au temps 5jours :**

Doser l'O₂ dans le flacon d'échantillon dilué pestant (T5 en mg/l). (Rejsek, 2002)

6.2.1.4. Résultat :

La lecture se fait comme suit:

$$DBO = F (T_0 - T_5).$$

6. 2.2. Les matières en suspension MES :**6.2.2.1. Définition :**

Ce sont des particules solides très fines et généralement visibles à l'oeil nu, théoriquement, elles ne sont ni solubilisées, ni à l'état colloïdale. Elles déterminent la turbidité de l'eau. Elles limitent la pénétration de la lumière dans l'eau, la teneur en oxygène dissous et nuisent au développement de la vie aquatique.

Ces matières sont en relation avec la turbidité, leur mesure donne une première indication sur la teneur en matière colloïdale d'origine minérale ou organique. (Hakmi, 1994)

La mesure des MES permet d'apprécier la charge solide en suspension d'une eau naturelle ou résiduaire. (Rejsek, 2002)

6.2.2.2. Principe d'analyse:

On évalue le poids sec du résidu, obtenu par filtration de l'échantillon d'eau après passage à l'étuve à 105°C.

6.2.2.3. Matériels:

*dispositif de filtration (trompe à eau, fiole et entonnoir de filtration).

*disque filtrant en fibre.

*Etuve à 105°C.

*balance de précision. (Rejsek, 2002).

*dessiccateur. (Fig.24 a, b, c)



Fig.24a. Dessiccateur.



Fig.24b. Filtre à pompe.



Fig.24c. Etuve à 105°C.

6.2.2.4. Protocole opératoire :

* préparation des filtres :

Laver les filtres à l'eau distillée, et après on les sèche à l'étuve (pendant une heure à 105°C), ensuite on les place en attente dans le dessiccateur (Hakmi, 2002).

*** La méthode :**

- prendre le filtre et le peser et marquer le poids comme M_0 mg.
- Ensuite placer le disque dans l'appareil de filtration et on met en route le système d'aspiration.
- Verser progressivement le volume d'eau (1000ml) à analyser sur le disque filtrant.
- Mettre le disque dans l'étuve pendant 1h à 105°C.
- Laisse le filtre refroidir au dessiccateur.
- après peser le filtre et on marque le poids comme M_1 (Rejsek, 2002).

6.2.2.5. Résultat:

La lecture se fait comme suit:

$$MES = \frac{M_1 - M_0}{1000} \text{ (mg/l)} \quad (\text{Rodier, 2005}).$$

6.2.3. La demande chimique en oxygène DCO :

La demande chimique en oxygène qui correspond à la quantité d'oxygène (en milligramme) qui a été consommée par voie chimique pour oxyder l'ensemble des matières oxydables présentes dans l'eau. La DCO est particulièrement indiquée pour mesurer la pollution d'un effluent industriel (Rodier, 2005).

6.2.3.1. Principe :

Cette détermination comprend deux étapes:

***1étape: oxydation chimique des matières réductrices contenues dans l'eau, par excès de dichromate de potassium.**

Cette oxydation se réalise en milieu sulfurique (H_2SO_4), en présence de sulfate d'argent (Ag_2SO_4) à ébullition à reflux pendant 2h dans un ballon ou dans un tube muni d'un réfrigérant.

Les conditions d'oxydation à chaud et en milieu sulfurique permettent également d'oxyder de nombreux constituants organiques et elle permet aussi l'oxydation de constituants minéraux réduits comme les sulfures, les sulfites, chlorures et...etc.

Dans le cas de chlorures :



***2 étape: dosage de l'excès de dichromate de potassium par le sel de Mohr après refroidissement.**

La fin du dosage est détecté par la ferroïne indicateur redox .sa forme oxydée est de couleur bleu-vert en présence de l'oxydant et la première goutte de sel de mohr en excès entraîne un changement de coloration de la ferroïne qui devient rouge brique (forme réduite). (Rodier, 2005)

Selon la réaction suivante:



6.2.3.2. Domaine d'application :

Cette norme est applicable pour toutes les eaux dont la DCO est supérieure à 30mg/l et la valeur maximale de la DCO pouvant être déterminée dans les conditions de la norme et sans dilution est de 700mg/l (Rejsek, 2002).

6.2.3.3. Matériel:

- Réacteur DCO.
- Flacon DCO + réfrigérant.
- Pipettes : 5ml, 10ml
- Pipetern. (Fig.28)



Fig.25. l'installation pour mesurer la DCO.

6.2.3.4. Mode opératoire:

*Etalonnage de la solution de sel de mohr à environ 0,12mol/l.

La solution de sel de mohr s'oxyde facilement d'où la nécessité de la titrer quotidiennement.

-prélever 5ml de solution de $K_2Cr_2O_7$ à 0.040mol/l et diluer à 100ml avec H_2SO_4 à 4mol/l.

-titrer avec la solution de sel de mohr en présence de 2à3 gouttes de ferroïne.

-déterminer la concentration molaire du sel de mohr à partir des équations des réactions.

*Préparation de l'essai:

Avant le prélèvement de la prise d'essai l'échantillon doit être soigneusement homogénéisé par agitation du flacon.

Dans un tube à fond plat de DCO introduire:

-10ml d'eau à analyser.

-5ml de $K_2Cr_2O_7$.

-si la valeur de la DCO est supposée excéder 700mg/l, procéder à une dilution de manière à obtenir une valeur comprise entre 350 et 700mg/l.

-ajouter quelques granules régulateurs d'ébullition et homogénéiser.

-ajouter lentement et avec précaution 15ml d'acide sulfurique-sulfate d'argent en agitant soigneusement le tube et en le refroidissant sous un courant d'eau froid ou dans un bain de glace de façon à éviter toute perte de substance organique volatiles (Rejsek, 2002).

6.2.3.5. Expression des résultats :

La demande chimique en oxygène DCO exprimé en mg d' O_2 /l, est donnée par la formule de la norme :

$$DCO = \frac{8000 \cdot C_{Fe} \cdot (VT - Ve)}{E}$$

C_{Fe} : c'est la concentration exprimée en mole par litre de la solution de sel de mohr déterminée par étalonnage.

E : volume prise d'essai en ml (Rejsek, 2002).

chapitre III

Produced with ScantOPDF

1- Analyse bactériologique :

1-1 Dénombrements :

1-1-1 Germes totaux :

Les dénombrements microbiens ont donné des nappes confluentes dans toutes les boîtes de Pétri et ceci se traduit par la présence d'un effectif très élevé de germes banales et saprophytes qui prolifèrent dans l'eau étudiée.

Les résultats de nos analyses sont montrés dans le graphe suivant :

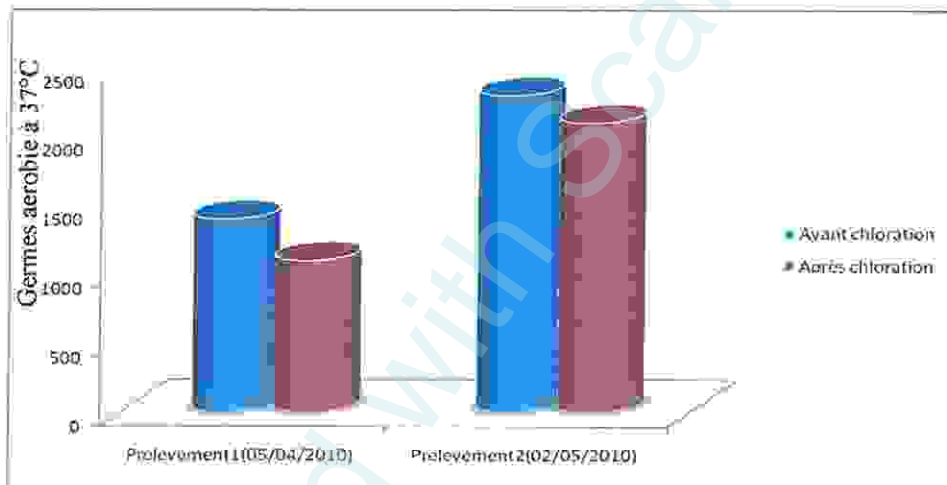


Fig. 26. Présentation graphique des germes totaux

Nous observons que le nombre de germes totaux à diminuer après chloration (sortie finale) pour les deux prélèvements, malgré que cette diminution n'est pas importante. Le nombre de ces germes est moins élevé dans le premier prélèvement que dans le second et cela est dû à l'influence de la température d'une part et à la précipitation d'autre part.

1-1-2 coliformes :

La présence en effet élevée des coliformes dans un milieu indique une contamination fécale. Les résultats concernant la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux sont résumés dans les tableaux suivants.

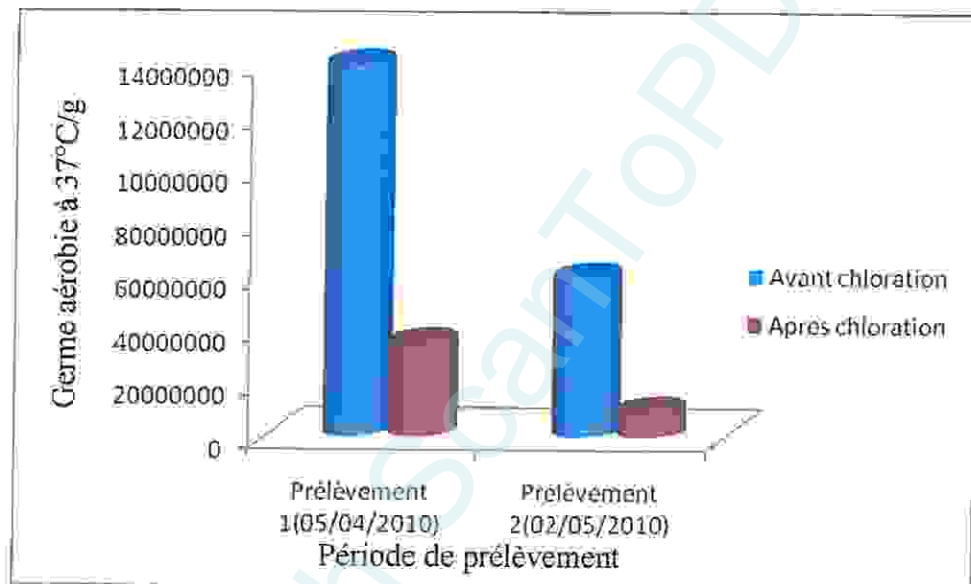


Fig. 27. Représentation graphique des coliformes totaux

Le traitement des coliformes totaux par chloration bien qu'il ne fait à laire libre dans des bassins permet de chuter (ou diminuer) l'effectif total des coliformes quelque soit la date de prélèvement, en effet cette diminution de 16% à 25%.



Fig. 28. Résultats du test présomptif (coliformes totaux).

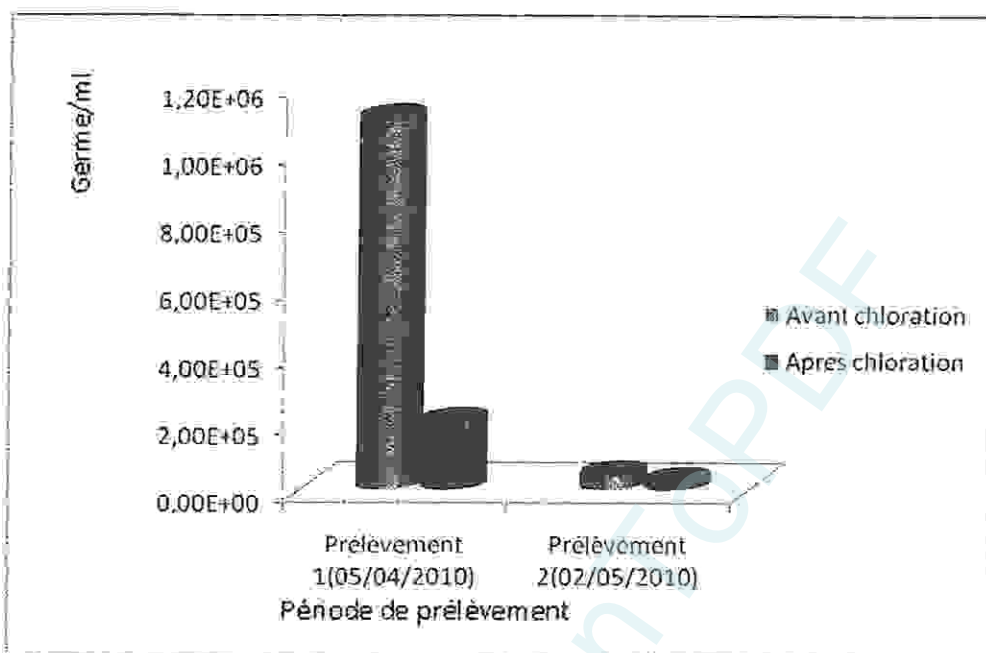


Fig. 29. Représentation graphique des coliformes fécaux

Les mêmes constatations sont à noter pour les coliformes fécaux où la chloration a produit des réductions variant entre 18% et 55%.



Fig. 31. Résultats du test confirmatif (coliformes fécaux)

1-1-3 streptocoques fécaux :

Le nombre des streptocoques fécaux dans l'eau est liée à la quantité et à la concentration de la matière fécale dans cette eau (Guiraud, 1998). Ces bactéries sont très sensibles aux variations physico-chimiques du milieu et indique souvent une contamination récente du milieu.

Les résultats de leurs recherches sont exprimés dans le graphe suivant :

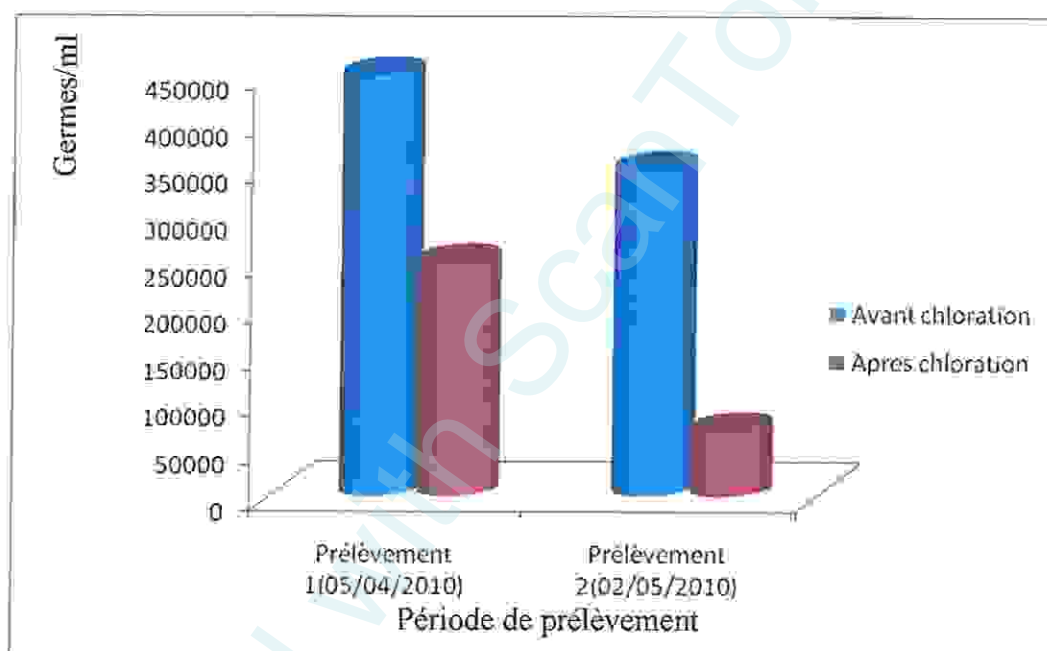
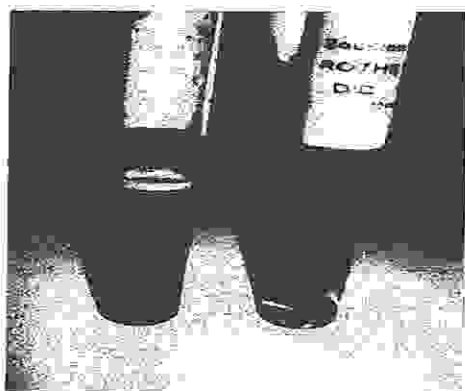
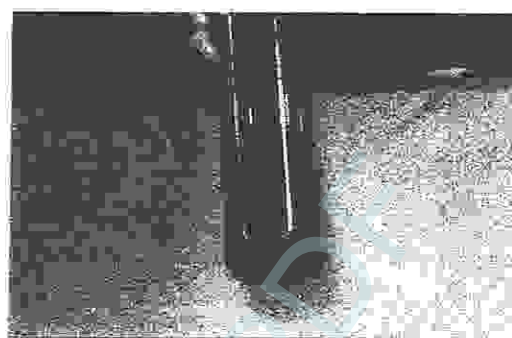


Fig. 32. Représentation graphique des streptocoques fécaux

Le graphe de streptocoque D montre que le nombre de ces germes a diminué après chloration avec un degré remarquable dans le second prélèvement et cela dû à l'élévation de la température qui est le seul facteur influençant le développement et la croissance de ces germes.



a- test présomptif



b- test confirmatif

Fig. 33. Résultats des streptocoques fécaux.

1-2 Recherche des germes pathogènes :



Fig. 34. Les milieux géloses utilisés pour la recherche des germes pathogènes.

Tab.6. Aspect macroscopique et microscopique ainsi que les tests réalisés.

Aspect macroscopique		tests		
Milieux	Caractéristiques	catalase	coagulase	Coloration de gram
Chapman	-colonies blanches -jaunes dorées	Catalase positif de colonies blanches	Coagulase positif de colonies blanches	Cocci mauve Gram (+) groupées en amas
Mac Conkey	- colonies roses lactose(+) et marron lactose (-)	-	-	Bacilles roses Gram (-)
S-S	- colonies blanches	-	-	Bacilles roses Gram(-)
Hectoen	- colonies jaunes lactose (+) -colonies vertes lactose (-)	-	-	Bacilles roses Gram (-)
Sabouraud	Levures et champignons	-	-	Cocci colorées en bleu et des hyphes bleu



Fig. 34. Aspect des colonies sur gélose Mac-Conkey.

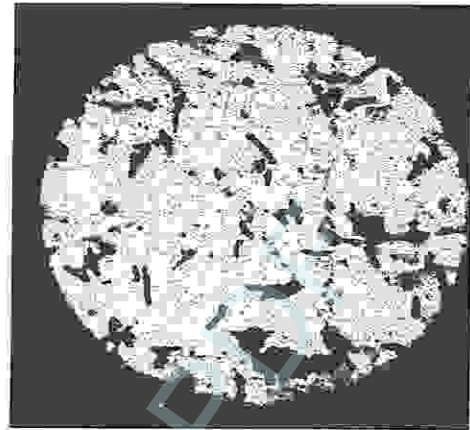


Fig. 35. Aspect des bacilles Gram (-).



Fig. 36. Aspect des colonies sur gélose Chapman.

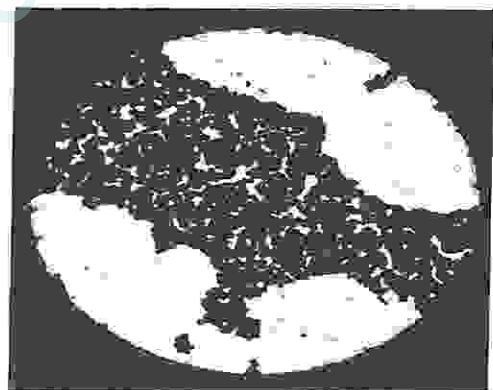


Fig. 37. Aspect des cocci Gram (+).

Tab. 7. Résultats des API 20E.

		milieu	colonies	codes	Espèces
Prélèvement 1(05/04/2010)	Avant chloration	SS	Colonies blanches	5215773	<i>Pneumoniae klebsella</i>
		Hectoën	Colonies vertes lactose (-)	1344123	<i>Citrobacter diversus</i>
		Mac Conkey	Colonies marron lactose (-)	3604153	<i>Citrobacter freundii</i>
	Après chloration	Mac Conkey	Colonies marron lactose (-)	3604153	<i>Citrobacter freundii</i>
Prélèvement 2(02/05/2010)	Avant chloration	SS	Colonies blanches	0704573	<i>Citrobacter freundii</i>
		Mac Conkey	Colonies marron lactose (-)	1475073	<i>Citrobacter diversus</i>
	Après chloration	Mac Conkey	Colonies marron lactose (-)	4277771	<i>Serratia ordorifra</i>

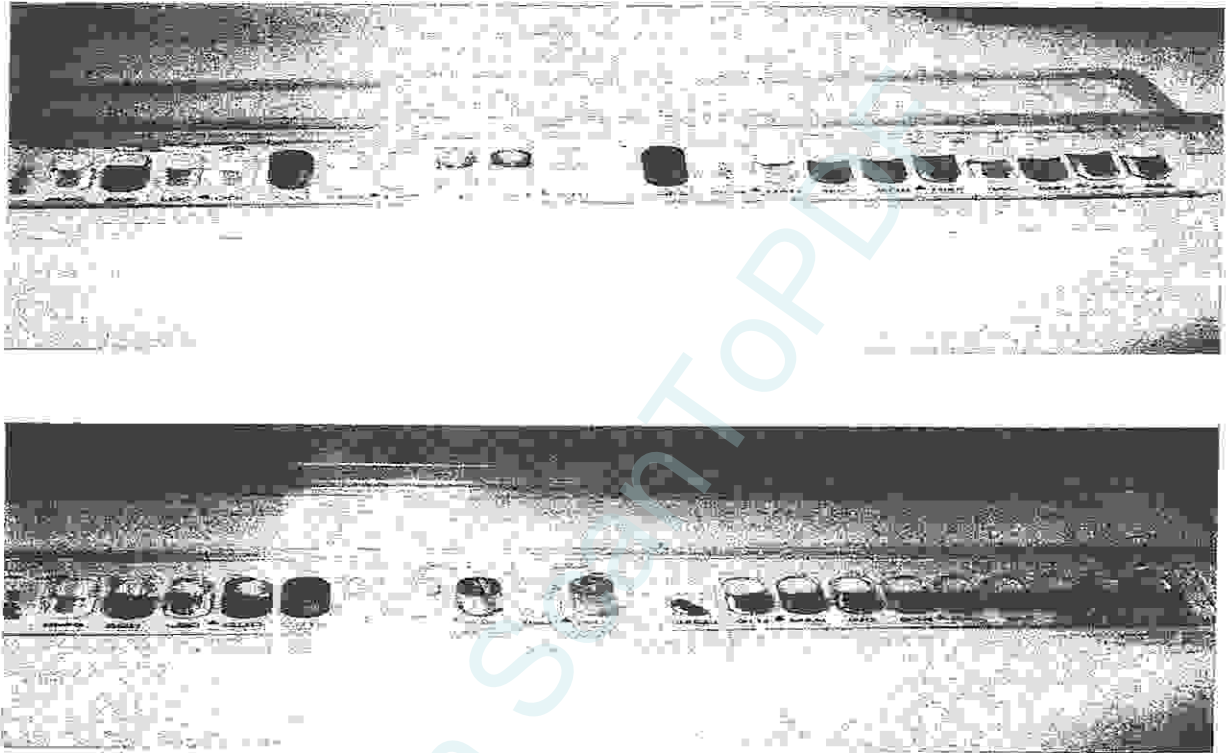


Fig. 38. Résultats des API 20E.

2-Résultats des analyses physico-chimiques :

2-1 La température (T°C) :

La température est un facteur écologique très important qui a une grande influence sur la propriété physico-chimique des eaux (Ramade, 1993). Pour les eaux usées la température a tendance à augmenter avec l'évolution des saisons, de l'hiver au printemps. Il faut signaler aussi que la situation de la station d'épuration peut influencer ce paramètre avec un certain pourcentage (Gaujous, 1995).

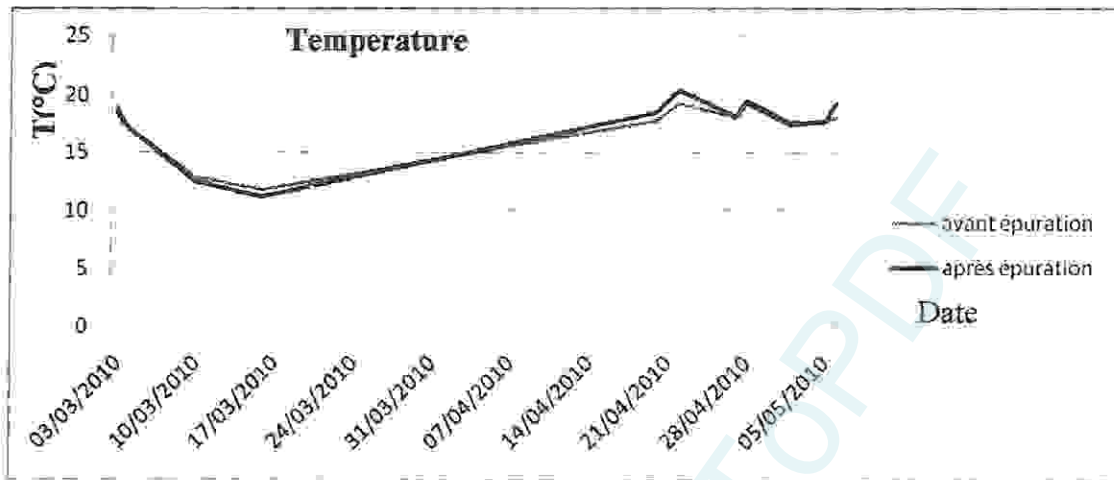


Fig. 39. Evolution de la température avant et après l'épuration.

D'une manière générale l'évolution des graphiques de température avant et après chloration sont similaires et se situent entre des fourchettes permettant une prolifération microbienne intense.

2-2 Le potentiel Hydrogène (pH) :

Le pH est facteur important qui influence directement la prolifération des micro-organismes dans l'eau. Ces derniers prolifèrent normalement aux alentours d'un pH voisin de la neutralité. Le pH peut être aussi influencé par d'autres facteurs tel que la température (Simmons et Meunier, 1970 ; Leclerc, 1983).

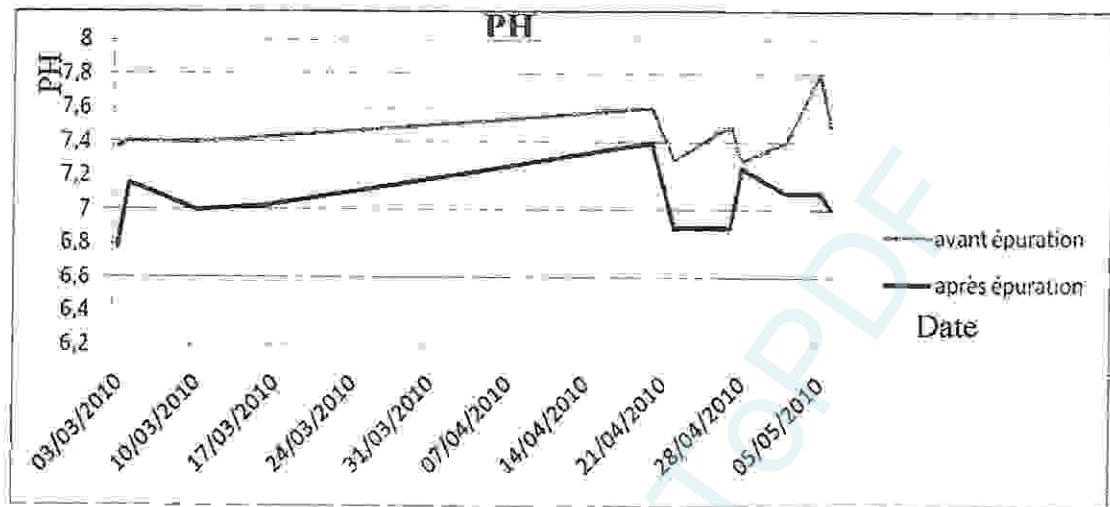


Fig. 40. Evolution de PH avant et après l'épuration.

L'eau de la station d'épuration a présenté pendant toute la durée de l'étude des valeurs de PH plus au moins stable qui varient entre 6.8-7.8 favorisent une prolifération et une multiplication intense d'un grand nombre des microorganismes.

2-3 La conductivité électrique :

La conductivité s'agit de la capacité de l'eau à conduire le courant. Elle renseigne sur le degré de minéralisation d'une eau, c'est-à-dire qu'elle traduit la présence d'ions dans l'eau brute.

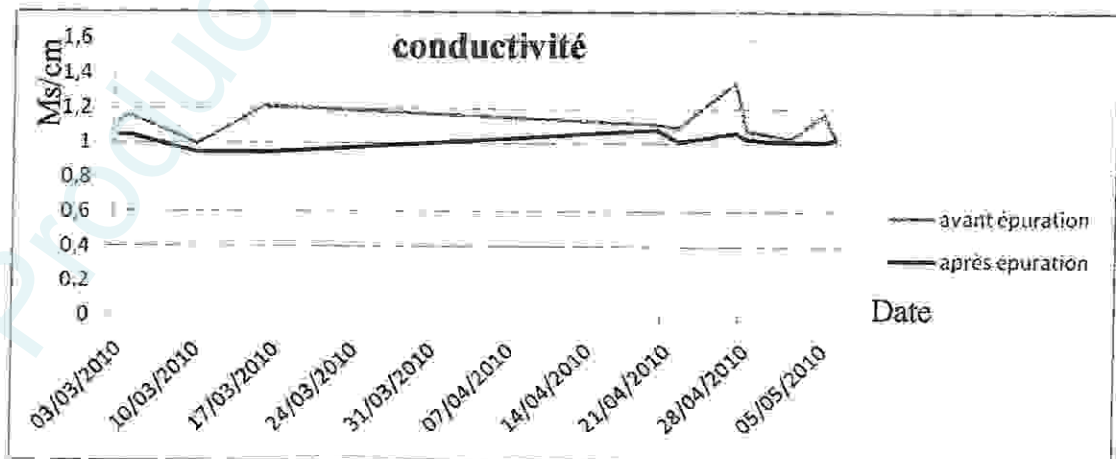


Fig. 41. Evolution de la conductivité avant et après l'épuration

La conductivité électrique d'une eau augmente avec la température, car la mobilité des ions augmente avec elle.

2-4 La demande biochimique en oxygène DBO5 :

L'effet principal d'un rejet de matière organique biodégradable dans le milieu naturel est la consommation progressive de l'O₂ qui en résulte (Resjek, 2002).

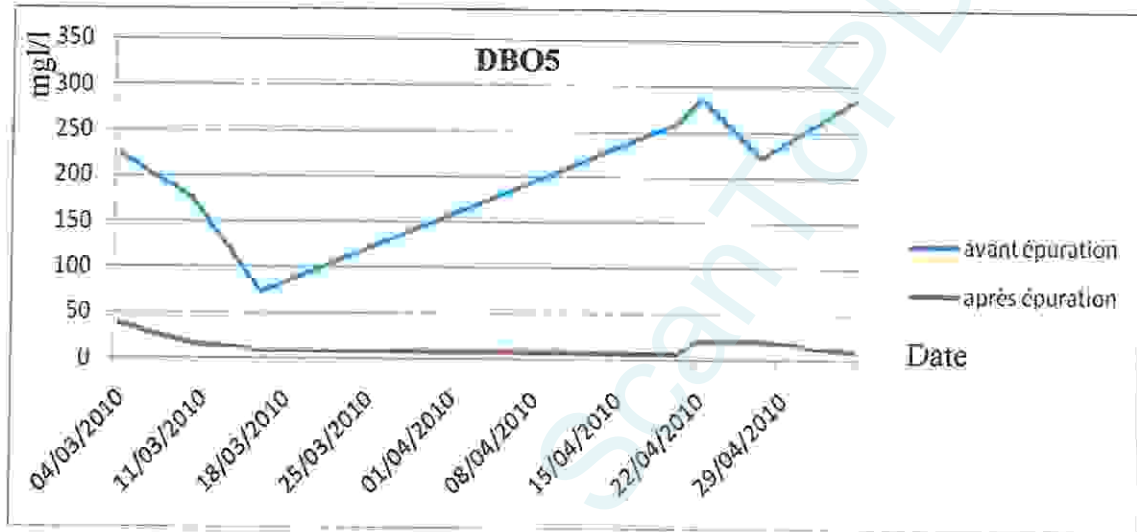


Fig. 42. Evolution des DBO5 avant et après l'épuration.

Avant chloration les valeurs augmentent progressivement pendant toute l'étude et atteignent un maximum de 287 mg/l pendant le prélèvement de 22/04/2010, cette croissance est due à la charge de la matière organique dans les effluents.

Après chloration, le taux de DBO5 diminue d'une façon remarquable pour atteindre une valeur de 7 mg/l, cette diminution est due à la consommation d'O₂ par les micro-organismes pour la dégradation de la matière organique dans l'eau.

En effet le taux des deux courbes diminue de 13% à 7%.

2-5 Les matières en suspension (MES) :

Le teneur des matières en suspension variant de manière régulière de l'entrée à la sortie de la STEP avec des faux importants durant l'hiver.

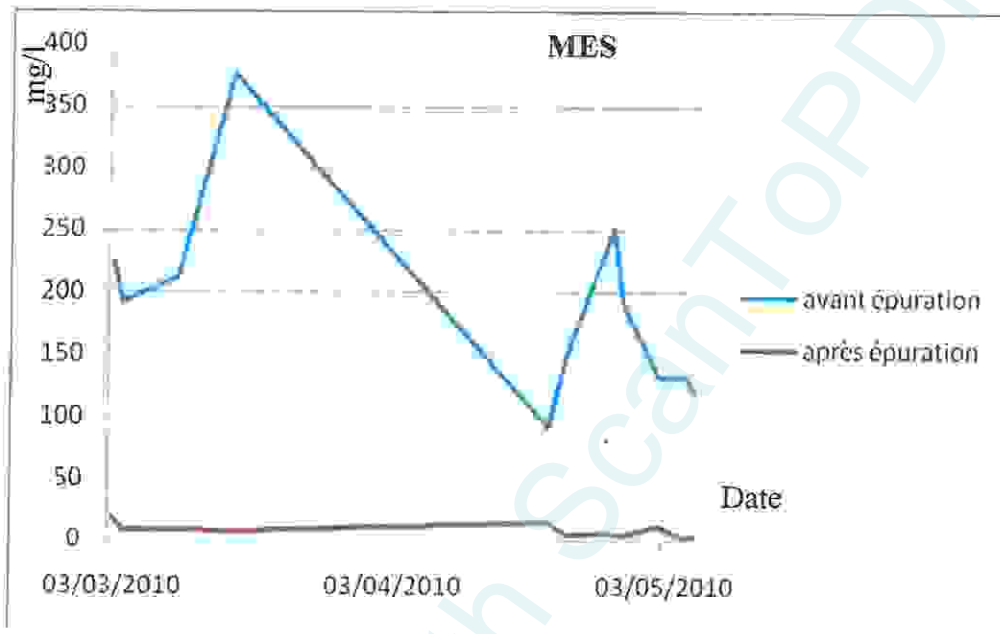


Fig. 43. Evolution des MES avant et après l'épuration.

Selon le graphe nous observons que les valeurs de MES diminuent toujours de l'entrée à la sortie de la station.

Avant chloration ces concentrations présentent une certaine irrégularité, nous notons un maximum de 376 mg/l pendant le prélèvement de 16/03/2010 et un minimum de 92 mg/l de 20/04/2010. Cette évolution due à la variation de la charge des effluents d'une part et l'intensité de précipitation d'autre part.

A la sortie de STEP, ces concentrations montrent une baisse remarquable suite à leur élimination principalement au niveau de bassin d'aération.

2-6 La demande chimique en oxygène (DCO) :

La DCO est un test permet d'estimer la teneur en matière organique d'une eau et une mesure du carbone total. De ce fait nous pouvons dire que la charge polluant est très élevée en présence de la matière biodégradable car la DCO est supérieur à la DBO₅.

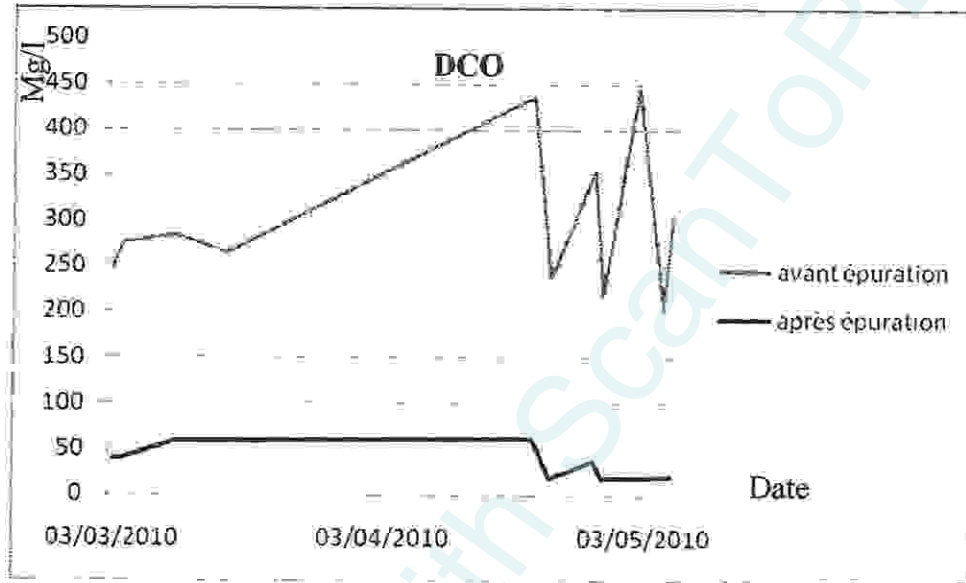


Fig. 44. Evolution des DCO avant et après l'épuration.

L'effet de l'épuration est très net sur la DCO. En effet, les valeurs très élevées varient de 200 à 400 mg/l chute brutalement à de valeurs varient aux alentours de 50 mg/l. De toutes manière ces valeurs étaient en augmentation concordante dès le début des prélèvements (avant épuration) mais restent plus ou moins stables tout le long de l'étude et diminue durant les trois derniers prélèvements.

CONCLUSION

Produced with ScantOPDF

Conclusion

Les eaux usées de la ville de Guelma sont traitées dans la station d'épuration, puis elles sont rejetées dans l'Oued Seybouse en attendant leur utilisation dans le périmètre d'irrigation très prochainement. Notre travail a pour objectif l'étude de la qualité physico-chimique et bactériologique de ces eaux avant et après épuration.

Il a été montré que la STEP de la ville de Guelma, dispose des diverses techniques de haute performance de traitement telles que : le prétraitement, traitement primaire, un traitement biologique là où l'aération dans le bassin biologique joue un rôle important dans l'épuration et le traitement idéal et parfait de cette eau, puis finalement un bassin de désinfection bien équipé là où se fait l'injection de chlore comme dernière étape d'épuration.

Les deux paramètres étudiés à savoir la température et les précipitations ont montré une influence directe sur la qualité des eaux usées dans la station.

Les résultats microbiologique obtenus, nous confirment une contamination d'origine fécale par la présence de coliformes totaux, de coliformes fécaux ainsi que *E coli*, la concentration de ces germes diminue sous l'effet du chlore mais reste quand même élevé au dessus des normes algérienne prévues.

L'analyse physico-chimique des éléments cibles à savoir : pH, température, conductivité, DBO5, DCO, MES, a montré une nette différence dans les teneurs de chaque paramètre étudié à l'entrée et à la sortie de la STEP, qui sont conformés aux normes Algérienne des rejets des eaux usées

Il a été constaté aussi que la zone industrielle qui ne dispose d'aucune station de traitement fonctionnelle, influe négativement sur la pureté de l'eau dans l'Oued et pour remédier et cerner le problème de la pollution, les stations d'épuration et de traitement devraient récupérer toutes les eaux usées et de les épurer afin de les rendre utilisables au moins dans les domaines de l'agriculture et de l'industrie.

-Résumé-

La station d'épuration de Guelma conçue sur un terrain agricole de 8 Hectares, est localisée à environ 1 kilomètre au Nord de la ville de Guelma. Celle a pour but essentiel de réduire la pollution en nettoyant les eaux usées. La filière de traitement utilisé est du type boues activées à moyenne charge.

La dépollution des eaux usées nécessite une succession d'étapes faisant appel à des traitements physico-chimiques et biologiques. L'étape la plus importante est le bassin de désinfection qui permet l'élimination des germes pathogènes existants dans cette eau usée.

Dans ce travail nous nous sommes investis à étudier la qualité microbiologique des eaux au niveau du bassin de désinfection avant et après chloration, et déterminer la qualité physico-chimique au niveau de l'entre et de la sortie de la STEP qui a montré réduction des nombres de micro-organismes qui restent malheureusement élevé et des diminutions nettes des taux physico-chimiques de l'eau.

Les mots clés : STEP de Guelma, eau usée, épuration, chloration, analyses physico-chimiques, analyses microbiologiques.

Produced with Scantopdf

- SUMMARY-

The plant designed Guelma on agricultural land 8 hectares, is located about one kilometer north of the city of Guelma. The essential aim of reducing pollution by cleaning up sewage. The treatment system used is the type activated sludge medium load.

The wastewater treatment requires a series of steps involving physic-chemical and microbiological. The most important step is the pool of infection that can eliminate pathogens existing in the wastewater.

In this work we have invested to study the microbiological water quality at the basin level disinfection before and after chlorination, and determine the physic-chemical level and between the output of the WWTP, which showed reduced numbers of micro organisms that unfortunately remain high and decreases in net rates physicochemical water.

Keywords: STEP Guelma, waste water treatment, chlorination, physic-chemical, microbiological analysis.

Produced with Scantopdf

الملخص

صممت محطة تصفية مياه قالمة على أراضي زراعية مساحتها 8 هكتارات ، وتقع على بعد 1 كم شمال مدينة قالمة. وهدفها الأساسي الحد من التلوث عن طريق تنظيف المجاري. نظام معالجة المياه المستخدمة وتويع الحمولة هو الحماية المنشطة المتوسطة.

معالجة مياه الصرف الصحي يتطلب سلسلة من الخطوات التي تنطوي على الدراسة الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية. أهم خطوة هي حوض التطهير حيث يمكن القضاء على مسببات الأمراض الموجودة في مياه الصرف الصحي.

في هذا العمل قمنا بدراسة نوعية المياه الميكروبيولوجية في حوض التطهير قبل وبعد المعالجة بالكلور ، وتحديد النوعية الفيزيائية الكيميائية قبل وبعد المعالجة، حيث أظهرت الدراسة انخفاض عدد الكائنات الحية الدقيقة مع انخفاض واضح في معدلات صافي المياه الفيزيائية.

كلمات البحث : محطة تصفية مياه قالمة ، المياه المستخدمة. معالجة المياه ، الكلور ، التحاليل الفيزيائية والكيميائية و الميكروبيولوجية.

Produced with Scantopdf

References bibliographiques

Produced with ScantOPDF

Annexe

Composition et mode de préparation des milieux et des réactifs utilisés

I. Milieux de cultures.

*BCPL: Bouillon Lactosé au Bromocrésol pourpre:

Composition:

-peptone	05g
-Extrait de viande	03g
-Lactose	05g
-Pourpre de Bromocrésol	0.0025g

pH =6.9

Préparation

- 12g poudre par litre d'eau distillée.
- Stérilisation des tubes préparés à 115°C pendant 20 minutes .

*BLBVB : Bouillon lactosé bilié au vert brillant :

Composition :

-Peptone	10,0g
-bile de bœuf	20,0ml
-Lactose	10,0 g
-vert brillant	0,013 g

pH=7,4

Préparation :

-40 g de poudre par litre d'eau distillée.

-Stérilisation des tubes préparés à 120°C pendant 15 minutes .

***Eau peptonée exempte d'indole :**

Composition :

-Peptone exempte d'indole 10,0g

-Chlorure de Sodium 5,0g

pH=7,2

Préparation :

-15g de par litre d'eau distillée.

-Stérilisation à 120°C pendant 15 minutes.

***Milieu d'Eva Litsky :**

Composition :

-Peptone 20g

-Glucose 5g

-Chlorure de sodium 5g

-Phosphate monopotassique 2,7g

-Phosphate bipotassique 2,7g

-Azothhydrate 0,3g

-ethyl-violet 0,0005g

pH=6,8-7

Préparation :

-35,7g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

-Stériliser à 115°C pendant 20 minutes.

***Milieu de Rothe :**

Composition :

-Peptone	20,0g
-Glucose	5,0g
-Azohydrate de sodium	0,2g
-NaCl	5,0g
-Hydrogénophosphate de potassium	2,7g
-Dihydrogénophosphate de potassium	2,7g

pH=6,8-7

Préparation :

-Pour obtenir Rothe simple concentration , il faut mettre 35,6g du milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

-Stériliser les préparations à 115°C pendant 20 minutes.

***Milieu de culture Chapman :**

Le milieu de Chapman mannité est un milieu sélectif pour la culture des staphylocoques.

Composition :

-Peptone bactériologique	10g /l
-Extrait de viande de bœuf	1g /l
-Chlorure de sodium	75g/l

-Mannitol	10g/l
-Rouge de phénol	0.025g/l
-Agar agar	15g/l

pH=7,5 (environ).

Préparation :

- Verser 111g de poudre dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter par ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser la préparation a l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

***Milieu de Mac ConKey :**

L'utilisation de ce milieu est recommandé pour isoler et numérer les entérobactéries dans les eaux, le lait et les matières alimentaires.il peut aussi être utilisé pour la recherche dans les matières fécales de *salmonella*, *shigella*, et des *E.coli* entéropathogènes pour le nourrisson.

Composition :

-Peptone bactériologique	20g/l
-sels biliaires	1,5g/l
-Chlorure de sodium	5g/l
-Lactose	10g/l
-Rouge neutre	0,03g/l
-Cristal violet	0,001g/l
-Agar agar	15g/l

pH=7,1 (environ).

Préparation :

- verser 51,5g de poudre dans 1litre d'eau distillée
- Faire bouillir jusqu'à dissolution complète.

-Stériliser la préparation a l'autoclave à 121°C pendant 15minutes.

-liquéfier au bain-marie bouillant et couler en boites de pétri

-Après solidification laisser sécher à l'étuve à 37°C (couvercle entre ouvert).

***Gélose Nutritive :**

La gélose nutritive est un milieu qui convient à la culture de tous les germes sans exception.

Composition :

-Peptone	5g/l
-Extrait de viande	1g/l
-Extrait de levure	2g/l
-Chlorure de sodium	5g/l
-Agar	15g/l

pH=7,4 (environ)

Préparation :

-Verser 28g de poudre dans 1 litre

-Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

-Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

***Milieu Hektoen:**

La gélose Hektoen est un milieu utilisé pour l'isolement des entérobactéries. Il permet la différenciation des entérobactéries pathogènes.

Composition

-Protéose peptone	12g
-Extrait de levure	03g
-Chlorure de sodium	05g

-Citrate de sodium	10g
-Thiosulfate de sodium	08.5g
-Citrate de fer	01g
-Lactose	10g
-Rouge neutre	0.025g
-vert brillant	0.00033g
-Agar	15g

pH=7.0

Préparation

- verser 63g de poudre dans 1litre d'eau distillée.
- NE PAS AUTOCLAVER.
- Porter à ébullition en agitant fréquemment pour dissoudre l'agar.
- Refroidir à50°C; mélanger et couler en boîtes de Pétri.

II.Réactifs

Reactif TDA ; pour la recherche du tryptophane désaminase :

Peptone de fer.....	3,4g
Eau distillée.....	100ml