

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث 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 DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biologie Moléculaire des Procaryotes

540 2218

2011/2012

### Thème

**Contribution à l'étude du traitement des eaux usées  
de la ville de Guelma**

Présenté par :

DJEMAME Akila

MOUMENE Sara

Devant le jury composé de :

Président : Mme. KHALLEF Messaouda (M.A.).

Examineur : Melle. MERABET Rym (M.B.).

Promoteur : Mr. BENOURETH D.E (Pr.).



Juin 2011

## REMERCIEMENTS

*Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout d'abord et infiniment notre encadreur Pr. BEN OUARETH. D.E. qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, sa compétence et ses conseils pertinents ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.*

*Nous exprimons également notre reconnaissance à M<sup>ame</sup> Khallef M. et M<sup>ame</sup> Merabet R. qui ont accepté de participer à ce jury et de juger ce travail.*

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à Mr KEBEICHE.H. et BOUDJALEM.F. de nous avoir fait bénéficier de leur précieuse aide, leurs encouragements.*

*Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.*

Produced with Scantopdf

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils m'ont offert  
d'amour et d'affection*

*A mes sœurs :*

*Nassima, f.zohra:*

*A Sara mon binome*

*A mes amies :*

*Amel, Nedjla, Hiba et Naziha.*

*Aux doctorants :*

*Mouna, Meriem, Yacine et samer*

*A toute ma promotion : surtout Azzedine et Nadir*

*Akila*

Produced with Scantopdf

## Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils m'ont offert  
d'amour et d'affection*

*A ma sœur :*

*Hazar*

*A mes frères :*

*Adel, Issam, Riad et Walid*

*A Akila mon binome*

*A mes amies :*

*Amel, Nedjla, Hiba, Naziha.*

*Aux doctorants :*

*Meriem, Mouna, Yacine et Samer*

*A toute ma promotion : surtout Azzedine et Nadir*

*Sara*

Produced with Scantopdf

## Sommaire

Introduction	1
<b>Chapitre I : Généralités sur les eaux usées</b>	
1. Définition des eaux usées	2
2. Origine et composition des eaux usées	2
2.1. Les eaux domestiques	3
2.2. Les eaux industrielles	3
2.3. Les eaux pluviales	3
3. Les indicateurs de pollution	3
3.1. Les indicateurs physico-chimiques	3
3.1.1. La température	4
3.1.2. Le pH	4
3.1.3. La conductivité électrique	4
3.1.4. Les MES	5
3.1.5. La DBO <sub>5</sub>	5
3.1.6. La DCO	5
3.1.7. L'azote ammoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	6
3.1.8. Les nitrites (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	6
3.1.9. Les nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	7
3.1.10. L'orthophosphate (OPO <sub>4</sub> )	7
3.2. Les indicateurs bactériologiques des eaux usées	7
3.2.1. Les coliformes totaux	8
3.2.2. Les coliformes fécaux	8
3.2.3. Les streptocoques fécaux	9
3.2.4. Les germes pathogènes	9
3.2.4.1. Les salmonelles	9
3.2.4.2. Les staphylocoques	10
3.2.5. Les clostridium sulfite-réducteurs	10
4. Le domaine de réutilisation des eaux usées	10
<b>Chapitre II : Fonctionnement de la STEP</b>	
• Description de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma	12
1. Localisation	12
2. Emplacement et accès	12
3. Nature du réseau	13
4. Points de rejets (destination)	13
4.1. L'eau épurée	13
4.2. Les sous produits issus de l'épuration	13
5. Objectif du Traitement / Objectif de la STEP	13
6. Les étapes de traitement d'épuration des eaux usées	14
6.1. Le prétraitement (décantation primaire)	14
6.1.1. Dégrillage	14
6.1.2. Dessablage	15
6.1.3. Dégraissage-Déshuilage	15
6.2. Le traitement primaire	16
6.3. Le traitement secondaire (biologique)	16
6.3.1. L'élimination du carbone	17
6.3.2. L'élimination de l'azote	17
6.3.3. L'élimination de phosphore	17

6.4. Décantation secondaire .....	18
6.5. Désinfection .....	19
6.6. Traitement des boues.....	20
<hr/>	
<b>Chapitre III : Matériel et méthodes</b>	
<hr/>	
1. Le Prélèvement .....	22
1.1. Points de prélèvement .....	23
2. Méthodes d'analyse .....	23
2.1. Analyses bactériologiques .....	23
2.1.1. Recherche et dénombrement des germes totaux .....	23
2.1.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale .....	24
2.1.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux.....	25
2.1.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux .....	26
2.1.2.3. Recherche et dénombrement des spores d'anaérobies sulfito-réducteurs .....	28
2.1.3. Recherche des germes pathogènes .....	30
2.1.3.1. Recherche des staphylocoques.....	30
2.1.3.2. Recherche des salmonelles et des schigelles.....	30
2.1.4. Les tests d'identification .....	32
2.1.4.1. Les caractères cultureux et morphologiques.....	32
2.1.4.2. Les caractères biochimiques.....	32
2.2. Analyses physico-chimiques.....	37
2.2.1. La température .....	37
2.2.2. Le pH .....	37
2.2.3. La conductivité électrique.....	38
2.2.4. La DBO <sub>5</sub> .....	38
2.2.5. La DCO.....	40
2.2.6. L'azote ammoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) .....	41
<hr/>	
<b>Chapitre VI : Résultats et discussion</b>	
<hr/>	
1. Résultats des analyses bactériologiques .....	43
1.1. Germes totaux .....	43
1.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale .....	44
1.2.1. Coliformes totaux et fécaux .....	44
1.2.2. Streptocoques fécaux.....	45
1.2.3. Les anaérobies sulfito-réducteurs.....	45
1.3. Recherche des germes pathogènes .....	46
1.3.1. Staphylocoques .....	46
1.3.2. Salmonelles et schigelles.....	46
1.4. Identification des espèces bactériennes .....	46
1.4.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram .....	46
1.4.2. Caractères biochimiques.....	48
2. Résultats des analyses physico-chimiques.....	50
2.1. La température (T°).....	51
2.2. Le pH .....	52
2.3. La conductivité électrique.....	52
2.4. La DBO <sub>5</sub> .....	53
2.5. La DCO.....	53

2.6. L'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ )	54
Conclusion	55
Références bibliographiques.	
Annexes.	

Produced with ScantOPDF

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Coliformes fécaux.	08
02	Streptocoques fécaux	08
03	Salmonelles.	09
04	Staphylocoques.	10
05	<i>Clostridium perfringens</i>	10
06	Plan général de la STEP de Guelma	12
07	Le prétraitement	15
08	Bassin de décantation primaire (décanteur)	16
09	Bassin d'aération	18
10	Bassin de décantation secondaire (clarificateur)	19
11	Bassin de désinfection	19
12	Epaississeur	20
13	Lits de séchage	21
14	Les différentes étapes de traitement	21
15	Présentation des points de prélèvement	23
16	Recherche et dénombrement des germes totaux	25
17	Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux	26
18	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	28
19	Recherche et dénombrement des anaérobie sulfito-réducteurs	29
20	Recherche des salmonelles	31
21	pH mètre, Conductimètre	38
22	Oxymétrie	39
23	Bloc chauffant avec tubes et réfrigérants	40
24	Spectrophotomètre	41
25	Représentation graphique des germes totaux	43
26	Représentation graphique des coliformes totaux et des coliformes fécaux	44
27	Représentation graphique des streptocoques fécaux	45
28	Résultat de la recherche des staphylocoques	46
29	Cocci Gram (+)	47
30	Bacille Gram (-)	47
31	Recherche bactériologique sur les milieux gélosés	47
32	Profilé biochimique de <i>Providencia</i>	48
33	Profilé biochimique de <i>Klebsiella oxytoca</i>	48
34	Résultat de la galerie classique pour <i>Yersinia</i>	49
35	Résultat de la galerie classique pour <i>E.coli</i>	49
36	Résultat de la galerie classique pour <i>enterobacter</i>	49
37	Résultats du profilé biochimique de staphylocoques	50
38	Représentation graphique de la température	51
39	Représentation graphique du pH	52
40	Représentation graphique de la conductivité électrique	52
41	Représentation graphique de la DBO <sub>5</sub>	53
42	Représentation graphique de la DCO	53
43	Représentation graphique de l'azote ammoniacale	54



## Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
I	Dénombrement des bactéries obtenues dans les trois sites.	43
II	Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées	47
III	Résultats de l'identification biochimique par Api 20 E	48
IV	Résultats de l'identification biochimique par galeries classiques	49
V	Résultats du profil biochimique de staphylocoque	50
VI	Analyses physico-chimiques des eaux usées.	51

Produced with Scantopdf

## Liste des abréviations

- ASR** : Anaérobie sulfite-réducteur.
- BCP** : Pourpre de bromocrésol.
- BCPL** : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol.
- C<sub>e</sub>** : Conductivité électrique.
- CF** : Coliformes fécaux.
- CT** : Coliformes totaux.
- DCO** : Demande chimique de l'oxygène.
- DBO<sub>5</sub>** : Demande biologique de l'oxygène.
- LDC** : L-lysine décarboxylase.
- MES** : Matière en suspension.
- NPP** : Nombre le plus probable.
- ODC** : Ornithine décarboxylase.
- ONPG** : O-Nitrophényl-Pyrano-Galactoside
- pH** : Potentiel d'hydrogène.
- RM** : Rouge de méthyle.
- S/C** : Simple concentration.
- SFB** : Sérum Fœtal Bovin.
- SR<sub>1</sub>, SR<sub>2</sub>** : Source de refoulement 1 et 2.
- STEP** : Station d'épuration.
- T°** : Température.
- TDA** : Tryptophane désaminase
- TGEA** : Glucose tryptone extrait agar.
- TSI** : Tri-Sugar-Iron Agar.
- VF** : Viande Foie
- VP** : Voges-Proskauer.
- μS** : micro Siemens.

***PARTIE  
THEORIQUE***

Produced with ScanTopDF

# ***INTRODUCTION***

Produced with ScanTOPDF

## Introduction

Aujourd'hui notre environnement se trouve menacé par une pollution induite principalement par le développement économique et industriel qu'a connu l'Homme jusqu'à présent et qui ne cesse de croître de mieux en mieux afin de répondre à ces exigences.

La plupart des rejets issus des différentes activités humaines sont évacués généralement dans les proches cours d'eaux. L'évacuation non contrôlée de ces rejets par manque de station d'épuration ou par des stations non opérationnelles aboutit à la pollution des eaux de surface et même des eaux souterraines, véritable danger pour la faune et la flore.

Les rejets des eaux usées constituent donc un élément fondamental en matière de pollution car elles sont le lieu de nombreuses réactions chimiques et de reproduction de nombreux facteurs de maladies. C'est pour cette raison qu'il faut traiter les eaux usées, dans le but de diminuer suffisamment la quantité de substances polluantes contenues dans ces eaux. Le "nettoyage" des eaux usées obéit donc à une logique de préservation des ressources en eau et de protection de l'environnement.

C'est dans cette optique que ce travail a été réalisé. Il a concerné une étude sur les eaux usées et les différents types de traitement de ces eaux au niveau de la STEP de Guelma.

L'objectif de ce travail est de suivre la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées et d'évaluer le rendement du traitement.

# ***GENERALITES SUR LES EAUX USEES***

Produced with Scan2PDF

## 1. Définition des eaux usées :

L'eau est le vecteur choisi par l'homme pour éliminer la majorité de ses déchets, la multiple utilisation de l'eau par l'homme donne lieu à la formation d'eaux usées (Koller, 2004). Ces eaux usées sont ainsi collectées dans un réseau d'égout, apparaissent comme un liquide trouble, généralement grisâtre, contenant des matières grasses et des matières en suspension d'origine minérale et organique à des teneurs extrêmement variables. A cette charge s'associent presque toujours des matières grasses et des matières colloïdales du fait de la charge polluante de ces eaux.

Il est important d'épurer ces derniers, au niveau de station d'épuration, avant de les rejeter dans l'environnement ou le milieu récepteur (Rodier, 2005).

## 2. Origine et composition des eaux usées :

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leur origine (industrielle, domestique, ...etc.). Suivant l'origine des substances polluantes on distingue trois catégories d'eaux usées :

### 2.1. Les eaux domestiques :

Les eaux usées d'origine domestique sont issues de l'utilisation de l'eau (potable dans la majorité des cas) par les particuliers pour satisfaire tous les usages ménagers. Lorsque les habitations sont en zone d'assainissement collectif, les eaux domestiques se retrouvent dans les égouts.

On distingue généralement deux types d'eaux usées domestiques qui arrivent toutes les deux dans le réseau d'assainissement :

- Les eaux vannes, qui correspondent aux eaux de toilettes.
- Les eaux grises qui correspondent à tous les autres usages : lave-linge, lave-vaisselle, douche/bain, ...etc.

La composition des eaux usées d'origine domestique peut être extrêmement variable, et dépend de deux facteurs :

- La composition originale de l'eau potable, qui elle-même dépend de la composition de l'eau utilisée pour produire l'eau potable, de la qualité du traitement de cette eau, des normes sanitaires du pays concerné, de la nature des canalisations, ... etc.

- Les diverses utilisations par les particuliers qui peuvent apporter un nombre quasi infini de polluants : tous les produits d'entretien, lessives mais aussi, solvants, peintures, mercure de thermomètre, colle, ... etc (1).

## 2.2. Les eaux industrielles :

Tous les rejets résultant d'une utilisation de l'eau autre que domestique sont qualifiés de rejets industriels. Ces rejets ont généralement une composition plus spécifique et directement liée au type d'industrie considérée. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elle peut également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures. Certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte.

Elles sont mêlées aux eaux domestiques que lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des stations de traitement(2).

## 2.3. Les eaux pluviales :

Elles correspondent aux eaux ruisselantes sur les routes et les toitures. Elles peuvent constituer la cause de pollution importante de cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. Ces eaux sont polluées soit au contact de l'air (fumées industrielles), soit en récupérant les résidus de toiture et de chaussées (huile vidange, carburant, morceau de pneu...). Elles sont de même nature que les eaux usées domestiques, avec en plus des métaux lourds et des toxiques (plomb, zinc, hydrocarbures) provenant essentiellement de la circulation automobile.

Lors de précipitations importantes, les eaux pluviales peuvent arriver en grande quantité au niveau de la station d'épuration. Des dispositions permettent d'en limiter l'impact sur la station : bassin d'orage, bassins d'étalement, chaussées filtrantes... etc (Rejsek, 2002).

## 3. Les indicateurs de pollution :

### 3.1. Les indicateurs physico-chimiques :

#### 3.1.1. La température :

La température est un paramètre important parce qu'elle a beaucoup d'effet sur le processus biologiques et physico-chimiques (Guarino, 1975). Elle joue un rôle dans la



solubilité des sels et des gaz, en particulier la conductivité électrique et dans la variation du pH.

Il est indispensable de connaître la température exacte de l'eau, car c'est un facteur important dans la vie d'un cours d'eau. Un changement de la température affecte les diverses propriétés de l'eau (3).

### 3.1.2. Le pH :

C'est un paramètre qui nous permet de mesurer l'acidité et l'alcalinité d'une eau, dont le facteur le plus important est habituellement la concentration en anhydrique de carbone liée à la minéralisation totale. Le pH des eaux usées urbaines seules est généralement près de la neutralité, entre 7 et 7,5 environ. Un pH différent est l'indice d'une pollution industrielle (Ladjel *et al*, 2008).

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 l'arrêté de 22 décembre 1994 impose que pour les rejets de station d'épuration, le pH doit être compris entre 6 et 8,5.

### 3.1.3. La conductivité électrique :

C'est la propriété qui possède une eau de favoriser le passage d'un 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 dissous et de leurs concentrations.

La température et la viscosité influent également sur la conductivité car la mobilité des ions augmente avec l'augmentation de la température et diminue avec celle de la viscosité. La conductivité s'exprime en siemens par mètre.

### 3.1.4. Les MES :

Ce sont des particules solides transportées par l'eau de taille supérieure à 10µm cette matière est constituée généralement de particules non ou difficilement solubles et plus ou moins colloïdales de nature organique (fragment d'aliments ou résidus de digestion) ou minérale (sables ou argiles).

Son rejet dans le milieu naturel réduit la limpidité de ce milieu et empêche la pénétration de la lumière, diminue l'oxygène dissous et nuit alors au développement de la vie aquatique. La mesure des MES permet d'apprécier la charge solide en suspension d'une eau naturelle ou résiduaire (Rejsek, 2002).

### 3.1.5. Demande biologique de l'oxygène (DBO<sub>5</sub>) :

C'est la quantité totale d'oxygène consommée par les bactéries pour oxyder les matières organique biodégradable présente dans les eaux usées.

La quantité d'oxygène nécessaire à l'auto-épuración s'exprime en fonction de la DBO<sub>5</sub>. Cet indice est le principal paramètre permettant de mesurer la charge de pollution organique contenue dans une eau qui proviennent surtout des sanitaires et des cuisines sous forme de protides, glucides (sucres), lipides (graisses), urée et produits du métabolisme et de dégradation. La DBO<sub>5</sub> est déterminé en faisant l'incubation pendant 5 jours à 20°C d'un échantillon d'eau conservé à l'abri de l'air (4).

### 3-1-6- Demande chimique de l'oxygène (DCO) :

C'est la quantité d'oxygène nécessaire pour la dégradation de toute la matière organique qu'elle soit biodégradable ou non (Ladjel F *et al*). Dans ce cas l'échantillon est oxydé par un oxydant chimique très puissant comme le dichromate de potassium en milieu acide (K<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>7</sub> avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et chauffé pendant 20min. Ce test est donc beaucoup plus rapide mais ne donne pas une idée complète de la quantité de matière organique (4).

La DCO peut être réalisé plus rapidement que la DBO et donne une image de la matière organique présente même quand le développement de micro-organisme est impossible (présence d'un toxique par exemple) (Belaz A *et al*, 2008).

### La notion de biodégradabilité :

La biodégradabilité traduit l'aptitude d'un effluent aqueux à être décomposé ou oxydé par les micro-organismes qui interviennent dans les processus d'épuration biologique des eaux.

La biodégradabilité est exprimée par un coefficient :  $K = DCO / DBO$ .

Si :

- $K < 1.5$        $\Rightarrow$     L'effluent est biodégradable.
- $1.5 < K < 2$     $\Rightarrow$     L'effluent est moyennement biodégradable.
- $K > 2$           $\Rightarrow$     L'effluent n'est pas biodégradable (Ladjel F *et al*).

### 3.1.7. L'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) :

L'ammoniaque constitue un des maillons du cycle de l'azote. Il est présent sous deux formes en solution, l'ammoniaque (NH<sub>3</sub>) et l'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) dont les proportions dépendent

du pH et de la température. L'azote ammoniacal provient de la décomposition bactérienne des composés organiques azotés et les effluents domestiques (urée) qui représentent la plus importante source de pollution. Il peut aussi provenir de ruissellement urbain, de l'agriculture (engrais) ainsi que l'industrie. Il est utilisé par le phytoplancton comme source d'azote et oxydé par les bactéries nitrifiantes (5).

Son rejet dans le milieu récepteur s'accompagne d'une consommation de l'oxygène dissous due au processus de nitrification. Si le pH du milieu récepteur est élevé, l'ion ammonium se transforme en gaz ammoniac dissous ( $\text{NH}_3$ ) très toxique pour les poissons, l'azote ammoniacal contribue aussi à l'eutrophisation du milieu récepteur.

### 3.1.8. Les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) :

Les nitrites constituent une étape importante dans la métabolisation des composés azotés, ils s'insèrent dans le cycle de l'azote entre l'ammoniac et les nitrates. Leur présence est due soit à l'oxydation bactérienne de l'ammoniac, soit à la réduction des nitrates.

Ils ne représentent qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en nitrate, leur présence dans l'eau est donc rare et en faible quantité. Les nitrites favorisent le développement des algues et engendrent l'eutrophisation.

### 3.1.9. Les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) :

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote. Ils sont extrêmement solubles dans l'eau, ils proviennent des déjections animales, des élevages intensifs, des résidus de la vie des végétaux et des engrais utilisés pour l'agriculture. En effet, apportés en excès, ils peuvent avoir plusieurs impacts négatifs :

- Dans l'organisme, au contact des bactéries dans l'intestin, les nitrates se transforment en nitrites et en se fixant sur l'hémoglobine, ils transforment celle-ci en méthémoglobine, ce qui entraîne un mauvais transfert de l'oxygène vers nos cellules donc une méthémoglobinémie (plus connue sous le nom de cyanose).
- Sur les cultures : ils entraînent des retards de maturation, une altération de la qualité, ... etc.
- Sur le milieu naturel : les nitrates sont les principaux composants responsables de l'eutrophisation des milieux aquatiques.

### 3.1.10. L'orthophosphate ( $OPO_4$ ) :

Le phosphore se trouve dans les eaux usées soit sous forme minérale d'ions orthophosphate (50 à 80 du phosphore totale des eaux usées), soit sous forme d'ions phosphate condensées entre eux (polyphosphates), soit sous forme organique de groupement phosphate liés aux molécules organiques (phospholipides, phosphoprotéines, nucléotides et dérivés...).

Le phosphore est une origine domestique (matières fécales et détergents) et aussi agricole (engrais) et industrielle (industrie chimique). Le rejet de phosphore dans le milieu récepteur est une cause essentielle de son eutrophisation car ce phosphore est le facteur limitant de la croissance végétale responsable de ce phénomène (Rejsek F, 2002).

### 3.2. Les indicateurs bactériologiques des eaux usées :

La charge bactérienne des eaux usées, qui représentent la principale source de micro-organismes pathogènes pour l'homme, est très élevée, (soit  $10^9$  à  $10^{10}$  germes/litre) (Gauthier *et al*, 1989). Le degré de pollution de ces eaux est cependant, comme pour les eaux douces, évalué par le dénombrement d'autres bactéries entériques, appelés (indicateurs de contamination fécale) en général les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux (groupe D), qui sont en grande partie dénués de pathogénicité pour l'homme, ils sont très abondants dans les eaux usées.

La raison de ce choix tient essentiellement au fait que la numération de ces bactéries est beaucoup plus simple et rapide (24 à 48 heures) que celle des espèces véritablement pathogènes (généralement quelques jours, avec souvent nécessité d'identification sérologique). La présence simultanée des coliformes et des entérocoques suffit à confirmer qu'il y'a pollution (5).

#### 3.2.1. Les coliformes totaux :

Les coliformes sont des bâtonnets, anaérobie facultatif, Gram (-) non sporulant (Pnue/OMS, 1977). Ils sont capables de croître en présence de sels biliaires et fermentent le lactose en produisant de l'acide et du gaz en 48 heures à des températures de 35 à 37°C.

La recherche et le dénombrement de l'ensemble des coliformes (coliformes totaux), sans préjuger de leur appartenance taxonomique et de leur origine, est capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement d'un désinfectant mais il est d'un intérêt nuancé pour détecter une contamination d'origine fécale (Rodier *et al*, 1996).

### 3.2.2. Les coliformes fécaux :

Ce sont des bâtonnets Gram (-) (Fig.01), aérobies et facultativement anaérobies ; non sporulant, capables de fermenter le lactose avec production de l'acide et de gaz à 36 et 44°C en moins de 24 heures. Ceux qui produisent de l'indole dans l'eau peptonée contenant du tryptophane à 44°C, sont souvent désignés sous le nom d'*Escherichia.Coli* bien que le groupe comporte plusieurs souches différentes (Joly *et al*, 2003).

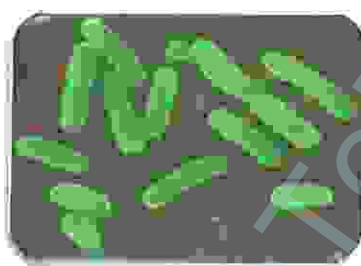


Figure 01: Coliformes fécaux (5)

### 3.2.3. Les streptocoques fécaux :

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de Lancefield (Sharpe, 1979). Ils sont définis comme étant des cocci sphériques légèrement ovales (Fig.02), Gram positifs. Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes, se développent le mieux à 37°C et ils possèdent le caractère homofermentaire avec production de l'acide lactique sans gaz.

Ils sont des témoins de contamination fécale assez résistants y compris dans les milieux salés (Gaujous, 1995). Ils peuvent aussi se multiplier dans les milieux présentant des pH allant jusqu'à 9.6, on peut par conséquent les utiliser comme indicateurs d'organismes pathogènes qui ont une résistance similaire au pH élevé (Pnue/OMS, 1977).

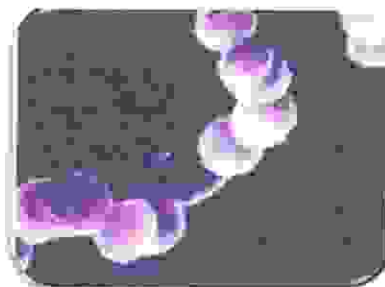


Figure 02: Streptocoques fécaux (5)

### 3.2.4. Les germes pathogènes :

Ces germes proviennent le plus souvent des côtes polluées par les égouts, les effluents et d'autres sources de pollution.

#### 3.2.4.1. Les salmonelles :

Elles appartiennent à la famille des Enterobacteriacées et sont des bâtonnets mobiles (Fig.03), Gram (-), aérobies et facultativement anaérobies. Elles fermentent le glucose, le maltose et le mannitol, avec production de gaz, mais elles ne fermentent pas le saccharose, elles réduisent le sulfite en sulfure et decarboxylent la lysine.

Elles sont retrouvées dans les excréments de porteurs sains et malades d'animaux ou d'hommes. Elles sont peut être la cause la plus fréquente d'infections des êtres humains par des organismes pathogènes à hôte animal (Pauc/OMS, 1977).



Figure 03 : Salmonelles (5)

#### 3.2.4.2. Les staphylocoques :

Les staphylocoques sont des cellules sphérique de 0.5 à 25  $\mu\text{m}$  généralement regroupées en amas (Fig.04), ils sont immobiles et ne forment pas de spores ; ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique.

L'espèce *Staphylococcus aureus* ou (staphylocoque doré) possède toutes ces caractéristiques, ajoutant à cela qu'elle est coagulase (+), il est à noter que les staphylocoques ont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (Lenclerc *et al*, 1995).

Deux autres espèces (*S. epidermidis* et *S. saprophyticus*) sont assez fréquemment rencontrées dans l'eau, mais leur pouvoir pathogène est moins important. La recherche des staphylocoques présente un intérêt pratique surtout dans les eaux destinées à la baignade (Gaujous, 1995).

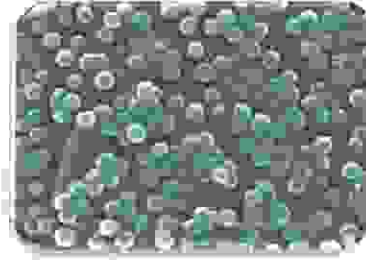


Figure 04: Staphylocoques (5)

### 3.2.5. Les anaérobies sulfito-réducteurs :

Ils peuvent être considérés comme des germes fécaux, ce sont aussi des germes telluriques et de ce fait aucune spécificité d'origine fécale ne peut être attribuée à leur mise en évidence.

Dans une telle optique d'interprétation, il y a intérêt à ne chercher que les espèces les plus susceptibles d'être d'origine fécale, c'est le cas en particulier des *Clostridium perfringens* qui sont des bâtonnets anaérobies, Gram (+), sporulant et qui réduisent les sulfites en sulfures en 24 à 48 heures (Fig.05) (Rodier *et al*, 1996).

Ils sont excrétés par l'homme et les animaux, on les trouve régulièrement dans les matières fécales humaines, leur densité est la suivante :

- Excréments humains  $10^6$  à  $10^8$  / g ;
- Eaux usées non traitées  $10^3$  / ml (Pnue / OMS, 1977).

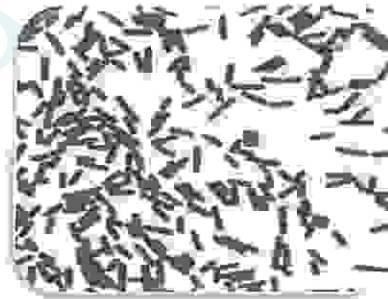


Figure 05: Clostridium perfringens (5)

## 4. Le domaine de réutilisation des eaux usées :

La réutilisation des eaux usées est une pratique très répandue dans de nombreuses régions du monde affectées par des pénuries des ressources en eau. Cette opération consiste la valorisation de ces eaux dans un certains nombres de domaines dont :

- Un usage municipal (arrosage des parcs et jardins publics, lavage des rues... etc.) ;

- Un usage industriel (refroidissement des systèmes... etc.) ;
- Un usage agricole qui constitue l'usage le plus fréquent car c'est un domaine très ancien mais l'utilisation de ces eaux peut contribuer des maladies d'origine hydrique dans ce cas, le traitement doit être adapté à la nature du milieu irrigué et au mode d'irrigation (Morakchi, 2002).

Produced with ScanTOPDF



# ***FONCTIONNEMENT DE LA STATION***

Produced with ScanTopDF

Une station d'épuration permet de traiter les eaux usées d'origines industrielles ou urbaines, son but est de collecter les eaux usées, puis de les épurer par une succession de traitements avant de pouvoir les rejeter dans le milieu naturel sans risque de polluer notre environnement (6).

### **DESCRIPTION DE LA STATION D'EPURATION DES EAUX USEES DE LA VILLE DE GUELMA**

#### **1. Localisation :**

La STEP Guelma est située sur la route nationale N°21, pont Héliopolis près d'oued Seybouse. Elle est fonctionnelle depuis le 18 Février 2008 à raison d'un traitement d'environ 32000 m<sup>3</sup>/jour au temps sec et 43000 m<sup>3</sup>/jour au temps de pluie.

La station est implantée sur un terrain agricole de 7,8 Hectares avec une capacité de 200000 équivalent / habitant (Fig:06) .Elle utilise le procédé de culture libre (boue activée) comme procédé d'épuration.

#### **2. Emplacement et accès :**

La STEP de Guelma est alimentée par 02 conduites de refoulement :

- \*SR1 : alimentée par Oued El Maiz, avec un débit de 1575 m<sup>3</sup>/h.
- \*SR2 : alimentée par Oued SKhoun, avec un débit de 1125 m<sup>3</sup>/h.



Figure 06 : Plan générale de la STEP de Guelma

### 3. Nature du réseau :

Les eaux usées domestiques de la ville de Guelma sont collectées sur deux bassins versant par un ensemble de réseaux d'assainissement existant. Les deux tronçons gravitaires rejoignent chacun le point bas (ou il y'a les deux postes de refoulement).

Le réseau d'assainissement est du type unitaire (c'est-à-dire; englobe tout en même temps; les égouts, les rejets industriels, individuels. .etc.).

### 4. Points de rejets (destination) :

#### 4.1. 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.

#### 4.2. 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 utilisations Agricoles) ;
- **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.

### 5. 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 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 35 mg/l sur 24h. Sans dépasser 40mg/l sur 02 heures ;
- MES: inférieure à 35mg/l sur 24heures ;
- DCO: inférieure à 130mg/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 % (Karaali et al, 2008).

## 6. Les étapes de traitement d'épuration des eaux usées :

Le traitement des eaux usées est ainsi réalisé dans les stations d'épuration. D'un point de vue technique, une station d'épuration a pour principal travail de dégrader et de séparer les polluants de l'eau (boues, particules et substances dissoutes) par des procédés chimiques, physiques et biologiques lesquelles (Fig.14) (7) :

### 6.1. Le prétraitement :

Les dispositifs de prétraitement sont présents dans toutes les stations d'épuration, quels que soient les procédés mis en œuvre à l'aval.

Le prétraitement comporte une succession d'opérations physiques ou mécaniques (Fig.07) destinées à séparer les eaux usées des matières volumineuse, en suspension ou flottantes, qu'elles véhiculent, pour extraire le maximum gêne ultérieurement (Ladjel *et al*, 2008).

Ces opérations sont :

#### 6.1.1. Dégrillage :

Il consiste à faire passer les eaux usées à travers d'une grille dont les barreaux, plus au mois espacés, retiennent les éléments les plus grossiers: L'effluent passe pour cela entre les barreaux métalliques d'une grille dont le nettoyage se fait soit automatiquement, soit manuellement, l'espacement de barreaux varie de 6 à 100 mm et sont placés verticalement ou inclinés de 60 à 80° sur l'horizontale.

Le nettoyage de la grille est généralement mécanique, il est réalisé par un râteau solidaire d'un chariot qui se déplace de bas en haut le long d'une crémaillère ou entraîné par deux câbles. Après nettoyage des grilles, les déchets sont évacués avec les ordures ménagères. (Boucherit *et al*, 2009).

#### 6.1.2. Dessablage :

Réalisé par décantation, le dessablage vise à éliminer les sables et les graviers. L'écoulement de l'eau à une vitesse réduite dans un bassin appelé « dessableur » entraîne leur dépôt au fond de l'ouvrage. Ces particules sont ensuite aspirées par une pompe.les sables récupéré sont essorés, puis lavés avant d'être envoyés en décharge, soit réutilisés, selon la qualité du lavage.

### 6.1.3. Dégraissage-Déshuilage :

Les opérations dégraissage-déshuilage consistent à séparer de l'effluent brut, les huiles et les graisses par flottation. Ces derniers étant des produits de densité légèrement inférieure à l'eau. L'injection des microbulles d'air permet d'accélérer la flottation des graisses.

Souvent ces opérations sont combinées dans un même ouvrage où la réduction de vitesse dépose les sables et laisse flotter les graisses. On enlève ainsi de l'eau les éléments grossiers et les sables de dimension supérieure à 200 microns ainsi que 80 à 90 % des graisses et matières flottantes.

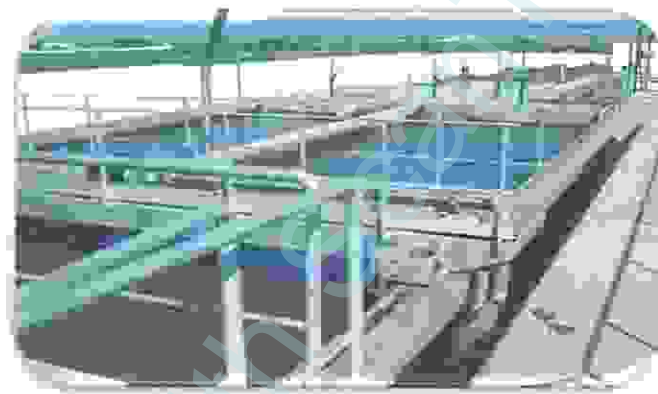


Figure 07: Prétraitement

### 6.2. Le traitement primaire (décantation primaire):

Après les prétraitements, il reste dans l'eau une charge polluante dissoute et des matières en suspension. Les traitements primaires ne portent que sur les matières décantables (décantation primaire) (Ladjel *et al*, 2008).

Dans ce cas, la séparation qui s'effectue par gravité ne concerne que les particules de diamètre supérieur à 100 micromètre, celle de diamètre inférieur à 100 micromètres ne décantent pas, mais seront entraînées vers les unités ultérieures de traitement.

Les bassins de décantation (Fig.08) sont des bassins à ciel ouvert, le plus souvent cylindriques, l'effluent brut arrive par un point central, les matières décantables en suspension dans l'eau vont se séparer de l'effluent et se déposer au fond du bassin où elles seront raclées par un pont radial tournant et les eaux de surface sont déversant.

Les matières décantables ainsi obtenues par séparation de l'effluent appelée les boues primaires, qui sont récupérées et orientées vers le traitement des boues (Boucherit *et al*, 2009).



Figure 08: Décanteur primaire.

### 6.3. Le traitement secondaire (biologique) :

Les traitements secondaires recouvrent les techniques d'élimination des matières polluantes solubles (carbone, azote et phosphore). Dans la majorité des cas, l'élimination des pollutions carbonée et azotée s'appuie sur des procédés de nature biologique (Ladjel et al, 2008).

Le traitement biologique par « culture libre » est actuellement la technique utilisée pour l'épuration des eaux usées de la station de Guelma. Le terme « culture libre » regroupe les procédés où l'on provoque le développement d'une culture bactérienne dispersée sous forme de flocons au sein du liquide à traiter.

Le principe général de ce procédé consiste à accélérer le processus d'oxydation naturelle de la matière organique qui survient dans les milieux récepteurs. Il est principalement mis en œuvre par la technique des boues activées (Karaali et al, 2008).

Cette technique consiste à mettre en contact les eaux usées avec un mélange riche en bactéries par brassage pour dégrader la matière organique en suspension ou dissoute. Il y a une aération importante pour permettre l'activité des bactéries et la dégradation de ces matières, suivi d'une décantation à partir de laquelle on renvoie les boues riches en bactéries vers le bassin d'aération (Fig.09) (Abda et al, 2009).

Le traitement biologique se déroule au niveau de bassin d'aération et comporte :

#### 6.3.1. L'élimination du carbone :

La boue activée est constituée essentiellement des bactéries et des protozoaires, parfois des champignons, des rotifères et des nématodes. Les bactéries y constituent le groupement le plus important, responsable principalement de l'élimination de la pollution d'une part et de la formation des flocons d'autre part.

La voie aérobie est essentiellement utilisée pour l'élimination du carbone dans les effluents car l'oxygène est associé à la réaction de dégradation.

Après la dégradation des matières organiques, la cellule passe par différentes stades de croissance et décroissance, mais la croissance bactérienne nécessite la présence d'autres éléments nutritifs en particulier : l'azote et le phosphore contenus dans les effluents.

**Eau résiduaire + biomasse épuratrice + O<sub>2</sub> → Eau purifiée + accroissement de biomasse + Gaz résiduaires (CO<sub>2</sub>), (Karaali *et al*, 2008).**

### 6.3.2. L'élimination de l'azote :

L'élimination de l'azote par voie biologique consiste à oxyder l'azote ammoniacal en azote nitreux puis en azote nitrique en milieu aérobie, puis à réduire les nitrites en azote gazeux en zone anoxie. Les différentes étapes sont :

#### ❖ L'assimilation :

C'est l'utilisation d'une partie de l'azote ammoniacal et éventuellement organique pour la synthèse bactérienne. Les besoins de celle-ci sont de l'ordre de 5% de la DBO<sub>5</sub> éliminée par la culture bactérienne.

#### ❖ La Nitrification :

La nitrification est l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrites, puis en nitrates après transformation de l'azote organique en azote ammoniacal (ammonification) (Ladjel *et al*, 2008).

Ces bactéries autotrophes utilisent le carbone minéral pour constituer leurs cellules, elles peuvent effectuer une synthèse mais leur taux de croissance est moins rapide que celui des bactéries dégradant la pollution carbonée (Karaali *et al*, 2008).

#### ❖ La Dénitrification :

C'est une réaction des nitrites en azote gazeux qui retourne ainsi sous sa forme primitive dans l'atmosphère. Cette réduction se fait par l'intermédiaire de bactéries anaérobies facultatives hétérotrophes qui en cas de carence du milieu en oxygène ont la propriété d'utiliser l'oxygène combiné de certains composés chimiques et notamment des nitrites réduits alors en azote gazeux.

### 6.3.3. L'élimination de phosphore :

Le principe de la déphosphatation biologique repose sur l'aptitude de certains micro-organismes présents dans l'eau à relarguer leur réserves en phosphore lorsque les conditions de vie sont difficiles (le phosphore est alors évacué de la cellule)

et à reconstituer des réserves au maximum lorsque les conditions redeviennent favorables. Ces conditions défavorables puis favorables sont créées par l'établissement d'une zone anaérobie suivie d'une zone aérobie. Le phosphore se retrouve finalement concentré dans les boues le rendement se situe entre 60% et 80%.

Les différentes étapes de la déphosphoration biologique sont :

❖ **La zone anaérobie :**

- Synthèse à partir de la pollution carbonée facilement utilisable de polymères qui seront stockés dans les cellules.
- Relargage de phosphore lié à la consommation de l'énergie stockée sous forme de polyphosphates pour la réaction précédente.

❖ **La zone aérée :**

Oxydation des polymères organiques avec production d'énergie stockée par la synthèse des polyphosphates (Ladjel *et al*, 2008).



Figure 09: Bassin d'aération.

#### 6.4. 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 ou elles sont raclees). Un clarificateur (Fig.10) permet de séparer par décantation l'eau épurée déversant (Karaali *et al*, 2008).

Tandis que les boues (secondaire) dont une partie sont évacuées vers le traitement des boues, et l'autre sont recyclées pour maintenir une masse biologique suffisante pour l'épuration (Boucherit *et al*, 2009).



Tandis que les boues (secondaire) dont une partie sont évacuées vers le traitement des boues, et l'autre sont recyclées pour maintenir une masse biologique suffisante pour l'épuration (Boucherit *et al*, 2009).



Figure 10 : Clarificateur.

#### 6.5. Désinfection :

Après la récupération des eaux clarifiées, ces dernières seront envoyées vers un bassin rectangulaire formé des chicanes (Fig.11) afin de recevoir des doses de javel qui sont préparés dans deux cuves de préparations de javel à partir de l'hypochlorite de calcium, cette javellisation permet de détruire toutes germes avant le rejet.

Un contrôleur de chlore est installé à la sortie du bassin pour pouvoir contrôler le taux du chlore (Ladjel *et al*, 2008).

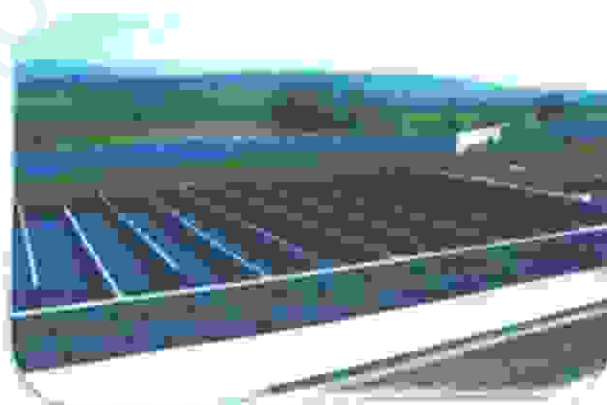


Figure 11: Bassin de désinfection.

### 6.6. Traitement des boues :

Le traitement des boues est défini comme l'ensemble des opérations visant à modifier les caractéristiques des boues en excès à fin de rendre leur destination finale fiable et sans nuisance.

On distingue trois grands types de traitement :

- **L'épaississement** : vise à augmenter la siccité (teneur en matière sèche) des boues sans pour autant modifier le caractère liquide de la boue qui peut se faire simplement par voie gravitaire dans un concentrateur (Fig.12) ou par des moyens mécaniques (égouttage, flottation ou centrifugation).



Figure 12: Epaississeur.

- **La déshydratation** : qui correspond en fait à une augmentation forte de siccité, modifie l'état physique des boues, celles-ci passant de l'état liquide à l'état pâteux ou solide.
- **Le séchage** : élimine en grande partie ou en totalité l'eau par évaporation par voie naturelle (lits de séchage) (Fig.13) .qui ce fait par l'introduction de la boue dans des bassins peu profonds contenant des graviers et du sable munis d'un système de drainage, la déshydratation des boues s'opère en fait de deux façons :
  - ✓ l'une part par infiltration de l'eau à vers le milieu filtrant et élimination par les drains ;
  - ✓ d'autre part par évaporation. La boue sèche ainsi obtenue est être utilisée pour l'agriculture (Karaali *et al*, 2008).



Figure 13: Lits de séchage.

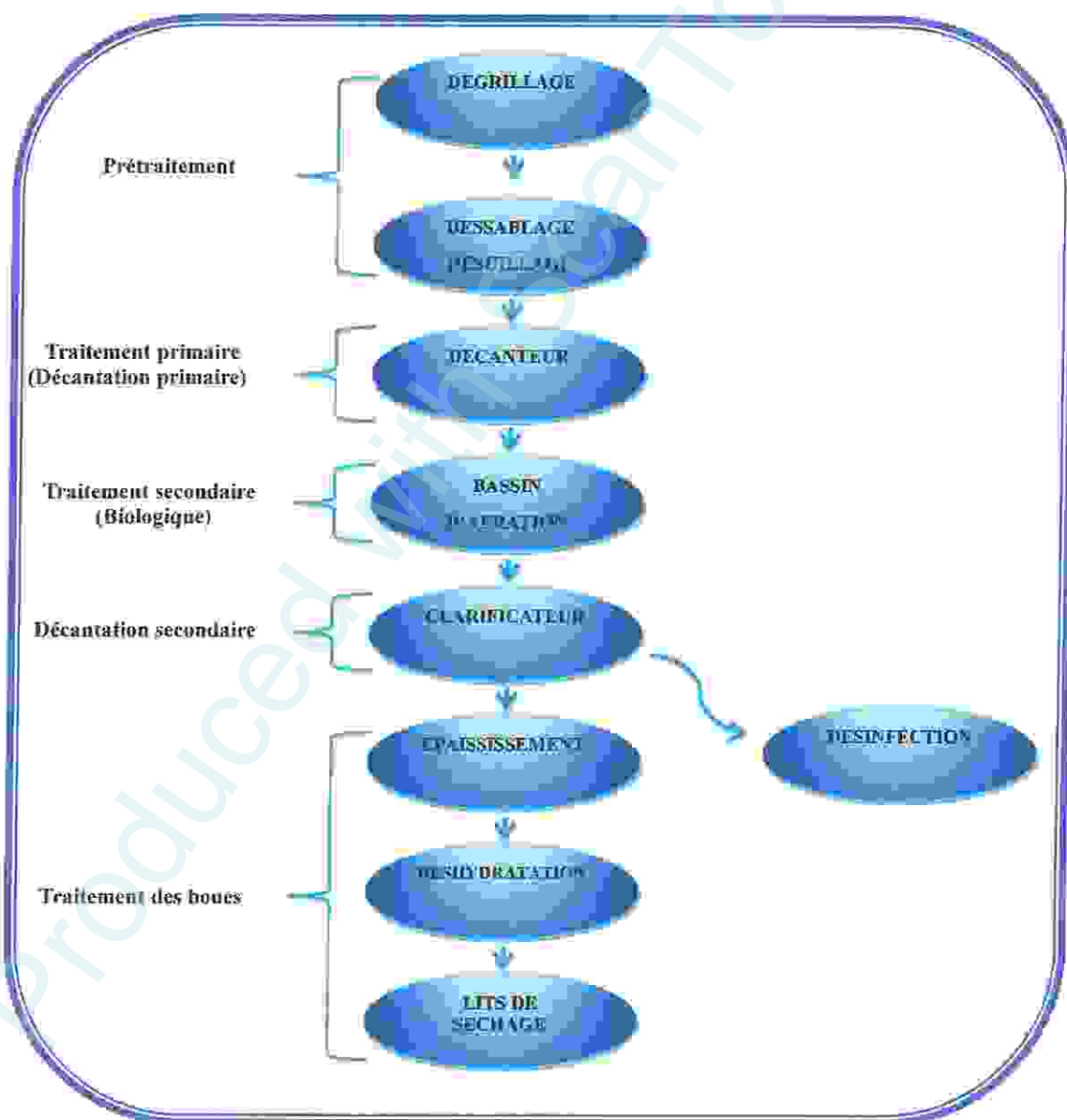


Figure 14: les différentes étapes de traitement.

***PARTIE  
PRATIQUE***

Produced with Scantopdf

***MATERIEL ET  
METHODES***

Produced with ScantOPDF

Les analyses bactériologiques de ce travail ont été réalisées dans les laboratoires de microbiologie et de biochimie du département de Biologie à l'université 08 Mai 1945 Guelma, tandis que les analyses physico-chimiques ont été réalisées au sein du laboratoire de la station d'épuration des eaux usées (STEP de Guelma).

Sachant que les eaux usées constituent un élément fondamental en matière de pollution car elles sont le lieu de nombreuses réactions chimiques et de reproduction de nombreux facteurs de maladies. Le traitement de ces eaux doit être efficace pour protéger l'environnement du risque de pollution.

C'est pour cela nous allons essayer d'étudier la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées et d'évaluer l'efficacité du traitement d'épuration de la STEP de Guelma.

### 1. Le prélèvement :

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuses ; il faut utiliser de préférence des flacons en verre munis d'un large col et d'un bouchon à vis métallique. Les techniques de prélèvements sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser (Rodier *et al*, 1996).

#### ➤ Les analyses bactériologiques :

Les prélèvements sont réalisés dans des flacons stériles de 250 ml qui sont plongés à une distance de 25 à 30 cm de la surface, assez loin des bords. Les flacons sont ouverts sous l'eau et sont remplis jusqu'aux bords, ensuite les bouchons sont également placés sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air, puis les flacons sont lavés de l'extérieur, étiquetés et transmis sans retard au laboratoire.

Si la durée du transport dépasse 1 heure et si la température extérieure est supérieure à 10°C, les prélèvements sont transportés dans des glacières (4 à 6°C), même dans ces conditions l'analyse bactériologique doit débuter dans un délai maximal de 8 heures après la récolte des échantillons.

#### ➤ Les analyses physico-chimiques :

Les prélèvements destinés aux analyses physico-chimiques sont réalisés dans des flacons en plastique à l'aide d'une perche de 2 à 3 m (Boucherit *et al*, 2009).

### 1.1. Points de prélèvement :

Pour faire les analyses physico-chimiques et bactériologiques des eaux usées de la STEP de Guelma, le prélèvement a été effectué dans le mois d'Avril et comporte trois sites différents :

- Site 01 : Entrée de la STEP ;
- Site 02 : Sortie du clarificateur (avant désinfection) ;
- Site 03 : Sortie de la STEP (Fig.15).



Figure 15 : Présentation des points de prélèvement

## 2. Méthodes d'analyse :

### 2.1. Analyses bactériologiques :

#### 2.1.1. Recherche et dénombrement des germes totaux :

La recherche et le dénombrement des germes totaux se réalise à deux températures différentes afin de cibler à la fois les micro-organismes à tendance psychrophile à 22°C et ceux franchement mésophiles à 37°C.

**❖ Mode opératoire:**

A partir de la solution mère et des dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ):

- Porter aseptiquement 2 fois, 1ml de chaque dilution dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage ;
- Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$  ;
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose ;
- Laisser solidifier sur pailleasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose ou de gélose blanche. Cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations (Fig.16) (8).

**❖ Incubation :**

- La première série est incubée, couvercle en bas à  $22^\circ\text{C}$  pendant 24 heures ;
- La seconde est incubée, couvercle en bas à  $37^\circ\text{C}$  pendant 72 heures.

**❖ Lecture :**

- La première lecture après 24 heures.
- La deuxième lecture après 48 heures.
- La troisième lecture après 72 heures.

**❖ Dénombrement :**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies des boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

**2.1.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale :****❖ Méthode d'ensemencement sur milieu liquide :**

La NPP consiste à ensemercer nombreuses prises d'essai d'un même échantillon et/ou des dilutions de celui-ci dans des tubes de milieu de culture. Cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire (Elarfi, 2009).



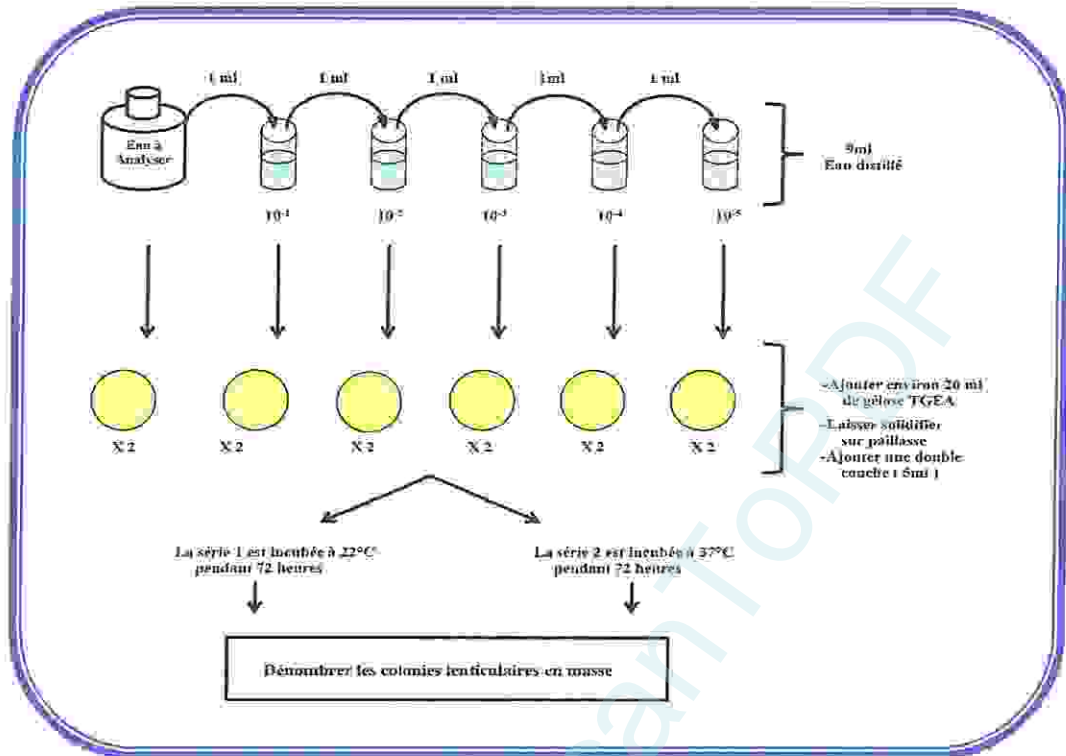


Figure 16: Recherche et dénombrement des germes totaux

### 2.1.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux :

Elle consiste à ensemercer l'échantillon dans des tubes de milieu BCPL, cette technique fait appel à deux tests consécutifs (Fig 17) à savoir :

- **Le test de présomption :** Réservé à la recherche des Coliformes totaux.
- **Le test de confirmation :** Réservé à la recherche des Coliformes fécaux à partir des tubes présentant un résultat positif du test présomptif (8).

#### ➤ Test de présomption :

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes, on réalise cinq dilutions décimales successives (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>) avec trois répétitions par dilution, les dilutions s'effectuent toujours dans des conditions aseptiques. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures (Rejsek, 2002).

#### ❖ La lecture :

Les tubes qui présentent à la fois un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune et un dégagement gazeux se considèrent comme positifs. Le dénombrement des coliformes se fait selon les prescriptions de la table du NPP.

### ➤ Test de confirmation :

Les tubes de BCPL qui montrent un résultat positif après le test de présomption font l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans des tubes contenant le milieu eau peptonée exempte d'indole. L'incubation se fait à 44 °C pendant 24 heures.

### ❖ La Lecture :

Les tubes qui présentent à la fois un anneau rouge en surface : Témoin de la production d'indole par *Escherichia Coli*, après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs et un dégagement gazeux se considère comme positifs. Le dénombrement s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (8).

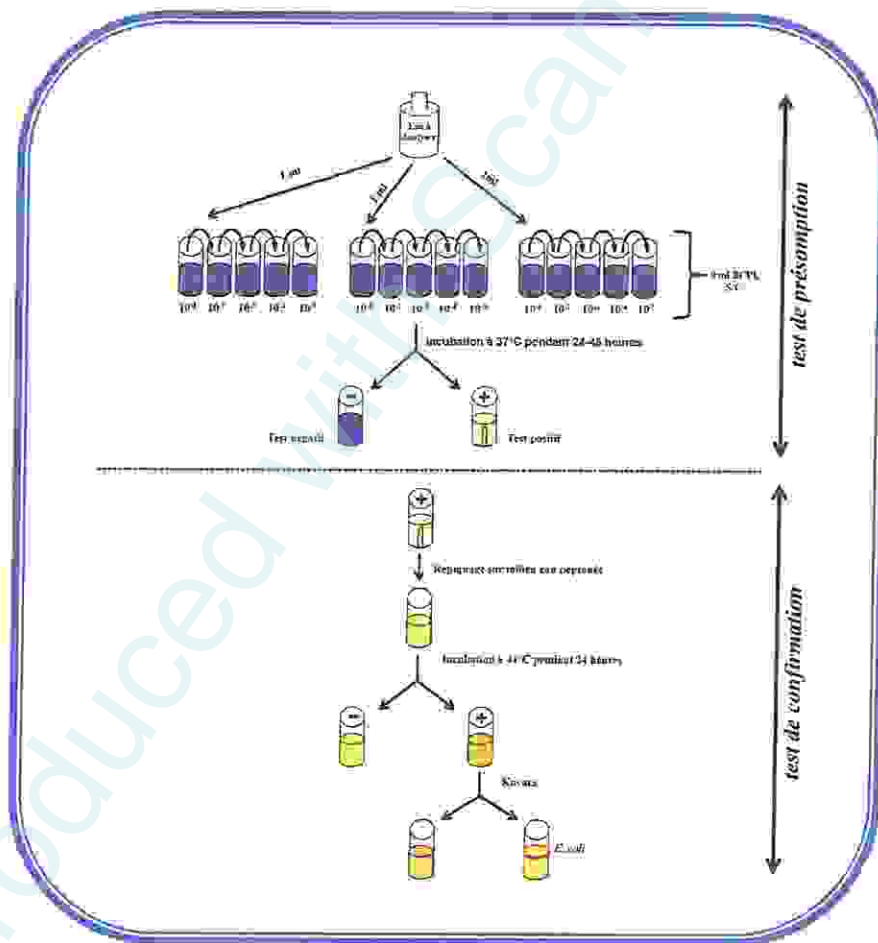


Figure 17: Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.

#### 2.1.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Comme la méthode de recherche des coliformes en milieu liquide, la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux font appel à deux tests consécutifs (Fig.18) à savoir :

- **Le test de présomption :** Réservé à la recherche des streptocoques fécaux.
- **Le test de confirmation :** Réservé à la confirmation réelle de la présence des streptocoques fécaux de groupe D à partir des tubes positifs du test de présomption (8).

➤ **Test de présomption :**

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon, on réalise cinq dilutions décimales successives ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) avec trois répétitions par dilution à partir de l'eau à analyser, en utilisant des tubes de 10 ml de bouillon glucosé à l'azote (Rothe) à simple concentration, on incube les tubes ensemencés à 37°C pendant 24 heures. On laisse séjournés pendant 48 heures les tubes qui présentent un résultat négatif (Elarfi, 2009).

❖ **La lecture :**

Les tubes qui présentent un trouble microbien sont considérés comme positifs.

➤ **Test de confirmation :**

Les tubes du milieu Rothe qui présentent un résultat positif font donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans des tubes contenant le milieu Eva litsky, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (8).

❖ **La lecture :**

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois:

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

Le dénombrement s'effectue selon les prescriptions de la table du NPP.

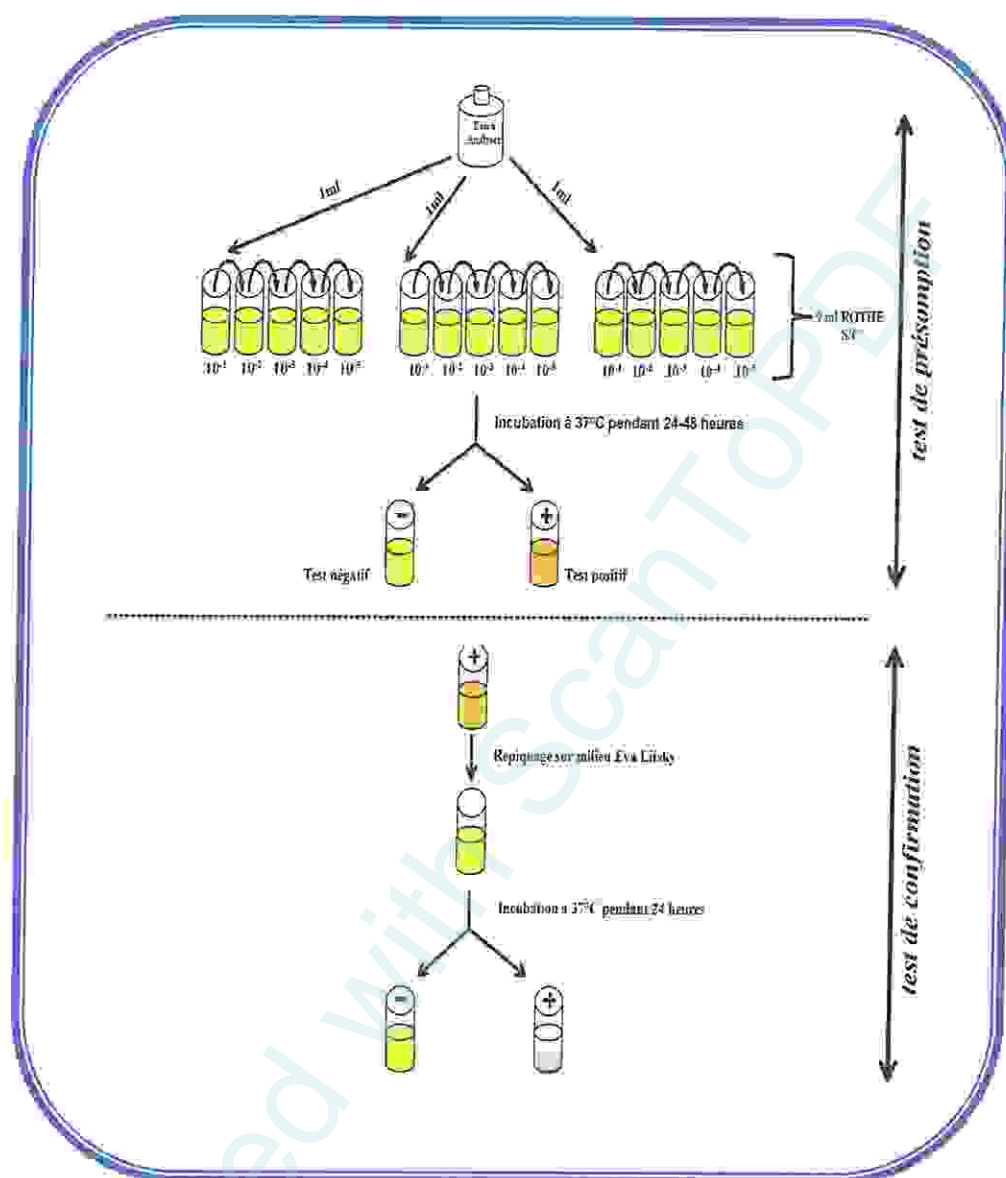


Figure 18: Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

### 2.1.2.3. Recherche et dénombrement des spores d'anaérobies sulfite-réducteurs :

Les ASR se développant de 24 à 48 heures sur une gélose VF en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu en sulfure, qui en présence de  $\text{Fe}^{2+}$  donne  $\text{FeS}$  (sulfure de fer) de couleur noire (Lebres, 2006).

#### ❖ Le mode opératoire :

A partir de la solution mère et des dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ):

- D'autre part on réalise un autre isolement sur gélose BCP à partir du milieu d'enrichissement puis on incube à 37 °C pendant 24 heures (Fig.20) (8).

❖ **La Lecture :**

- Des colonies pourpres (violette) : des bactéries Lac(-).
- Des colonies jaunes : des bactéries Lac (+).

Les colonies Lac (-) ont fait l'objet d'une identification morphologique et biochimique :

- Un repiquage sur milieu TSI.
- Un examen microscopique après coloration de Gram.
- Identification biochimique par l'Api 20 E ou par la galerie classique (Lebres, 2005).

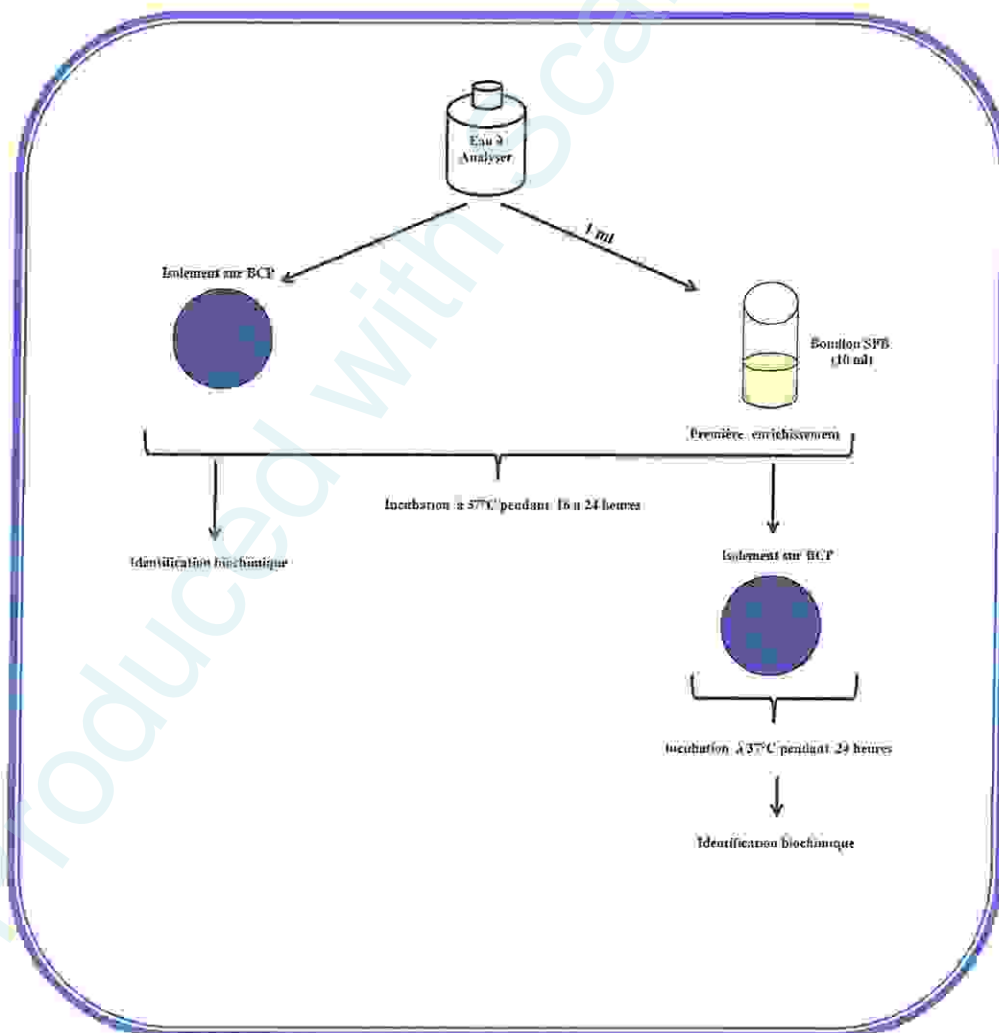


Figure 20 : Recherche des salmonelles

#### 2.1.4. Les tests d'identification :

##### 2.1.4.1. Les caractères cultureux et morphologiques :

La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille.
- La forme : bombée, plate.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparente.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.

Par la suite, on examine les cellules bactériennes au microscope optique pour différencier leur morphologie et leur disposition après coloration de Gram, technique très utile pour la classification des bactéries selon la composition de la paroi cellulaire et sa perméabilité.

##### 2.1.4.2. Les caractères biochimiques:

❖ **La galerie classique :**

✓ **Test de la catalase :**

La catalase est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



La technique consiste à déposer une colonie de la culture à tester sur une goutte d'eau oxygénée. Si les bactéries examinées possèdent une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses (Joffin *et al*, 2001).

✓ **Test de la coagulase :**

Les souches *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma oxalaté du lapin en 24 heures, ainsi que des espèces de staphylocoques animale (*S. intermedius*). Les autres espèces d'origine animale et humaine sont à coagulase négative (Karaali *et al*, 2003).

On ensemence un bouillon cœur cervelle par les colonies isolées sur milieu Chapman puis on incube à 37°C pendant 24h. Par la suite, on ajoute 0.1ml du bouillon cœur cervelle au plasma du lapin. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h (Bourgois C.M *et al*, 2008). Le résultat positif se traduit par la coagulation du plasma qui occupe plus de  $\frac{3}{4}$  du volume du liquide initial.

**✓ Test de la Citratase :**

On ensemence les tubes contenant la gélose Citrate de Simmons par les suspensions bactériennes puis on les incube à 37 °C pendant 24 heures. La présence de la citratase se manifeste par le virage de la couleur du milieu du vert au bleu (9).

**✓ Etude de la mobilité et de la dégradation du mannitol :**

A partir des suspensions bactériennes, on ensemence par piqûre centrale le milieu gélosé semi-solide de mannitol mobilité puis on l'incube à 37°C pendant 24 heures. Le virage de la couleur du milieu du rouge au jaune indique la dégradation du mannitol, les bactéries immobiles se développent uniquement le long de la piqûre centrale.

**✓ Etude de la fermentation des sucres :**

Ce test permet d'apprécier l'aptitude des bactéries à métaboliser divers sucres à partir des suspensions bactériennes. On ensemence le milieu TSI en surface et par piqûre centrale puis on l'incube à 37 °C pendant 24 heures. Le virage du culot du rouge au jaune indique la fermentation du glucose. Tandis que, le virage de la pente du rouge au jaune indique la fermentation du lactose et du saccharose (Sayad, 2008).

**✓ Test de la production d'indole :**

Certaines bactéries possèdent l'enzyme dite tryptophanase capable de transformer le tryptophane en indole, ce dernier réagit avec le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde qui se trouve dans le réactif de Kovacs et forme un anneau rouge. Pour cela, on ensemence des tubes contenant l'eau peptonée exempte d'indole par les suspensions bactériennes à tester puis on les incube à 37°C pendant 24 h. Après incubation, on ajoute quelques gouttes de réactif de kovacs (9).

**✓ Recherche de la nitrate réductase :**

Les bactéries possédant une nitrate-réductase peuvent réduire les nitrates en nitrites, d'autres peuvent les réduire jusqu'au stade azote gazeux, il s'agit de la nitrification.

La réduction des nitrates en nitrites est recherchée sur une culture en bouillon nitraté incubé à 37 °C pendant 24 heures, la mise en évidence de l'apparition des nitrites se fait par addition de quelques gouttes de chacun des deux réactifs : Nitrate réductase I et nitrate réductase II.

Si la réaction est négative, deux éventualités sont possibles ; ou bien la réduction a dépassé le stade nitrite et s'est poursuivie jusqu'au stade  $\text{NH}_3$  ou  $\text{N}_2$ , ou bien les nitrates non réduits sont encore présents (bactérie nitrate-réductase négative). On ajoute à la culture un peu de poudre de Zn, on mélange et on laisse reposer. Si les nitrates n'ont pas été utilisés, ils seront réduits chimiquement par la poudre de Zn et la réaction colorée des nitrites apparaît rouge. Par contre, si le milieu reste incolore les nitrates sont complètement réduits au-delà du stade nitrite et la présence de bulles gazeuses dans la culture témoigne de la réduction des nitrates en  $\text{N}_2$  gazeux (Mechai, 2009).

✓ **La recherche de l'acétoïne :**

Le milieu Clark et Lubs permet l'étude de la voie de fermentation du glucose. On ensemence les tubes contenant le milieu Clark et Lubs par les suspensions bactériennes à tester et on les incube à 37 °C pendant 24 heures (Sayad, 2008).

➤ **Test VP :**

- Ajouter 2 gouttes du réactif VP I (soude concentrée ou de potasse) et 2 gouttes du réactif VP II (alpha naphthol).
- Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation et attendre quelque minute à une heure.
- Si le milieu devient rouge, la réaction est positive (VP+) (9).

➤ **Test RM:**

- Ajouter 2 à 3 gouttes du réactif rouge de méthyle.
- La lecture se fait immédiatement. Si le milieu devient rouge, la réaction est positive (RM+).

✓ **Recherche du TDA :**

La recherche de cette enzyme se fait sur le milieu urée indole après l'addition du chlorure de Fer III, qui forme un complexe avec le produit de l'activité du TDA l'acide indole-pyruvique. La technique consiste à ensemencer le milieu urée-indole avec une suspension épaisse de bactéries, après l'incubation à 37°C pendant 24 h on ajoute 2 gouttes de réactif TDA. La réaction positive se traduit par une coloration rouge brique du milieu avec présence d'un précipité.



#### ✓ Test de l'uréase :

La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation d'un contenant de l'urée d'où l'utilisation du milieu urée indole. Pour cela on réalise une suspension bactérienne à partir d'une culture de BCP et on l'ensemence dans le milieu urée-indole puis on incube à 37 °C pendant 12 à 18 heures. La réaction positive se traduit par le virage de la couleur du jaune au rouge violacé ou rose rouge.

#### ✓ Test de l'ONPG :

Le test de l'ONPG est la recherche de l'enzyme  $\beta$  galactosidase, responsable de la dégradation du lactose. A partir du milieu gélosé :

- Réaliser une suspension épaisse des bactéries à tester en eau distillée.
- Ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (9).

#### Remarque :

La majorité des réactions positives sont observées entre 15 et 30 min.

- ONPG + : Milieu jaune.
- ONPG - : Milieu sans couleur.

#### ✓ Recherche d'une cytochrome oxydase :

Le cytochrome oxydase est le dernier transporteur d'électron de la chaîne respiratoire. Elle catalyse le transport d'hydrogène sur l'oxygène moléculaire pour produire de l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



En pratique, le disque OX est imbibé avec une ou deux gouttes d'eau distillée stérile et une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine est alors étalée sur ce disque. La présence d'oxydase se manifeste alors par le développement d'une coloration violette (Mechai, 2009).

#### ✓ Recherche des décarboxylases (LDC, ODC) :

La production et l'activité des décarboxylases sont favorisées par un pH acide (pH=6 environ). Ces enzymes sont induites en milieu acide. La lecture de l'alcalinisation nécessite d'autre part des conditions anaérobies.

- Pour satisfaire aux conditions du pH acide, on utilise un milieu glucosé : des bactéries fermentant le glucose acidifient dans un premier temps le milieu qui, soit reste acide, soit devient basique, selon la présence de l'enzyme ou non.
- Pour satisfaire aux conditions d'anaérobioses, on ferme les tubes entièrement afin de créer une anaérobiose relative puis on incube pendant 24 heures à 37°C (10).
- **LDC<sup>-</sup>, ODC<sup>-</sup>** : Le milieu devient jaune : Une bactérie non décarboxylante utilise le glucose du milieu et produit des acides.
- **LDC<sup>+</sup>, ODC<sup>+</sup>** : Le milieu reste violet : Une bactérie décarboxylante après avoir utilisé le glucose va produire du dioxyde de carbone et des amines, l'alcalinité des amines est importante et le virage de l'indicateur de pH sera obtenu (9).

❖ **La galerie API 20 E :**

Le système API 20 E est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries, il comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

✓ **Technique :**

• **Préparation de la galerie :**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, ensuite déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

• **Préparation de l'inoculum :**

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

• **Inoculation de la galerie :**

En posant la pipette contre la paroi de la cupule :

- ✓ Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.

- ✓ Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- ✓ Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

**Remarque :**

Il est important de veiller à ne pas créer de bulles d'air lors de l'inoculation. De plus l'apparition de bulles après l'incubation apportera un caractère d'identification supplémentaire.

**✓ Lecture :**

La lecture et l'identification de ces réactions se font à l'aide des tableaux de lecture et d'identification respectivement.

**2.2. Analyses physico-chimiques:****2.2.1. La température :**

Les mesures de la température de l'eau sur le lieu de prélèvement de l'échantillon sont une partie intégrante des traitements des eaux usées et elles sont déterminées par des méthodes électrochimiques (Rejsek, 2002).

**❖ Matériel :**

La température est mesurée par un conductimètre qui possède une sonde spécifique incorporée d'un thermomètre, celui-ci présente deux modes de mesures un pour la conductivité et l'autre pour la température.

**❖ Le mode opératoire :**

Prolonge la sonde dans l'eau à analyser puis attend jusqu'à la stabilisation chiffre apparent sur l'écran soit stagné.

**2.2.2. Le pH :**

Le pH est en relation avec la concentration des ions d'hydrogène [H<sup>+</sup>] présents dans l'eau ou les solutions.

❖ **Matériel :**

- pH mètre.
- Récipient contenant l'eau à analyser.

❖ **Le mode opératoire :**

- Il est préférable de mettre l'appareil en marche environ 30 min d'avance.
- Rincer l'électrode avec l'eau distillée avant de commencer la mesure.
- Plonger l'électrode dans l'eau à analyser et faire la lecture après que la valeur soit stable.

**2.2.3. La conductivité :**

La mesure de la conductivité est une méthode électrochimique ayant le même principe que celle de la température. Elle se mesure par la lecture directe sur conductimètre, celle-ci se fait au maximum dans les 24h qui suivent la date des prélèvements.

❖ **Matériel :**

- Conductimètre à électrode (Fig.21).
- Récipient contenant l'eau à analysée.

❖ **Le mode opératoire :**

- L'électrode du conductimètre est rincée d'abord par l'eau distillée.
- Plonger l'électrode dans le récipient qui contient l'eau à analyser de façon qu'elle soit complètement immergée

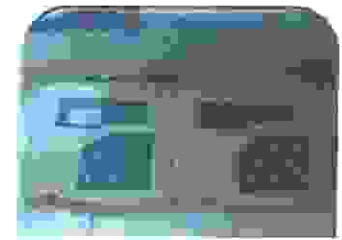


Figure 21: pH mètre,  
Conductimètre

**2.2.4. La DBO<sub>5</sub>:**

La DBO<sub>5</sub> est mesurée au bout de 5 jours à 20°C (T°C favorable à l'activité des bactéries consommateurs d'oxygène) et à l'obscurité. Deux échantillons sont nécessaires ; le premier sert à la mesure de la concentration initiale en oxygène, et le second à la mesure de la concentration résiduelle en oxygène au bout de 5 jours. La DBO<sub>5</sub> est la différence entre les deux concentrations.

❖ **Matériel:**

- Oxymétrie (Fig22.).
- Aérateur.
- Thermostat (thermorégulateur).
- Flacons spécifiques d'incubation.
- Eau ultra-pure pour l'incubation.

❖ **Le mode opératoire :**✓ **Préparation de l'eau de dilution :**

Mettre la veille du prélèvement dans un récipient de 10 l de l'eau du robinet dans laquelle on plonge pendant 24h un aérateur pour la saturation en oxygène. Laisser reposer 12 heures (Rejsek, 2002).

**Remarque :** Le choix du facteur de dilution (F) dépend de la charge de l'eau à analyser.

✓ **Préparation des flacons de mesure :**

- 1<sup>er</sup> flacon : Pour l'eau brute :  $V_{\text{flacon}}/100$ . ( $280 /100 = 2,8\text{ml}$ ) et compléter le volume avec l'eau de dilution jusqu'au 280 ml.
- 2<sup>ème</sup> flacon : Pour l'eau de clarificateur :  $V_{\text{flacon}}/10$ . ( $270 /10 = 27\text{ml}$ ) et compléter le volume avec l'eau de dilution jusqu'au 270 ml.
- 3<sup>ème</sup> flacon : pour l'eau traitée :  $V_{\text{flacon}}/10$ . ( $270 /10 = 27\text{ml}$ ) et compléter le volume avec l'eau de dilution jusqu'au 270 ml.
- 4<sup>ème</sup> flacon (blanc) : eau de dilution + glucose (0,0825 g).

✓ **La mesure d'O<sub>2</sub> dissous au temps (T<sub>0</sub>) :** Doser l'O<sub>2</sub> dissous dans un flacon d'échantillon dilué (T<sub>0</sub> en mg /L).

✓ **L'incubation :** Placer les 3 flacons restants au thermostat : (20°C et à l'obscurité pendant 5 jours avec l'agitation).

✓ **Mesure d'O<sub>2</sub> dissous après 5 jours (T<sub>5</sub>) :** Doser l'O<sub>2</sub> dissous dans les flacons d'échantillon dilué restants (T<sub>5</sub> en mg /L) (Rejsek, 2002).



Figure 22: Oxymétrie

❖ **La lecture :** Elle se fait comme suit :

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

$T_0$  : Pression d'O<sub>2</sub> dissous.

$T_5$  : Pression d'O<sub>2</sub> dissous après l'incubation de 5 jours.

$F$  : Facteur de dilution.

### 2.2.5. La DCO :

La détermination de la demande chimique en oxygène comprend deux étapes :

- 1<sup>ère</sup> étape : Oxydation chimique des matières réductrices contenues dans l'eau par un excès de dichromate de potassium (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>).
- 2<sup>ème</sup> étape : Dosage de l'excès de dichromate de potassium par le sel de Mohr après refroidissement (Rejsek , 2002).

❖ **Matériel :**

- Réacteur DCO.
- Bloc chauffant avec tubes et réfrigérants (Fig.23).
- Pipettes : 5ml, 10ml.

❖ **Réactifs :**

- K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>
- Granules régulateurs,
- AgSO<sub>4</sub>.
- Solution Mohr (préparée à l'avance).
- Ferroïne.

❖ **Mode opératoire :**

Dans les tubes de DCO, on met :

- 10ml d'eau à analyser.
- 5ml de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.
- 3 à 4 granules régulateurs d'ébullition puis homogénéisé.
- 15 ml d'AgSo<sub>4</sub>.



Figure 23: Bloc chauffant avec tubes et réfrigérants

- Agiter soigneusement le tube.

❖ **Résultat:**

La demande chimique en oxygène DCO est exprimée en mg /L, et donnée par la formule suivante :

$$DCO = -8000 C_{fe} (V_t - V_e)/E$$

$C_{fe}$ : C'est la concentration exprimée en mol/l de la solution de sel de Mohr déterminée par étalonnage.

$E$  : Volume d'essai pris en ml.

$V_t$ : Volume du sel de Mohr nécessaire pour le virage de la couleur de l'échantillon témoin.

$V_e$  : Volume du sel de Mohr nécessaire pour le virage de la couleur de l'échantillon (Rejsek F, 2002).

### 2.2.6. L'azote ammoniacal ( $NH_4^+$ ):

La mesure spectrométrique à environ 655nm du composé bleu formé par la réaction de l'ammonium avec les ions salicylates et hypochlorites en présence de nitroprussiate de sodium.

❖ **Matériel :**

- Spectrophotomètre UV-Visible (Fig.24).
- Récipient contenant l'eau à analyser.

**Les réactifs :**

- Réactif 1.
- Réactif 2.

❖ **Le mode opératoire :**

Dans chaque flacon on met :

- 40ml de l'eau à analyser .
- 4 ml du réactif 1 .
- 4 ml du réactif 2 puis on agite .
- Compléter le volume par l'eau distillée jusqu'à 50ml .

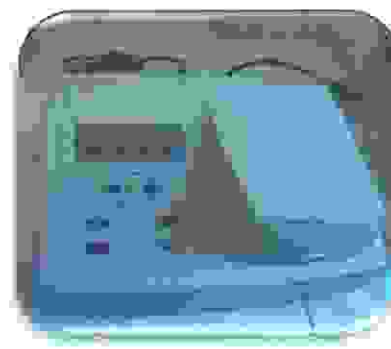


Figure 24: Spectrophotomètre

- On place les trois flacons à l'abri de la lumière pendant une heure et demi.
- ❖ **Lecture :**
- L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence de  $\text{NH}_4^+$ .
- La lecture se fait par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 655 nm.
- Le résultat est donné directement en mg/l.

Produced with ScanTOPDF



***RESULTATS ET  
DISCUSSIONS***

Produced with Scantopdf

### 1. Résultats des analyses bactériologiques :

Les résultats des analyses bactériologiques des échantillons d'eau que nous avons obtenue sont présentés dans le Tableau I et dans les histogrammes des Figures 25-26-27, exprimant les différentes variations des bactéries étudiées.

**Tableau I: Dénombrement des bactéries obtenues dans les trois sites.**

Types de recherche	Site 01	Site 02	Site 03
<b>Germes totaux</b>	à 37°C : 100.000	600	30
	à 22°C : 1.100.000	1.000	65
<b>Coliformes totaux</b>	20.000	3.000	10
<b>Coliformes fécaux</b>	11.000	300	10
<b>Streptocoques fécaux</b>	45.000	100	60
<b>Anaérobies sulfito-réducteurs</b>	Indénombrable	Absence de germes	Absence de germes
<b>Staphylocoques</b>	Présence de germes	Présence de germes	Présence de germes
<b>Salmonelles</b>	Absence de germes	Absence de germes	Absence de germes

#### 1.1. Germes totaux :

L'histogramme ci-dessous (Fig.25) représente les résultats de dénombrement des germes totaux à 37 °C et à 22°C.

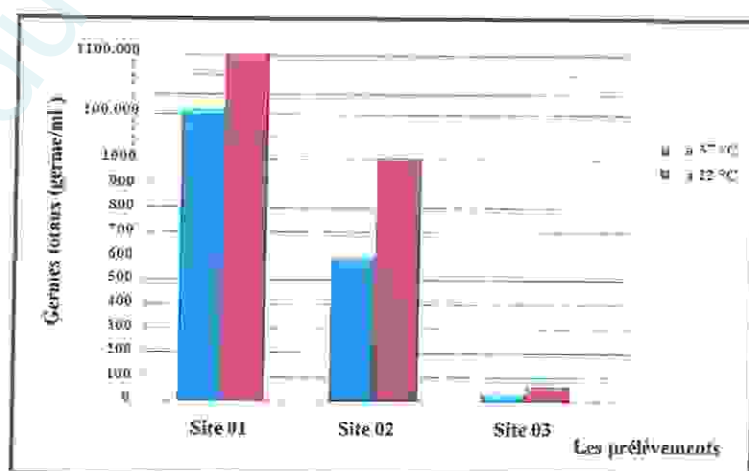


Figure 25: Représentation graphique des germes totaux.

La flore mésophile totale sur milieu TGEA a montré l'impossibilité de la lecture dans les premières dilutions (pure,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) et la possibilité de la lecture sur les dilutions ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) d'où le nombre total des germes du site 01 est de 100.000 germes/ml à 37°C et de 110.000.00 germes/ml à 22 °C. Dans le site 02 on a dénombré 600 germes/ml à 37°C et 1000 germes/ml à 22°C et pour le 3<sup>ème</sup> site, on a dénombré 30 germes/ml à 37 °C et 65 germes/ml à 22°C.

D'après Les résultats des différents sites, on note que la charge microbienne est plus élevée dans le site 01 (eau brute) et une diminution d'environ 10 fois de cette charge dans le 2<sup>ème</sup> site par rapport au nombre initial, et une élimination presque totale dans le 3<sup>ème</sup> site, cela peut être expliqué par un bon fonctionnement du système épuratif.

## 1.2. Recherche et dénombrement des indicateurs de contamination fécale :

### 1.2.1. Coliformes totaux et fécaux :

D'après l'étude de la flore indicatrice fécale, les coliformes fécaux font partie des coliformes totaux et ces derniers font partie de la flore mésophile.

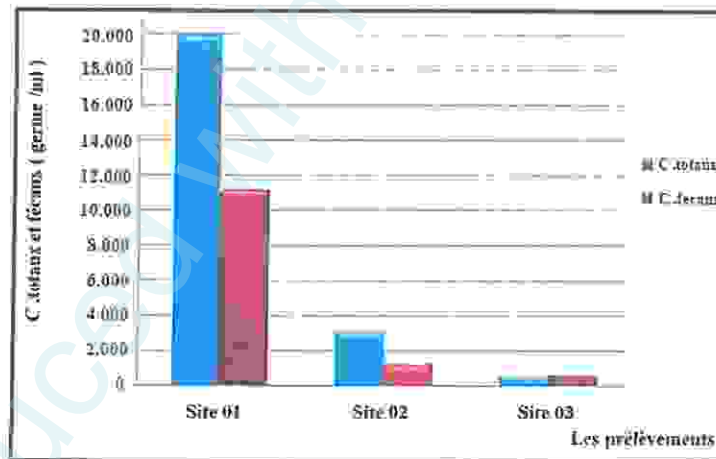


Figure 26: Représentation graphique des coliformes totaux et fécaux

D'après le tableau et le graphe (Fig.26), le nombre des coliformes représente le 1/5 de la flore mésophile à 37°C dans le site 1, ce qui signifie que les eaux brutes sont très chargées par les excréments humains, donc c'est une eau très dangereuse pour la santé humaine et pour l'environnement. Leur diminution dans le site 2 et leur élimination presque totale dans le site 3 est due aux processus d'épuration (décantation, exposition aux rayons ultraviolets,

adjonction de la flore dénitrifiante (antagonisme bactérien) et la désinfection chimique par le chlore).

### 1.2.2. Streptocoques fécaux :

Le nombre des streptocoques fécaux dans l'eau est étroitement lié à la quantité et la concentration de la matière organique fécale, ce sont d'excellents indicateurs d'une contamination ancienne.

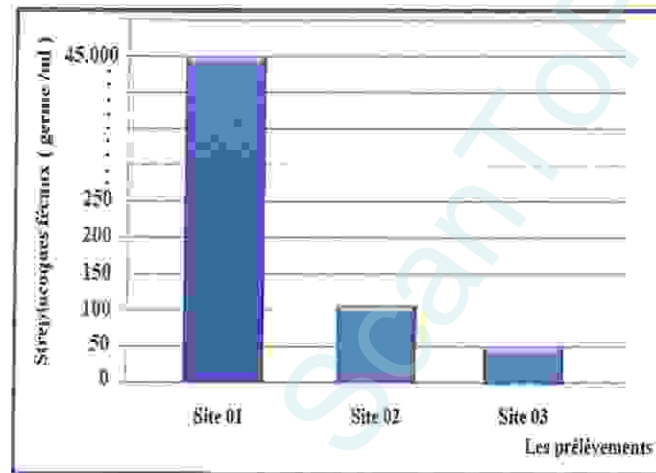


Figure 27: Représentation graphique des streptocoques fécaux.

D'après le graphe (Fig.27), le nombre des streptocoques fécaux est presque le double des coliformes ce qui traduit la résistance des streptocoques dans le milieu aquatique contenant des rejets finaux (Gaujous, 1995), et la sensibilité des coliformes dans le milieu extérieur, (la diminution des streptocoques dans le site 02 et le site 03 est réciproque aux systèmes de traitement).

### 1.2.3. Les anaérobies sulfite-réducteurs :

La flore sporulée des ASR est beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes et des streptocoques fécaux.

D'après les résultats obtenus, on déduit que l'absence des ASR dans les sites 02 et 03 est relative au système d'oxygénation qui est un inhibiteur pour ces germes.

### 1.3. Recherche des germes pathogènes :

#### 1.3.1. Staphylocoques :

La présence des staphylocoques dans les rejets est significative des déchets humains, salive, crachat et sécrétions nasales.

D'après les résultats obtenus (Fig.28), le nombre des staphylocoques dans le site 01 est très élevé ce qui signifie leur résistance dans le milieu extérieur. Leur diminution dans les sites 02 et 03 est le fait propre du système épuratif.

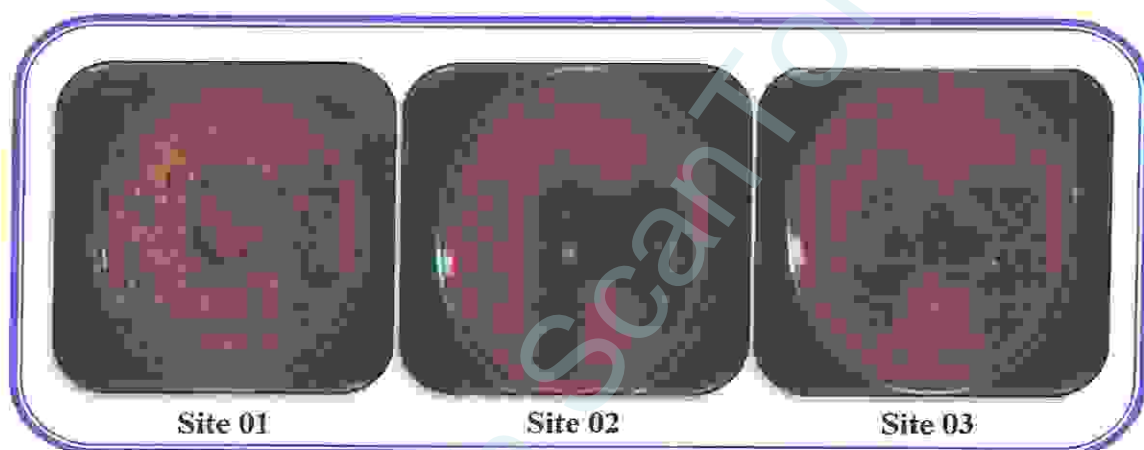


Figure 28: Résultat de la recherche des staphylocoques

#### 1.3.2. Salmonelles et shigelles :

On a observé une absence totale des salmonelles et des shigelles aux niveaux des trois sites de prélèvement. Néanmoins, il faut signaler l'extrême exigence de ces bactéries pour leur isolements, car à part les sites 02 et 03 il est fut probable que le site 01 peut en contenir.

### 1.4. Identification des espèces bactériennes :

#### 1.4.1. Caractère morphologiques et coloration de Gram :

Les colonies qui ont poussé sur les milieux de culture (Chapman et BCP) sont soumises à une observation macroscopique afin de déterminer la taille, la forme et la couleur etc... Puis à une observation microscopique après coloration de Gram. Les résultats sont représentés dans le Tableau II et dans les Figures 29-30-31.

Tableau II: Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées

Les milieux de cultures	Observation macroscopique	Observation microscopique
	Colonies petites et moyennes, plus au moins plates, lisses, opaques, crémeuses, à contour régulier, de couleur blanche.	Cocci à Gram (+), groupés en amas.
Chapman	Colonies moyennes, bombées, lisses opaques, crémeuses à contour régulier, de couleur jaune.	Cocci à Gram (+), groupés en amas.
	Petites colonies, de forme pyramide, lisses et muqueuses, à contour irrégulier, incolore.	Bacilles à Gram (-)
BCP	Petites colonies, de forme pyramide, lisses et muqueuses, à contour irrégulier, de couleur bleue.	Bacilles à Gram (-)
	Petites colonies, de forme pyramide, lisses et muqueuses, à contour irrégulier, pourpre.	Bacilles à Gram (-)

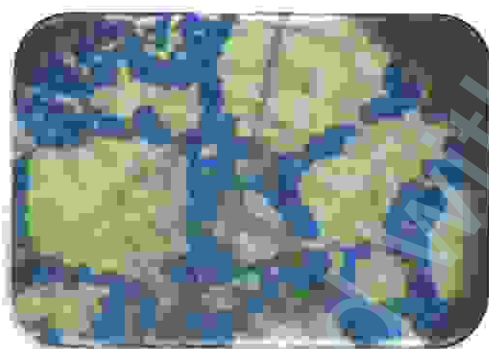


Figure 29: Cocci Gram (+)

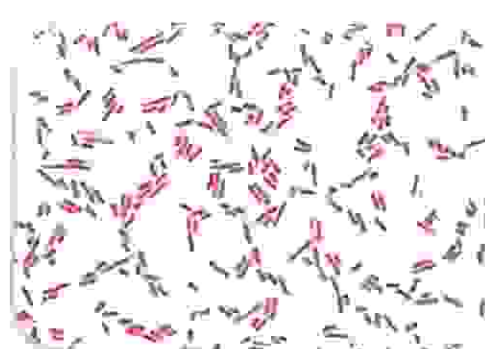


Figure 30: Bacille Gram (-)

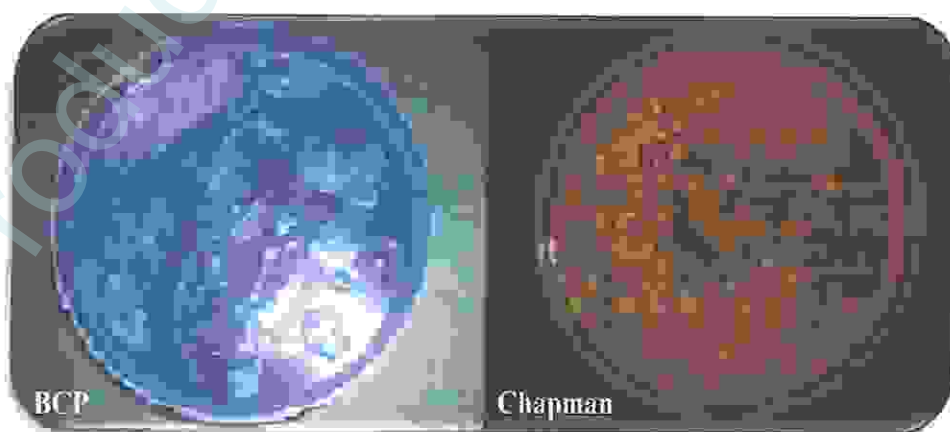


Figure 31: Recherche bactériologique sur les milieux gélosés

#### 1.4.2. Caractères biochimiques :

A fin d'arriver à une identification des espèces bactériennes isolées à partir des trois sites, les tests sur Api 20 E et les tests par la galerie biochimique classique nous ont permis de caractériser cinq espèces appartenant aux genres *Providenciae* et *Klebsiella oxytoca* d'une part et *Escherichia coli*, *Yersinia* d'autre part pour les catégories des Entérobactéries (Tab.III et IV, Fig.32- 33-34-35-36).

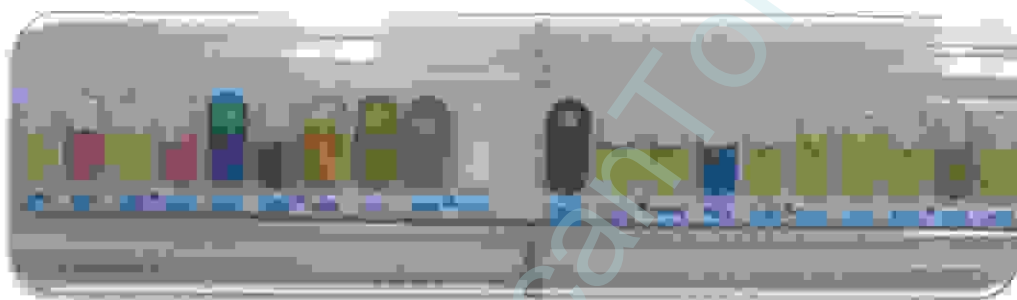


Figure 32: Profile biochimique de *Providencia*

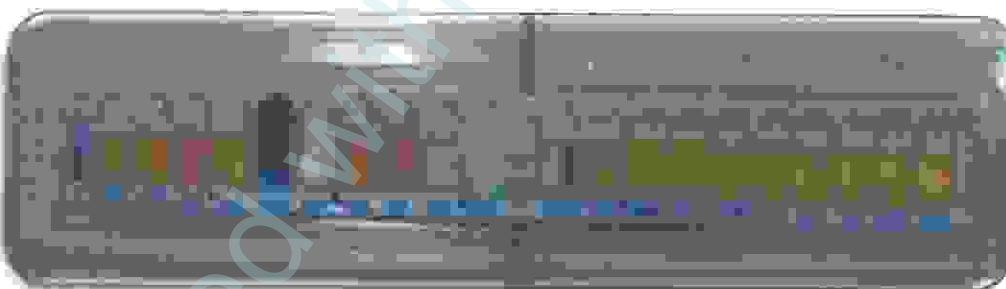


Figure 33: Profile biochimique de *Klebsiella oxytoca*

Tableau III: Résultats de l'identification biochimique par Api 20 E

	Code	Genre
Site 01	3366573	<i>Providencia</i>
Site 02	5254773	<i>Klebsiella oxytoca</i>



Figure 34: résultat de la galerie classique pour *Yersinia*

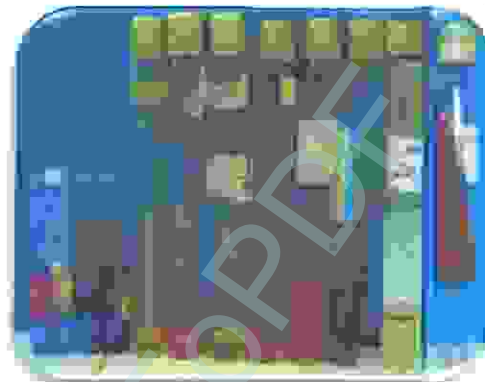


Figure 35: résultat de la galerie classique pour *E.coli*

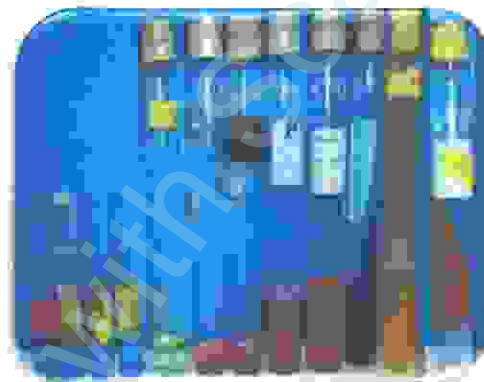


Figure 36: résultat de la galerie classique pour *Enterobacter*

Tableau IV: Résultats de l'identification biochimique par la galerie classique

	Genre
Site 01	<i>Yersinia</i> <i>E.coli</i>
Site 02	<i>Enterobacter</i>
Site 03	<i>E.coli</i>



En ce qui concerne la catégorie *Staphylococcus*, les tests mannitol mobilité, catalase et coagulase nous ont permis de caractériser l'espèce *Staphylococcus epidermidis*. (Fig 37 et TabV).



Figure 37: Résultats du profil biochimique de staphylocoques

Tableau V: Résultats du profil biochimique de staphylocoque

Caractères	Site 01	Site 02	Site 03
Mannitol /mobilité	+/-	+/-	+/-
Catalase	+	+	+
Staphylocoagulase	-	-	-
Nom de l'espèce	➤ <i>Staphylocoque epidermidis</i>		

A lumière de l'ensemble de ces résultats, il est permis de constater que les eaux usées bien qu'elles arrivent très chargées en bactéries probablement très diversifiées, les traitements que cette eau subit dans cette station sont acceptables.

## 2. Résultats des analyses physico-chimiques :

Les résultats des analyses physico-chimiques des eaux usées dans les 03 sites sont présentés dans le Tableau VI.

Tableau VI: Analyses physico-chimiques des eaux usées.

Les paramètres physico-chimiques	Unité	Site 01	Site 02	Site 03
Température	°C	13,5	14,5	14,5
pH	/	7,8	7,3	7,3
Conductivité	us /cm	1,24	1,15	1,11
DBO <sub>5</sub>	mg/l	206	10	07
DCO	mg/l	438	48	42
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (Azote Ammoniacal)	mg/l	23	1,8	1,2

### 2.1. La température (T°):

La variation de la température aux niveaux des trois sites est représentée dans l'histogramme ci-dessous (Fig.38).

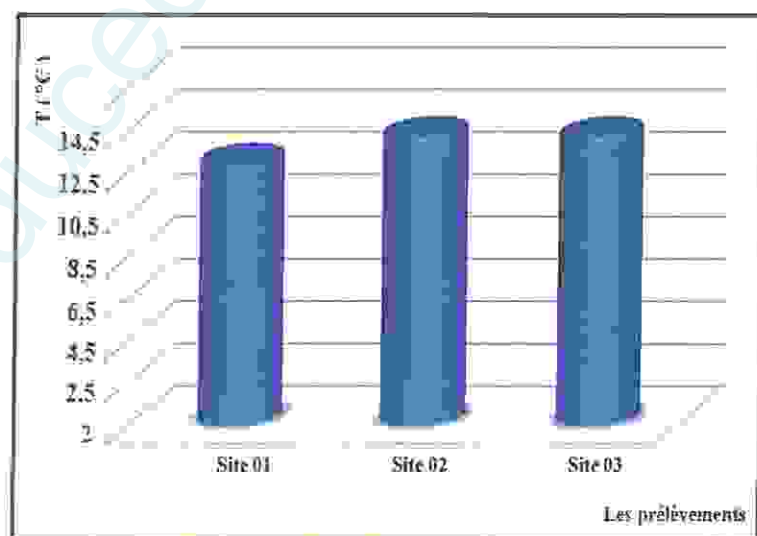


Figure 38: Représentation graphique de la température.

La température influe sur quelques caractéristiques de l'eau comme la densité et la vitesse des réactions chimiques et d'après le graphe ci-dessus on remarque que la température est presque moyenne et constante ( $13^{\circ}\text{C} - 14^{\circ}\text{C}$ ).

## 2.2. Le pH :

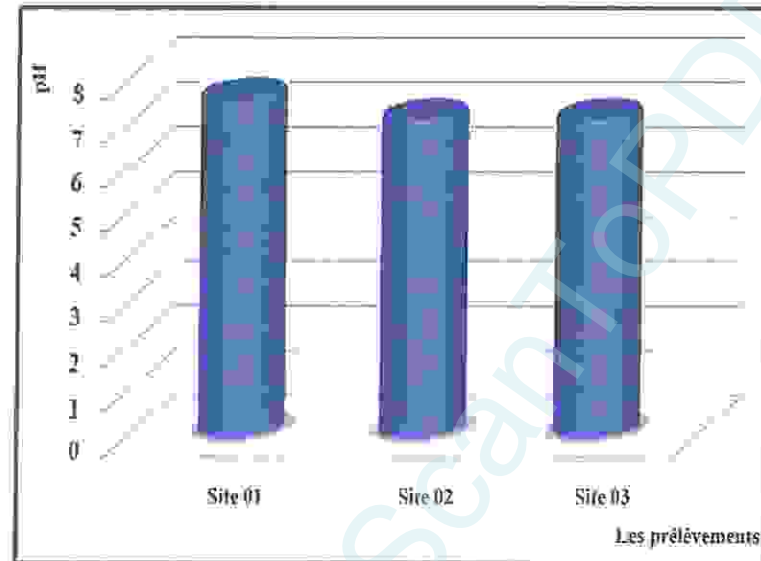


Figure 39: Représentation graphique du pH.

Le pH des trois prélèvements répond à la norme (annexe IV) d'une eau domestique (pH entre 7 et 9):

## 2.3. Conductivité électrique:

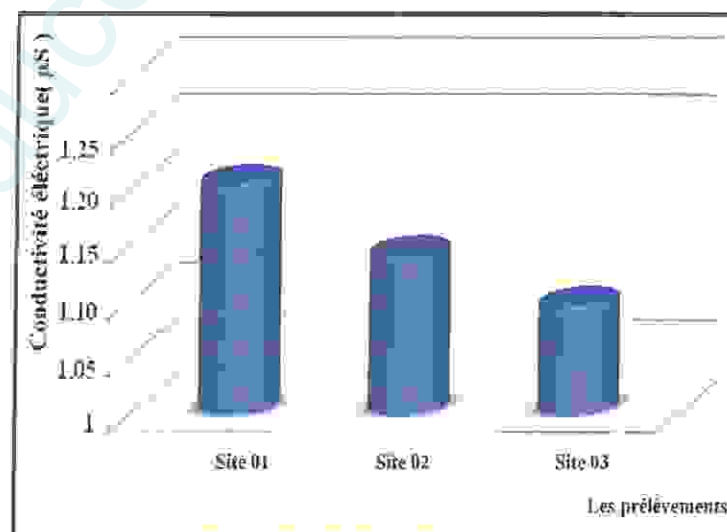


Figure 40: Représentation graphique de la conductivité électrique.

D'après les résultats de ces prélèvements on constate que la conductivité est conforme aux normes, ceci peut être expliqué par l'absence de produits chimiques dans ces eaux.

#### 2.4. La DBO<sub>5</sub>:

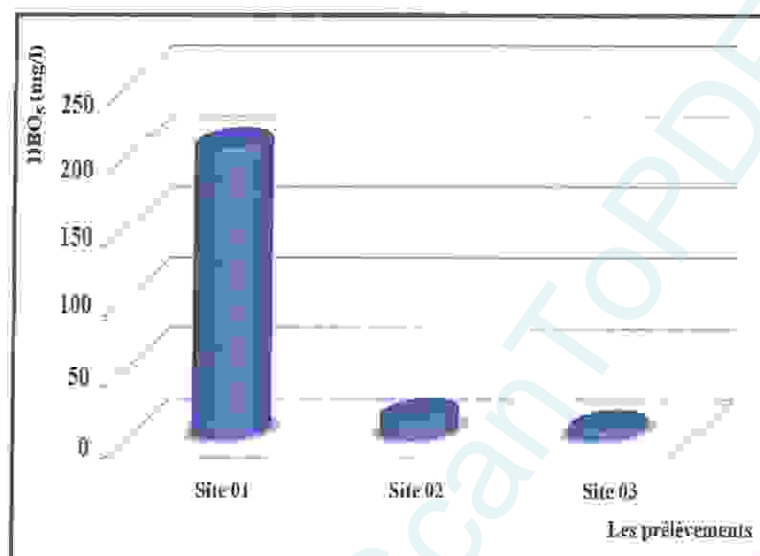


Figure 41: Représentation graphique de la DBO<sub>5</sub>

D'après le graphé on voit qu'il y'a un abatement très important dans ce paramètre dans les prélèvements des sites 02 et 03 ce qui témoigne d'un traitement efficace dans l'élimination d'une bonne charge en polluant constitué essentiellement en matière organique.

#### 2.5. La DCO :

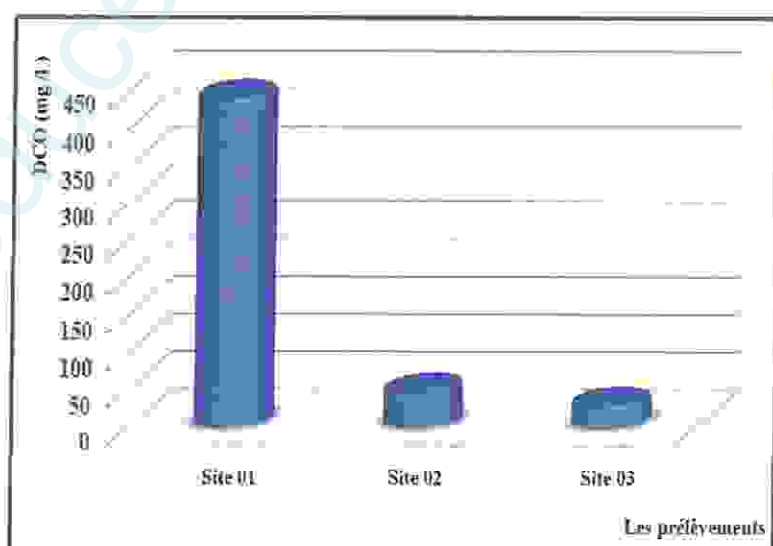


Figure 42: Représentation graphique de la DCO.

D'après le graphe on constate que le traitement est très fiable ce qui montre la capacité d'élimination de polluant grâce à l'oxydation d'oxygène.

### 2.6. L'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) :

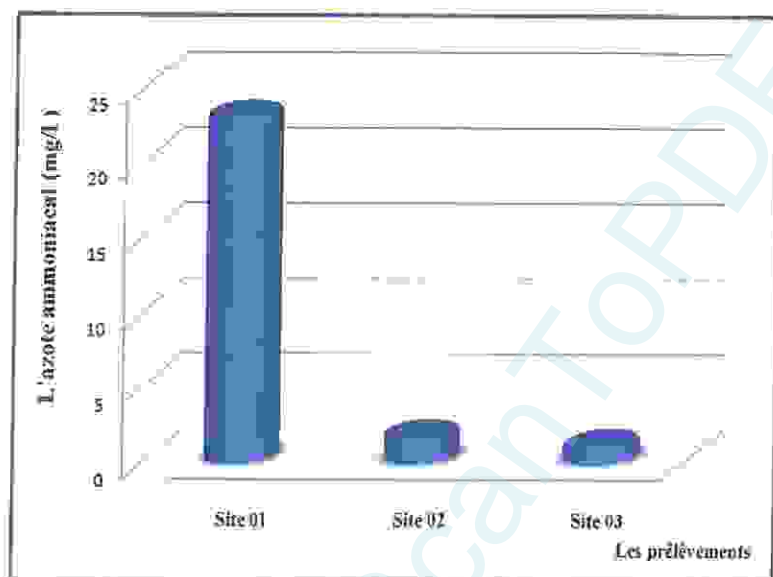


Figure 43: Représentation graphique de l'azote ammoniacal.

D'après le graphe (Fig.43), on constate que le taux de l'azote ammoniacal est entrain de se diminuer à cause des phénomènes de dénitrification et de nitrification, qui se font au cours du traitement au niveau du bassin d'aération.

A la lumière de l'ensemble de ces résultats de l'analyse physico-chimique effectuée à partir des prélèvements des 3 sites, il ressort que l'eau arrive à la station chargée essentiellement par des polluants de nature domestique (charge moyenne) et elle sort débarrassée du maximum de sa charge ce qui explique que le traitement que subit cette eau est efficace.

# ***CONCLUSION***

Produced with ScanTOPDF

## Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié la qualité physicochimique et bactériologique des eaux usées de la ville de Guelma. Les échantillons ont été prélevés à partir de trois sites différents (site 01 : à l'entrée de la STEP, site 02 : à la sortie du clarificateur et le site 03 : à la sortie de la STEP).

L'analyse bactériologique a porté principalement sur le dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les *Clostridium* sulfite-réducteurs et la recherche de bactéries pathogènes à savoir les staphylocoques, les Salmonelles et les Schigelles.

Dans cette analyse, les tests d'identification des bactéries isolées ont permis d'identifier les bactéries : au niveau du site 01, *Providencia*, *Yersinia* et *E.coli*. Au niveau du site 02, *Enterobacter*, *Klebsiella* et au niveau du site 03, *E.coli*. L'absence totale des salmonelles et des schigelles aux niveaux des trois sites de prélèvement peut être due à l'extrême exigence de ces bactéries car à part les sites 02 et 03, il est fort probable que le site 01 peut en contenir.

Concernant les analyses physicochimiques, nous avons étudié quelques paramètres (pH, température, conductivité électrique, DBO<sub>5</sub>, DCO et NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) ceci nous a permis de :

Conclure que l'eau arrive à la station est chargée essentiellement par des polluants de nature domestique (charge moyenne) et elle sort débarrassée du maximum de sa charge, ceci est traduit par des résultats conformes aux normes algériennes, ce qui explique que le traitement effectué est acceptable.

A partir de ce travail, il sera intéressant d'envisager d'autres travaux de recherche qui viseront la recherche et l'identification avec des méthodes plus performantes des bactéries présentes dans ces eaux et aussi de faire la corrélation qualité physico-chimique-qualité bactériologique et l'effet des différents stades du traitement sur ces qualités.

# ***RESUME***

Produced with ScantOPDF



## المخلص

مياه الصرف الصحي محملة بشكل كبير بمختلف الملوثات، مما يطرح مشكلة التلوث البيئي لهذا السبب لا بد من حماية هذا الأخير بمعالجة هذه المياه.

في هذا العمل، ولتحديد الحالة الفيزيائية-الكيميائية والبكتريولوجية لمياه الصرف الصحي للمدينة قالمة، تم جمع ثلاث عينات من ثلاثة مواقع مختلفة في محطة معالجة مياه الصرف.

وقد أظهرت لنا نتائج التحليل البكتريولوجية لهذه المياه تلوث برازي مع تركيز عال من مجموع القولونيات و القولونيات البرازية والعقديات البرازية و اللاهوائية مخفضات سلفوت وذلك في الموقع الأول. خلال هذه الدراسة، تمكنا أيضا من تحديد البكتيريا: بروفيدونسيا، برسينيا، الأمعائية، الكلبييلة ونوع الاشريكية القولونية أخيرا التحاليل الفيزيائية والكيميائية و البكتريولوجية المنجزة، سمحت لنا أن نستنتج أن علاج تنقية هذه المياه مقبول.

### الكلمات المفتاحية:

مياه الصرف الصحي / التلوث / الحالة الفيزيائية الكيميائية / الحالة البكتريولوجية / محطة العلاج.

## Résumé

Les eaux usées sont fortement chargées en polluants et en contaminants divers, ce qui pose le problème de pollution de l'environnement c'est pour cela qu'il est impératif de protéger ce dernier par le traitement de ces eaux.

Dans ce travail, afin de déterminer la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées de la ville de Guelma, trois échantillons ont été prélevés à partir de trois sites différents au niveau de la STEP.

Les résultats des analyses bactériologiques de ces eaux nous ont montré une contamination fécale avec une forte concentration en coliformes totaux et fécaux, en streptocoques fécaux et en anaérobies sulfite-réducteurs et ceci au niveau du premier site. Durant cette étude, on a pu également identifier les bactéries : *Providencia*, *Yersinia*, *Entérobacter*, *Klebsiella oxytoca* et l'espèce *E.coli*. Finalement, les analyses physico-chimiques et bactériologiques effectuées nous ont permis de conclure que le traitement épuratif de ces eaux est acceptable

### Mots clés :

Eaux usées, pollution, qualité physico-chimique, qualité bactériologique, station, traitement.

Produced with Scantopdf

## Abstract

Wastewater is heavily loaded with pollutants and various contaminants, which poses the problem of environmental pollution that is why it is imperative to protect this latter by the treatment of sewage.

In this work, to determine the physico-chemical and bacteriological quality of wastewater of Guelma city, three samples were collected from three different sites at the WWTP.

The bacteriological results of these waters have shown a fecal contamination with a high concentration of total and fecal coliforms and fecal streptococci and fecal anaerobic sulfite-reducers and this at the first site. In this study, we have also identified bacteria: *Providencia*, *Yersinia*, *Enterobacter*, *Klebsiella oxytoca* and *E. coli*.

Finally, the analysis of physico-chemical and bacteriological quality performed allowed us to conclude that the purification treatment of these waters is acceptable.

### Key-words:

Sewage/ Pollution/ Physico-chemical quality/ Bacteriological quality/ Resort treatment.

Produced with ScanTopdf

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

Produced with ScanTopDF

## Références bibliographiques

Abda H., Bouchahed L., (2009)

Caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques des eaux usées de rejets d'Oued EL maiz et Traitement avec le Typha latifolia. Mémoire d'ingénieur d'état. Université 08 Mai 1945, Guelma. 778 p.

Belaze A., Limane F., (2008)

Qualité physico-chimique et microbiologique des eaux usées des principaux rejets de la ville de Guelma (Nord-Est Algérien ). Mémoire d'ingénieur d'état. Univ 08 Mai 1945, Guelma. 56p.

Boucherit K., Kadi K., et Dafri F.Z., (2009)

Caractérisation microbiologique et physico-chimique de l'eau pendant son épuration au niveau de la STEP de la ville de Guelma. Mémoire d'ingénieur d'état. Univ 08 Mai 1945, Guelma. 89 p.

Bourjois C.M., Leveau J.Y., (1980)

Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaire. T3. Apria 331p.

Elarfi A., (2009)

Contribution à l'étude de la pollution des eaux de bassin de la Seybouse : cas des rejets industriels de l'unité de meuble et du carrelage. Suivi de la qualité physico-chimique et bactériologique. Mémoire de magister. Univ 08 mai 1945, Guelma. 103 p.

Guarino C., (1975)

Exploitation des stations d'épuration des eaux usées .Edition water pollution control fédération .526 p.

Gauthier M., Pietri C., (1989).

Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Edit. Masson.447p.

Gaujous D., (1995)

La pollution des milieux aquatiques. Edit. Lavoisier techniques et documentation .Paris.217p.

Joffin J., Leyrol G., (2001)

Microbiologie technique 1 : dictionnaire des techniques ,3<sup>ème</sup> édition .CRDP d'aquitaine .320p.

Joly B., Reynaud A., (2003)

Entérobactéries : systématiques et méthodes d'analyses. Edit. Techniques et Documentation. Paris. 356p.

Karaali R., Khettal M. et Reggam R., (2009)

Contribution à l'étude bactériologique et physico-chimique d'une eau usée avant et après épuration (STEP de Guelma). Mémoire d'ingénieur d'état. Univ 08 mai 1945, Guelma. 107p.

Koller E., (2004).

Traitement des eaux : pollutions industrielles (Eau, Air). Edit. Dunod. Paris.

Ladjel F., bouchefer S.A. (2008)

Exploitation d'une STEP à boues activées et d'une lagune, niveau II. Centre de formation aux Métiers de l'Assainissement. CFMA-BOUMERDES.

Lebres E., (2005)

Manuel des travaux pratiques : analyse des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 60 p.

Lebres E., (2006)

Manuel des travaux pratiques : analyse des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 60 p.

Leclerc H., Gailard J.L. et Simonet M., (1995)

Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edit. Doin. 535p.

Mechai A., (2009)

Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat de l'université Badji Mokhtar, Annaba, 160 p.

Merzoug S., (2009)

Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Gara et Hadj-Taher ( Benazzouz, wilaya de Skikda. Mémoire de magister, Univ 08 mai 1945, Guelma. 106 p.

Morakchi H., (2002)

Caractéristique physico-chimique et bactériologique des eaux usées d'Ouargla avec un essai d'épuration biologique en vue de leur utilisation en irrigation. Mémoire de magister Univ. Badji Mokhtar. Annaba, Algérie. 189 p.

Pnue / OMS., (1977)

Recommandation pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles. Bureau régional de l'OMS pour l'Europe, Copenhague. 168p.

Rejsek F., (2002)

Analyse des eaux : aspects réglementaires et technique. Sceran.Paris.360 P.

Rodier J., Bazin C., Chanbo P., Broutin J.P., Champsaur H. et Rodi L., (1996)

L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer. 8<sup>ème</sup> édition. Dunod, Paris. 1383p.

Rodier J., (2005)

L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mers.8<sup>ème</sup> édition. Dunod. Paris .1383 p.

Sayad L., (2008)

Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre lac des oiseaux (wilaya EL Tarf) : Mémoire de magister, Univ Badji mokhter. Annaba. 110 p.

Sharpe M. E., (1979)

Identification of the lactic acid bacteria, identification methods for microbiologists. Lovelock. Edit. Academic press. London. pp1233 - 1255.

Produced with ScanTopDF

## Webographie

- (1)-<http://www.ors-idf.org/dmdocuments/REURapport.pdf>. DC: 17/04/2011.
- (2)- [http://gue.univ-reunion.fr/ressources/GUE/Cours%20M2/UE4B/EAUX\\_USEES.pdf](http://gue.univ-reunion.fr/ressources/GUE/Cours%20M2/UE4B/EAUX_USEES.pdf) DC: 22/05/2011
- (3)-[http://www.vitamedz.com/une-station-d-epuration-et-le-discours-de-bajollet-a-guelma/Articles\\_15688\\_159110\\_0\\_1.html](http://www.vitamedz.com/une-station-d-epuration-et-le-discours-de-bajollet-a-guelma/Articles_15688_159110_0_1.html)
- (4)-<http://www.cdummond.qc.ca/cegep/scnature/chimie/NotesDeCours/ChimieNYA/chapitre4.pdf>. DC: 31/05/2011.
- (5)-<http://www.memoireonline.com/08/09/2463/Contribution--letude-des-parametres-physico-chimiques-et-bacteriologiques-de-lembouchure-de-l.html>. DC: 17/04/2011.
- (6)-<http://www.unc-cau-purc.com/traitement-de-leau/station-depuration-des-eaux-usees-ou-step.html>. DC: 28/05/2011
- (7)- [http://info.k4health.org/pr/prf/fm14/fm14chap5\\_1.shtml](http://info.k4health.org/pr/prf/fm14/fm14chap5_1.shtml). DC: 20/04/2011.
- (8)-<http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:2sO4wJdnizAJ:microbiologie>. DC: 31/05/2011.
- (9)-[http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests\\_microbiologie2.htm](http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm). DC: 13/05/2011.
- (10)-[http://stilbioch.apinc.org/documents/microbio/decarboxylases\\_et\\_hydrolase.pdf](http://stilbioch.apinc.org/documents/microbio/decarboxylases_et_hydrolase.pdf). DC : 13/05/2011.



# *ANNEXES*

Produced with ScantOPDF

## Annexes I

### Materiel utilisé:

#### 1- Verrerie :

- ✓ Tube à essai ;
- ✓ Béchers ;
- ✓ Pipettes graduées ;
- ✓ Pipettes Pasteur ;
- ✓ Flacons ;
- ✓ Lames ;

#### 2- Appareillage :

- ✓ Etuve ;
- ✓ Autoclave ;
- ✓ Réfrigérateur ,
- ✓ Balance ;
- ✓ Bain marie;
- ✓ Centrifugeuse réfrigérée ;
- ✓ Agitateur et barreau magnétique ;
- ✓ Microscope optique (objectif à immersion).

#### 3- Autre matériel :

- ✓ Bec bunsen ;
- ✓ Anse de platine ;
- ✓ Boite de pétri ;
- ✓ Ependorffs ;
- ✓ Portoirs ;
- ✓ Micropipettes et cônes ;

## Annexe II

### ❖ Milieu BCPL (Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol) : S/C

#### Composition pour 1L

- |  |        |
|--|--------|
| ✓ Peptone  | 5g     |
| ✓ Extrait de viande  | 3g     |
| ✓ Lactose  | 5g     |
| ✓ Bromocrésol pourpre  | 0,025g |
| ✓ Le pH doit être 6,9, l'autoclavage à 120°C pendant 20 min. |        |

### ❖ Milieu ROTHE : S/C

#### Composition pour 1L

- |  |       |
|--|-------|
| ✓ Peptone  | 20g   |
| ✓ Glucose  | 5g    |
| ✓ Azide de sodium  | 0,2 g |
| ✓ Chlorure de sodium   | 5g    |
| ✓ Phosphate bipotassique   | 2,7g  |
| ✓ Phosphate monopotassium  | 2,7 g |
| ✓ Le pH doit être 6,8 à 7, l'autoclavage à 120°C pendant 20 min. |       |

### ❖ Gélose TGEA :

#### Composition :

- |  |     |
|--|-----|
| ✓ Peptone de caseine                                       | 5g  |
| ✓ Extrait de viande  | 3g  |
| ✓ Extrait de levure  | 1g  |
| ✓ Glucose  | 1g  |
| ✓ Agar   | 18g |
| ✓ Le pH doit être 7, l'autoclavage à 120°C pendant 20 min. |     |

### ❖ Gelose BCP (Pourpre de bromocrésol) :

- |  |        |
|--|--------|
| ✓ Peptone  | 5g     |
| ✓ Extrait de viande  | 3g     |
| ✓ Lactose  | 5g     |
| ✓ Pourpre de bromocrésol                                   | 0.025g |
| ✓ Eau distillée  | 1000ml |
| ✓ Le pH doit être 6, l'autoclavage à 120°C pendant 20 min. |        |

### Annexe III

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

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultat	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/Immédiate	
IND	Tryptophane	Production d'indole	Jaune	Marron foncé
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mm	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
			Ox / 5-10 mm	
OX	Sur papier-filtre	Cytochrome-oxydase	Incolore	Anneau violet
			NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mm	
NO <sub>3</sub> -NO <sub>2</sub>	Tube GLU	Production de NO <sub>2</sub> Réduction au stade N <sub>2</sub>	Jaune	Rouge
			Zn	
			Rouge	Jaune
MOB	Microscope	Mobilité	Immobilité	Mobile
MAC	Milieu de Mac Conkey	Culture sur	Absence	Présence
			Rouge	Jaune
OF	Glucose	Fermentation : sous huile Oxydation : à l'aire	Vert	Jaune
			Vert	Jaune
			H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / 1-2 mm	
CAT	/	Possession d'une catalase	Pas de bulles	Bulles

Annexe V :

Office national de l'assainissement : Direction de l'exploitation et de la maintenance

Les paramètres physico-chimiques	Unité	Les norms
Température	°C	20 à 25
pH	/	6,5 à 8,5
Conductivité	us/cm	/
DBO <sub>5</sub>	mg/l	35 à 40
DCO	mg/l	120 à 130
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg/l	< 5

Produced with Scantopdf