

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



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

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Biotechnologie "

Spécialité: "Biotechnologie Microbienne"

Thème

Caractérisations physico-chimiques et bactériologiques de quelques
puits de la ville de Tiaret

JURY:

- Président : Mme Ghafoul Zohra
- Promoteur : Mr SASSI .M

présenté par:

- BouabdelliHaloui

Année universitaire: 2017 -2018

وَأَنْتَ أَيُّهَا
مُرْسَلٌ
بِالْبَيْتِ
حَدِيدِ

حَدِيدِ

Remerciements

Avant de présenter le contenu de notre travail, nous tenons à remercier le dieu et toute personne ayant apporté son soutien pour l'élaboration du présent mémoire.

En particulier, Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudee à **Mr SASSI.M.** pour avoir accepté de nous encadrer afin de réaliser notre travail ; pour leurs précieux conseils, et gentillesse.

Nous remercions également **Mme Ghafoul Zohra** d'avoir accepté de présider nos membres du jury.

Nous réservons nos particuliers et sincères remerciements pour tout le personnel de **C.A.C.Q.E**

A toutes personne affranchissant la porte de la faculté des sciences agrovétérinaires pour leur sympathies et leurs encouragements.

Dédicaces

Avec un grand sentiments et d'une joie immense, je dédie ce travail à :

Mes chers parents et ma petite fille qui m'ont aidé en me donnant l'amour et le soutien pour terminer mes études que dieu me les garde.

Toute la famille qui m'ont entouré de tout leur amour et amitié que dieu me les garde.

A tous mes amis qui m'ont aidé et tendu la main que ce soit de près ou de loin pour achever ce travail : **Abdeldjalil, Kebrit, Hallouz, Ismail, Bitass, Kadi, Benchaib, Radouane, Mustapha...etc.**

Ainsi qu'à toutes mes amies : **Tita, Aicha, Khaldia, Khaldia, Nawel, Hind, Mokhtaria, Asmaa, Amina, Wahiba, Nacera, Fatima ...etc.**

A tous les étudiants de ma promotion **2017/2018**

Ceux que je n'est pas cité, je les porte toujours dans mon cœur.

Sommaire

Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures
Introduction

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes.

I.1. Objectif	01
II -1- Présentation de la Zone d'Etudes.....	01
II -1-1 Situation géographique	01
II -1-2 Les ressources hydrauliques	01
III -Le protocole expérimental	03
IV- Matériels et méthodes	04
IV-1- Matériels	04
V- Les paramètres analysés	04
V-1 Détermination des paramètres physico-chimiques	04
V-1-1 Mesure de la température	04
V-1-2 Mesure du pH	04
V-1-3 Détermination des nitrites (NO_2^-)	05
V-1-4 Détermination des nitrates (NO_3^-)	07
V-2 Les analyses microbiologiques.....	08
V-2-1 Numération des germes totaux.....	08
V-2-2 Recherches et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	09
V-2-2-A Test présomptif (recherche des coliformes totaux).....	10
V-2-2-Test confirmatif (recherche des coliformes fécaux)	10
V-2-3 Recherches et dénombrement des streptocoques fécaux.....	10
V-2-4 Dénombrement du clostridium sulfito-réductrice	11
	12

chapitre II : Résultats et discussion.

II. Résultats du paramètre physico-chimique et bactériologique	13
II.1- Résultats et Discussions des Analyses physiques- chimique	13
II.1.1- Température.....	13
II.1.2. Le pH	14
II.1.3- Les nitrites (NO_2^-)	15
II.1.3- Les nitrates (NO_3^-)	15
II-2- Les analyses bactériologiques	16
II-2-1 les germes aérobie à 22°	17
II-2-2 les germes aérobie à 37°	17
II.2.3- Les coliformes totaux	18
II.2.3- Les coliformes fécaux	19
II.2.5- Les streptocoques fécaux	20
II.2.6- Clostridium sulfito réducteur	20

Conclusion

Annexes

Références bibliographiques

Liste des abréviations

UFC/ml : Unités formant des colonies par millilitre.

NPP : Nombre le plus probable.

BEA : Bile esculine azide.

TSC : Tryptose-sulfite à la cyclosérine.

BCPL: Gélose lactose au pourpepromocrésol.

TEA : Tryptophane a l'extrait de levure.

J.O.A : Journal Officiel Algérien.

ANIREF : Agence Nationale d'Intermediation et de Régulation Foncière.

mg/l : Milligramme par litre.

N : Normalité.

NO₂⁻ : Nitrites.

NO₃⁻ : Nitrates.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P : Puits

pH : Potentiel d'hydrogène.

T⁰ : Température.

TH : Titre hydrométrique.

°C : Degré Celsius.

λ : Longueur d'onde.

Liste des tableaux

Tableau n°01 :Etablissement de la courbe d'étalonnage NO_2^-	06
Tableau n°02 :Etablissement de la courbe d'étalonnage NO_3^-	07
Tableau n°03 : Résultats des analyses physique-chimique	15
Tableau n°04 : Résultats des analyses bactériologiques	18

Liste des figures

Figure n°01 :Situation géographique de la zone d'étude	2
Figure n°02 : Schéma du protocole expérimental.....	3
Figure n°03 : Histogramme des valeurs moyennes de mesure de température.....	15
Figure n°04 :Histogramme des résultats de mesure de PH des points de prélèvement.....	16
Figure n°05 :Histogramme des valeurs moyennes des nitrites (NO ₂ ⁻)	17
Figure n°06 : Histogramme des valeurs moyennes des nitrites (NO ₃ ⁻)	17
Figure n°07 :Histogramme représente le nombre desgermes aérobie à 22 °.....	19
Figure n°08 :Histogramme représente le nombre germes aérobie à 37 °.....	19
Figure n°09 :Histogramme représente le nombre des Coliformes totaux.....	20
Figure n°10 : Histogramme représente le nombre des Coliformes fécaux.....	21
Figure n°11 : Histogramme représente le nombre des streptocoque fécaux.....	22
Figure n°12 : Histogramme représente le nombre des clostridium sulfito réducteur.....	23

Introduction

Introduction

L'eau est essentielle à la vie et au bien-être de l'humanité, elle a besoin d'être protégée, traitée et économisée. Ses ressources sont précieuses et rares.

Aujourd'hui, la qualité de l'eau et de l'environnement nous concerne tous, cette dernière est prioritairement une exigence de santé, c'est pourquoi il est nécessaire de stocker l'eau et de la contrôler.

Les eaux profondes sont moins exposées à la pollution que les eaux superficielles et avec le temps, l'eau consommable est devenue une denrée rare. C'est la cause qui a conduit l'Homme à installer des barrages et des retenus d'eau pour s'en bénéficier en divers domaines, tels en consommation humaine, animale, industrielle et en irrigation.

L'objectif de ce travail est de déterminer le degré de potabilité ou de pollution des eaux de puits par le truchement de la physico-chimie et de la bactériologie.

Ainsi, les objectifs spécifiques assignés à cette étude consistent à :

- Caractériser les eaux du point de vue physico-chimique et bactériologique.
- Rechercher les indicateurs de potabilité ou de pollution.
- Déterminer dans le cas où elles existent le type et les sources de pollution des puits.
- proposer un moyen de protection de l'homme et de l'environnement.

Notre travail est composé de:

- Présentation de la zone d'étude (situation géographique).

La deuxième partie est l'étude expérimentale qui contient 02 chapitres :

- Matériel et Méthodes.
- Résultats et discussion.

Nous allons donc déterminer les paramètres physico-chimiques, chimiques et microbiologiques de cette retenue d'eau et quantifier sa pollution en faisant une étude comparative avec les normes d'eau potable fixées par **Rodier (2005)**.

Chapitre I :

Matériels

et

Méthodes

I - Objectif :

L'objectif de cette étude est d'estimer la qualité de l'eau de quelques puits de la ville de Tiaret après avoir fait quelques analyses physico-chimiques et bactériologiques. Les résultats de celles-ci seront comparés avec les normes algériennes des eaux potables.

II-1- Présentation de la Zone d'Etudes :**II-1-1 Situation géographique :**

La zone d'étude est localisée dans la ville de Tiaret, qui s'étend sur 20086Km², cette dernière est située à l'Ouest du pays. Sur les hauts plateaux Ouest entre la chaîne Tellienne au Nord et la chaîne Atlasique au Sud. Limitée par plusieurs wilayas à savoir :

- Au Nord par les wilayas de Tissemsilt et de Relizane.
- Au Sud, par les wilayas de Laghouat et d'El-Bayad.
- A l'Ouest, par les wilayas de Mascara et de Saida.
- A l'Est, par la wilaya de Djelfa.

Son espace est hétérogène et composé d'une zone montagneuse au Nord, des hauts plateaux au centre, des espaces semi arides au Sud (ANIREF, 2011).

II-1-2 Les ressources hydrauliques :

La longueur du réseau hydrographique de la wilaya s'élève à 1938 km, dont 889 km pour les oueds permanents et 1049 km pour les oueds intermittents. Les principaux oueds sont Oued Touil, Oued Mina, Oued El Abed, Nahr Ouassel. En période normale la wilaya de Tiaret reçoit 300 à 400 mm de pluies par an, avec une fluctuation saisonnière de la pluviométrie allant de 157 mm en hiver à 31 mm en été (ANIREF, 2011).

Selon (DRE, 2012), La ville de Tiaret contient au total 2460 puits et sources tels que :

- 2323 sont des puits privés.
- 114 sont des puits publics.
- 14 sont des puits agricoles.
- 9 sources.

Conditions de prélèvements :

Les prélèvements doivent être effectués, dans des flacons stériles en s'entourant de toutes les précautions nécessaires afin que, le prélèvement s'effectue avec toutes les garanties d'asepsie désirables.

D'une façon générale, le transport est assuré à la température de 4°C et à l'obscurité dans des emballages isothermes pour une conservation satisfaisante.

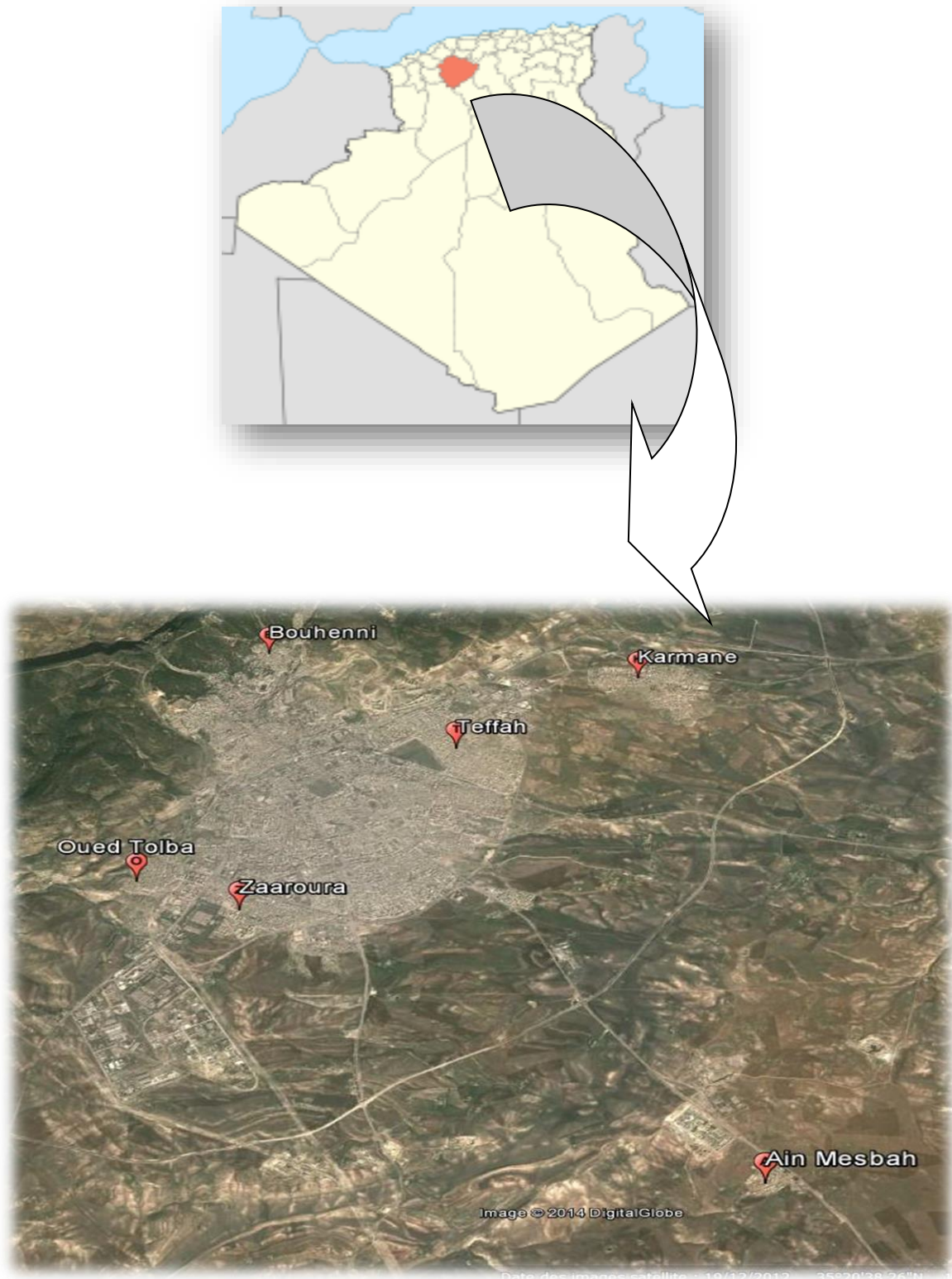


Figure n°01: Situation Géographique de la zone d'étude (googleearth).

III-Le protocole expérimental :

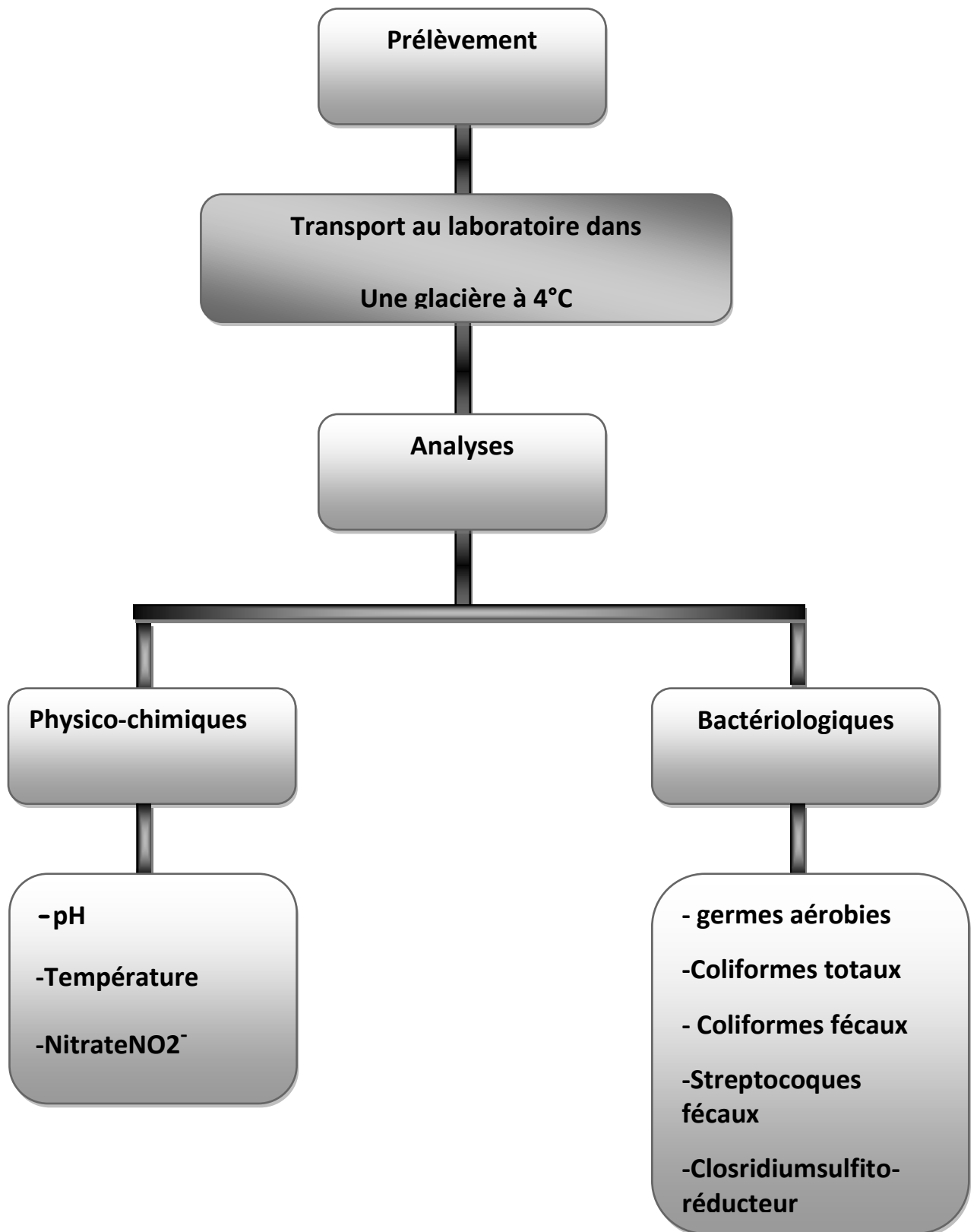


Figure n°02: Schéma du protocole expérimental.

IV- Matériels et méthodes :**IV-1- Matériels :**

- Agitateur magnétique chauffant.
- Autoclave.
- Bain-marie.
- Balance analytique.
- Bec benzène.
- Chronomètre.
- Etuves.
- pH-mètre.
- Réfrigérant.
- Spectrophotomètre.
- Thermomètre.
- Verrerie propre et spécifique à chaque usage.

V- Les paramètres analysés :**V-1 Détermination des paramètres physico-chimiques :****V-1-1 Mesure de la température :**

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision, elle est essentielle pour les réactions physico-chimiques et biologiques et joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz. **(Rodier, 2005)**.

Mode opératoire :

La température est déterminée sur place à l'aide d'un thermomètre simple :

- Faire plonger le thermomètre dans l'eau à l'endroit du prélèvement :
- Effectuer la lecture de sorte que l'extrémité inférieure du thermomètre reste immergée dans l'eau ;
- **Le résultat est donné directement en °C.**

V-1-2 Mesure du pH :

Il est nécessaire de contrôler le pH de l'effluent brut car une valeur inférieure à 6,5 ou supérieure à 9 peut avoir une influence sur le milieu récepteur. **(Rodier, 2005)**.

Mode opératoire :

Le pH a été mesuré simplement avec un pH-mètre .

V-1-3 Détermination des nitrites (NO_2^-) :

Suivant l'origine des eaux, la teneur en nitrites est assez variable, la méthode au réactif de Zambelli peut être appliquée pour des teneurs en ions NO_2^- supérieures à $50 \mu\text{g/l}$, la seconde méthode a une sensibilité plus élevée de l'ordre de quelques microgrammes par litre, il sera nécessaire d'en tenir compte pour l'interprétation des résultats et de prendre toutes précautions utiles pour la pureté des réactifs et la propreté de la verrerie.

Sous l'action des phénomènes biologiques, l'équilibre entre l'ammoniaque, les nitrites et les nitrates peut évoluer rapidement, il convient donc de procéder au dosage des nitrites le plus tôt possible après le prélèvement, ou d'ajouter 40 mg de bichlorure de mercure par litre et de le conserver à 4°C . (Rodier, 2005).

Méthode au réactif de Zambelli :**Principe :**

L'acide sulfanilique en milieu chlorhydrique, en présence d'ion ammonium et de phénol, forme avec les ions NO_2^- un complexe coloré jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en nitrite.

Réactifs :

-Ammoniaque pure ($d=0.925$).

- réactif de Zambelli :

Acide chlorhydrique pur ($d=1.19$).....	260 ml
Acide sulfanilique.....	5g
Phénol cristallisé.....	7.5g
Chlorure d'ammonium	135g
Eau distillée (exemple d'ion NO_2^-).....	625ml

Introduire dans une fiole jaugée d'un litre, l'acide chlorhydrique et l'eau distillée, puis y dissoudre l'acide sulfanilique et le phénol en chauffant légèrement au bain -marie. Après dissolution complète ajouter le chlorure d'ammonium.

Et agiter jusqu'à dissolution, après refroidissement ajuster s'il y a lieu le volume de solution à 1 litre avec de l'eau distillée.

- solution mère étalon de NO_2^- à 0.23g/l .

Nitrite de sodium0.345g

Eau fraîchement distillée 1000ml

Cette solution se conserve mieux si l'on prend la précaution d'y ajouter 1 ml de chloroforme.

- Solution fille étalon d'ion NO_2^- à 0.0023 g/l .

Amener 1 ml de la solution mère à 100 ml avec de l'eau distillée.

Etablissement de la courbe d'étalonnage :

Dans une série de fioles jaugées à 50 ml et numérotées introduire successivement en agitant après chaque addition :

Numéro des fioles	T	1	2	3	4	5
Solution fille étalon à 0.0023 g/l de NO₂⁻ (ml)	0	1	5	10	15	20
Eau distillée (ml)	50	49	45	40	35	30
Réactif de Zambelli (ml)	2	2	2	2	2	2

Attendre 10 minutes et ajouter

Ammoniaque pure (ml)	2	2	2	2	2	2
Correspondance en mg/l de NO₂⁻	0	0.046	0.23	0.46	0.69	0.92

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 435 nm .construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire :

Prélever 50 ml d'eau à analyser, ajouter 2 ml d réactif de Zambelli, agiter et laisser au repos 10 minutes, ajouter ensuite 2 ml d'ammoniaque pure ; effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 435 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin.

Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats :

Pour une prise de 50 ml, la courbe donne directement la teneur en NO₂⁻, exprimée en milligrammes par litre d'eau. (Rodier, 2005).

V-1-4 Détermination des nitrates (NO_3^-) :**Méthode au salicylate de sodium :****Principe :**

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitro-salicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

Réactif :

- Solution de salicylate de sodium à 0.5 % à renouveler toute les 24 heures.
- Acide sulfurique concentré ($d=1.84$).
- Solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium :

Hydroxyde de sodium	400g
Tartrate double de sodium et de potassium	60g
Eau distillée.....	1000ml

Faire dissoudre les sels dans de l'eau. Laisser refroidir et compléter à 1000 ml a conservé dans un flacon en polyéthylène.

- Solution mère étalon d'azote nitrique à 0.1 g/l :

Nitrate de potassium anhydre	0.722g
Eau distillée	1000 ml
Chloroforme (pour conserver).....	1 ml
- Solution fille étalon d'azote nitrique à 0.005 g/l.
Amener 50 ml de la solution mère à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Etablissement de la courbe d'étalonnage :

Dans une série de capsules de 60 ml, introduire successivement :

Numéro des capsules	T	1	2	3	4
Solution étalon d'azote nitrique à 0.005g/l (ml)	0	1	2	5	10
Eau distillée (ml)	10	9	8	5	0
Correspondance en mg/l d'azote nitrique	0	0.5	1	2.5	5
Solution de salicylate de sodium (ml)	1	1	1	1	1

Evaporer à sec au bain-marie ou dans une étuve portée à 75-80°C (ne pas surchauffer, ni chauffer trop longtemps), laisser refroidir, reprendre le résidu par 2 ml d'acide sulfurique concentré en ayant soin de l'humecter complètement. Attendre 10 minutes, ajouter 15 ml d'eau distillée puis 15 ml de la solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium qui développe la couleur jaune. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 420 nm. Soustraire des densités optiques lues pour les étalons, la valeur relevée pour le témoin. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire :

Introduire 10 ml d'eau dans une capsule de 60 ml (pour des teneurs en azote nitrique supérieur à 10 mg/l, opérer une dilution). Alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium. Ajouter 1 ml de solution de salicylate de sodium puis poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 10 ml d'eau bi distillée, effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 415 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin.

Se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats :

Pour une prise d'essai de 10 ml, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimée en milligrammes par litre d'eau, pour obtenir la teneur en nitrate (NO₃), multiplier ce résultat par 4.43. (Rodier, 2005)

V-2 Les analyses microbiologiques :

Le test bactériologique consiste à rechercher si l'eau est contaminée par les germes indicateurs de pollution.

V-2-1 Numération des germes totaux :**Mode opératoire :****Préparation et ensemencement :**

Préparer l'échantillon, procéder aux dilutions et ensemercer les milieux de cultures selon la méthode de dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture.

Utiliser la méthode par incorporation (la méthode de dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture).

Placer un volume de la prise d'essai (ou de ses dilutions) n'excédant pas 2 ml dans la boîte de pétri, ajouter 15 ml à 20 ml de milieu fondu de TEA et mélanger avec précaution par rotation lente.

Laisser le milieu se solidifier, le temps entre l'addition de la prise d'essai (ou ses dilutions) et l'addition du milieu fondu ne doit pas excéder 15 min. Ensemencer au moins une boîte par température d'incubation.

Incubation:

Retourner les boîtes et incuber un jeu à (36 ± 2) °C pendant (44 ± 4) h, incuber l'autre jeu à (22 ± 2) °C pendant (68 ± 4) h. Examiner les boîtes aussitôt qu'elles sont retirées des étuves, si cela n'est pas possible, les conserver à (5 ± 3) °C et les examiner dans les 48 h, rejeter toute boîte présentant une croissanceconfluente.

Comptage des colonies:

Pour chaque température d'incubation, et selon les procédures décrites dans la méthode de dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture, compter les colonies présentes dans chaque boîte et calculer le nombre estimé d'unités formant les colonies présentes dans 1 ml d'échantillon.

Exprimer les résultats :

Sous la forme du nombre d'unités formant des colonies par millilitre (UFC/ml) d'échantillon pour chaque température d'incubation.

En l'absence de colonie dans les boîtesensemencées avec les volumes d'essai de l'échantillon non dilué, exprimer le résultat comme étant non détecté dans un millilitre, si les boîtesensemencées avec les plus fortes dilutions utilisées contiennent plus de 300 colonies, exprimer les résultats sous la forme > 300 ou uniquement en tant que valeurs approximatives. **(J.O.AN°35 du 27/05/1998 arrêté 24/06/2012)**

V-2-2 Recherches et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

La recherche et le dénombrement des bactéries coliformes, coliformes fécaux dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- le test de présomption : réservé à la recherche des Coliformes totaux,
- le test de confirmation : réservé à la recherche des Coliformes fécaux.

a. Test présomptif (recherche des coliformes totaux) :

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham ;

3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham ;

3 fois 0,1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham.

Chassez l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.

Incubation :

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture :

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

- Un dégagement de gaz, un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites.

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP (**MAC GRADY**).

b. Test confirmatif (recherche des coliformes fécaux) :

Le test de confirmation est basé sur la recherche de Coliformes fécaux parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Les coliformes fécaux ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C.

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

Chasser l'air éventuellement présent dans les Cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

Incubation :

L'incubation se fait à 44°C pendant 24 heures.

Lecture :

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

- un dégagement gazeux.
- un anneau rouge en surface, après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP pour obtenir le nombre de coliformes fécaux présents dans 100 ml d'eau.

Expression des résultats :

Le résultat est donné en nombre de germes par 100ml.(**J.O.AN°35 du 27/05/1998 arrêté 31/12/2012**)

V-2-3 Recherches et dénombrement des streptocoques fécaux :

La recherche et le dénombrement des Streptocoques du groupe « D » dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- le test de présomption: réservé à la recherche présomptive des Streptocoques.
- le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des Streptocoques du groupe « D ».

- Test de présomption :

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement:

3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C;

3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C;

3 fois 0,1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

Incubation :

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture :

Seront considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien ; seulement ces derniers :

- ne doivent en aucun cas faire l'objet de dénombrement ;

- doivent par contre, absolument faire l'objet d'un repiquage sur milieu BEA dans le but d'être justement confirmés.

- **Test de confirmation :**

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques du groupe « D » éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans des boîtes contenant le milieu B.E.A.

Incubation :

L'incubation se fait cette fois-ci à 44°C, pendant 24 heures.

Lecture :

- Seront considérés comme positifs, les boîtes présentant noircissement du milieu.

Expression de résultats :

Les résultats de dénombrement des streptocoques fécaux sont exprimés en nombre de germes par 100 ml(NPP).(I.S.O :7899/1)

V-2-4 Dénombrement du clostridium sulfite-réducteur :**Principe :**

Ensemencement en profondeur du milieu gélosé tryptose sulfite à la cyclosérine, on prend deux tubes à essai stériles tout en prélevant de chacun d'eux 1 ml d'eau à analyser et l'autre 20 ml, puis on fait le traitement thermique, il s'agit d'introduire les tubes contenant l'échantillon dans un bain-marie à une température de 80°C pendant dix (10) minutes puis juste après on les refroidit par l'eau de robinet et cela pour empêcher le développement des spores, puis on coule les deux tubes, par le milieu de culture spécifique TSC, on laisse les mélanges se solidifier.

Incubation des tubes à 46 °C en anaérobiose pendant (20 ± 2) h, dénombrement des colonies caractéristiques (entourées d'un halo noir).

Comptage des colonies :

Choisir les tubes contenant moins de 30 colonies caractéristiques et moins de 100 colonies autotal.

Les colonies caractéristiques sont entourées d'un halo noir.

Compter les colonies caractéristiques.(N.F :08-061)

Chapitre II :
Résultats
Et
discussions

II. Résultats des paramètres physico-chimique et bactériologique :

II.1- Résultats et Discussions des Analyses physico-chimiques :

Tableau n°01 : résultats des analyses physique-chimiques.

Prélèvement Paramètre	01	02	03	04	05	06	07	08	Normes
T° C	17.3	17.5	17.4	17.7	17.8	18.1	17.9	18.6	25
pH	7.17	7.78	7.16	7.20	7.50	7.08	7.55	6.99	6.5 - 9
Nitrite NO ₂ ⁻	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	< .0 2 mg/l
Nitrate NO ₃ ⁻	31.48	65.34	112.64	25.31	3.81	63.76	1.34	69.61	50 mg/l

II.1.1- Température

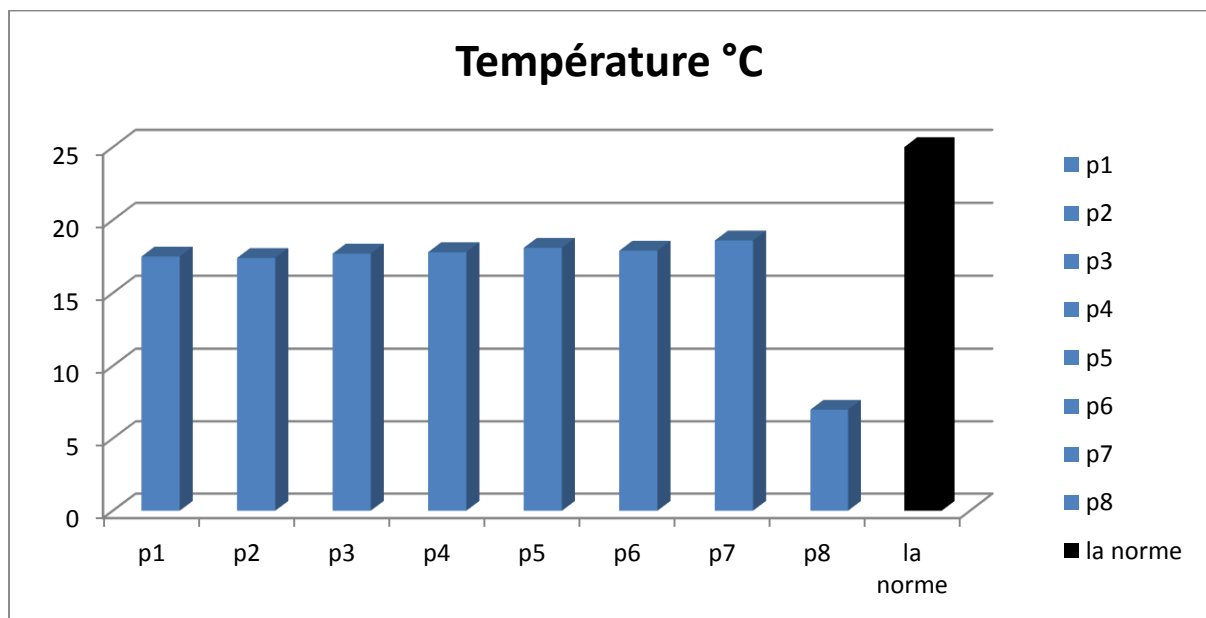


Figure n°03: histogramme des valeurs moyennes de mesure de température.

La température est un paramètre physique essentiel qui joue un rôle très important dans les activités chimiques et bactériennes, ainsi que dans l'évaporation des eaux .en effet, la T° de l'eau est un élément indispensable dans le fonctionnement des systèmes aquifères, sa variation est influencée par celle de l'air extérieur, des saisons, de la nature de substrat géologique et de la profondeur des nappes par rapport à la surface du sol.(Rodier, 2005)

Les valeurs moyennes de la T° des 08 puits de prélèvement varient entre 17.3et 18.6°C Ces valeurs de température sont inférieures aux normes algériennes des eaux potables (JO.N°13 du 09/03/2014) qui sont fixés à 25°C.

II.1.2- pH

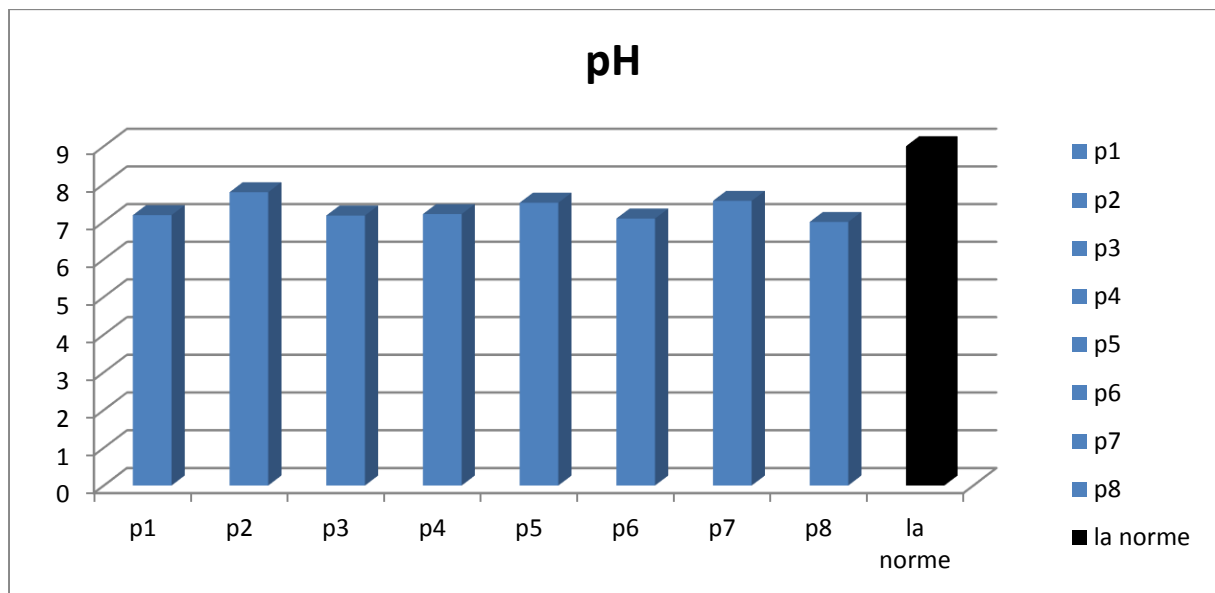


Figure n°04 :Histogramme des résultats de mesure de pH des points de prélèvement.

Le pH est un facteur d'investigation de l'acidité ou de l'alcalinité d'une eau, les valeurs moyennes du pH des eaux des puits pour les 08 points de prélèvements sont compris entre 6.99 et 7.78 Selon les normes Algériennes de l'eau potable, le pH est fixé entre 6,5 et 9,00 les valeurs moyennes des points pour les eaux des puits ne dépassent pas cette norme.

(JO.N°13 du 09/03/2014)

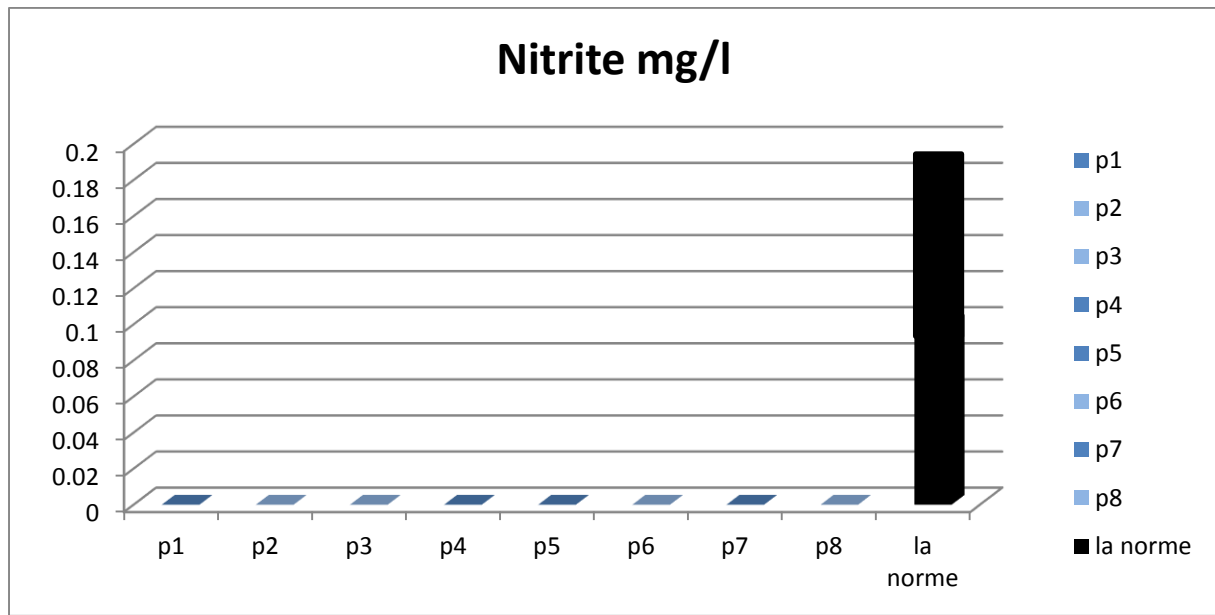
II.1.3- Les nitrites (NO_2^-) :

Figure n°05 : Histogramme des valeurs moyennes des nitrites (NO_2^-) des points de prélèvement.

Les nitrites sont considérés comme étant des ions intermédiaires entre les nitrates et l'azote ammoniacal, ce qui explique l'absence de nitrites dans les eaux. Une concentration supérieure à 0,20 mg/l ne devrait pas être dépassée dans une eau d'origine profonde **.(JO.N°13 du 09/03/2014).**

Dans notre cas les résultats obtenus par les analyses faites montrent l'absence de nitrites dans l'eau des huit puits étudiés.

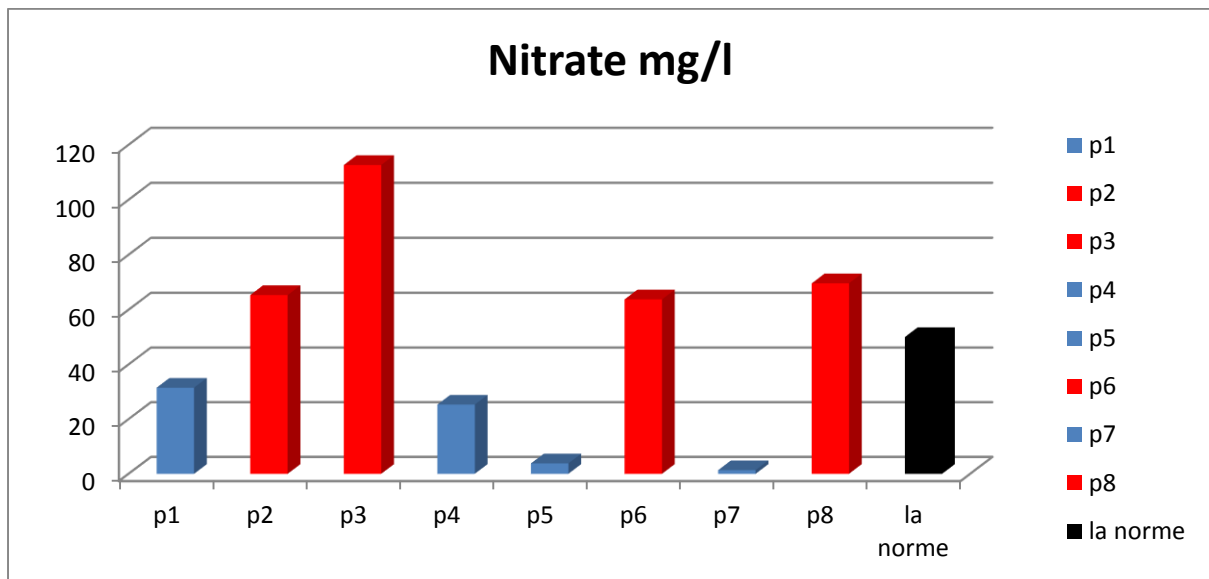
II.1.3- Les nitrates (NO_3^-) :

Figure n°06 : Histogramme des valeurs moyennes des nitrates (NO_3^-) des points de prélèvement.

Ils sont l'une des causes de la dégradation de l'eau. (Chapman et al,1996), transformés en nitrites par l'organisme, ils peuvent provoquer la transformation de l'hémoglobine en "méthémoglobine" et provoquer un mauvais transfert de l'oxygène vers les cellules. Cette pathologie peut affecter les nourrissons de moins de 6 mois. Le risque est très difficile à établir. Partant d'un principe de précaution, la norme de potabilité pour l'eau a été fixée à 50mg/l.

D'après les résultats obtenus les concentrations de nitrate sont plus élevées au niveau des échantillons de puits (p2, p3, p6, p8) respectivement (65.34mg/L, 112.64.8mg/l, 63.76mg/l, 69.61). elles sont supérieures aux normes. et les autres puits inférieure aux normes (p1, p4, p5, p7). (JO.N°13 du 09/03/2014)

II-2- Les analyses bactériologiques :

Tableau n°02 : Résultats des analyses bactériologiques.

prélèvement / Paramètre	01	02	03	04	05	06	07	08	Normes
Germes aérobie à 22°	30	150	280	182	60	400	180	480	<100germes/100ml
Germes aérobie à 37°	05	120	130	60	50	350	150	220	<20germes /100ml
Coliformes totaux	0	0	460	150	36	1100	0	1100	<10 germes/100ml
Coliformes fécaux	0	0	460	43	0	1100	0	0	00 germes/100ml
Streptocoques fécaux	0	0	43	15	21	0	0	23	00 germes/100ml
Clostridium sulfito-réducteur	0	0	0	0	0	0	0	0	00 germes/100ml

II-2-1 Les germes aérobie à 22° :

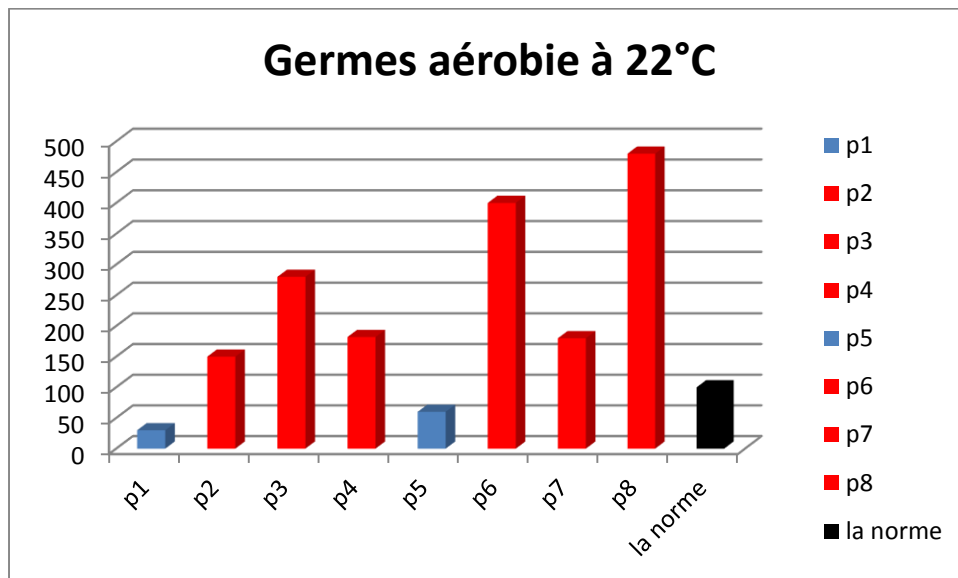


Figure n°07: Histogramme représente le nombre des germes aérobie à 22° C (germe/100ml) dans les puits.

Cet examen vise à faire le dénombrement non spécifique de plus grand nombre de micro-organismes. Ce dénombrement a pour objectif d'apprécier quantitativement la charge microbienne existant dans l'eau. On a remarqué que des germes totaux des puits (p2, p3, p4, p6, p7, et p8) sont supérieurs par rapport aux normes algériennes des eaux potables (JO.N°35 du 27/05/1998).

II-2-2 Les germes aérobie à 37°C :

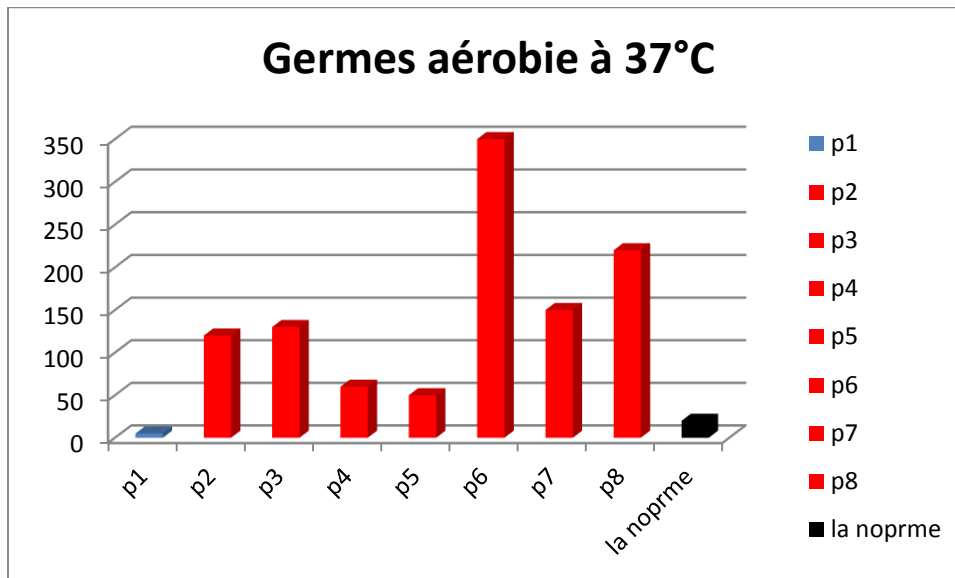


Figure n°08: Histogramme représente le nombre germes aérobie à 37 °(germe/100ml) dans les puits.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que le nombre des germes totaux à 37°C pour la majorité des échantillons à l'exception du puits 01 sont supérieurs à celui exigé par les normes algériennes des eaux potables (JO.N°35 du 27/05/1998), ce qui nous laisse conclure que les puits sont pollués avec les rejets directs que ce soit par les déchets industriels ou par les eaux usées domestiques, donc sur le plan bactériologique ces eaux des puits sont de mauvaise qualité.

II.2.3- Les coliformes totaux :

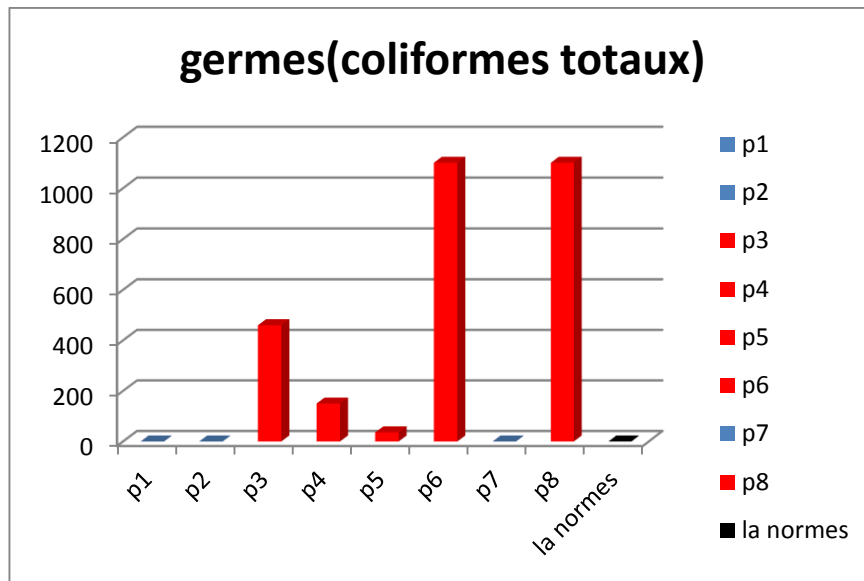


Figure n°09: Histogramme représente le nombre des Coliformes totaux(germe/100ml) dans les puits.

D'après les résultats données on remarque l'absence totale des coliformes totaux dans les puits P1, P2et p7 on peut dire que ces eaux sont de bonne qualité bactériologique, Le nombre de coliformes totaux dans le reste des eaux de puits analysées tel que P3,P 4,P5,P6 et p8 dépasse de très loin la norme algérienne des eaux potables(10 coliformes totaux dans 100 ml d'échantillon)(JO.N°35 du 27/05/1998). Le nombre très important de coliformes totaux peut s'expliquer en partie par manque d'entretien de ces puits. En effet, ces puits sont pour la plupart mal entretenus.

II.2.4- Les coliformes fécaux:

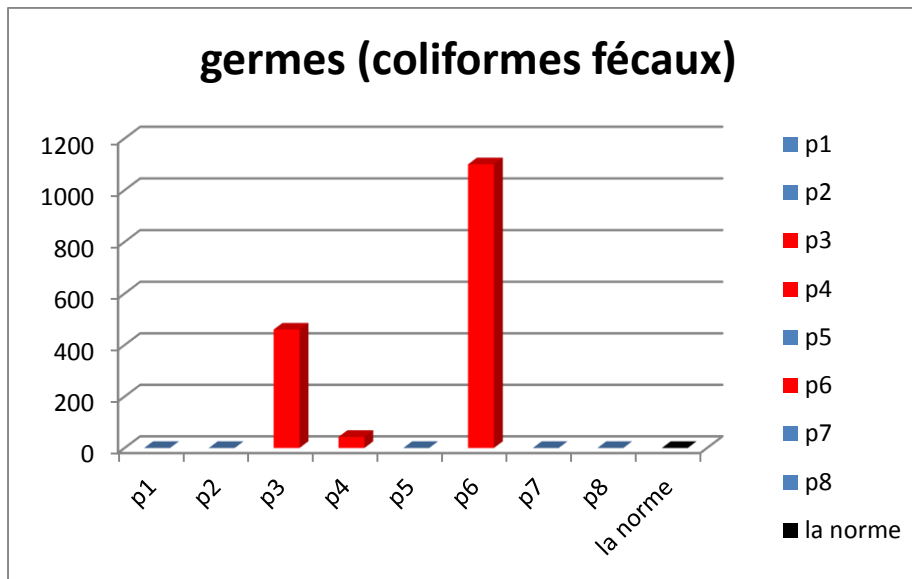


Figure n°10: Histogramme représente le nombre des Coliformes fécaux (germe/100ml) dans les puits.

La présence des coliformes d'origine fécale et leur quantité dépassant les normes admises pour l'eau de consommation attestent une pollution des puits de notre étude.

Les puits analysés (P3, P4 et P6) au cours de cette étude présentent des coliformes fécaux en très forte Quantité (**JO.N°35 du 27/05/1998**).

Selon les valeurs indicatives de normes algériennes des eaux potables une eau de puits doit être exempte de contamination fécale, c'est-à-dire ne doit pas contenir de coliformes fécaux .On a retrouvé ces coliformes dans tous les puits de notre étude.

Les résultats obtenus permettent de conclure que les eaux de puits des localités visitées présentent une pollution fécale d'origine humaine et/ou animale ;une pollution domestique par les eaux usées.

II.2.5- Les streptocoques fécaux:

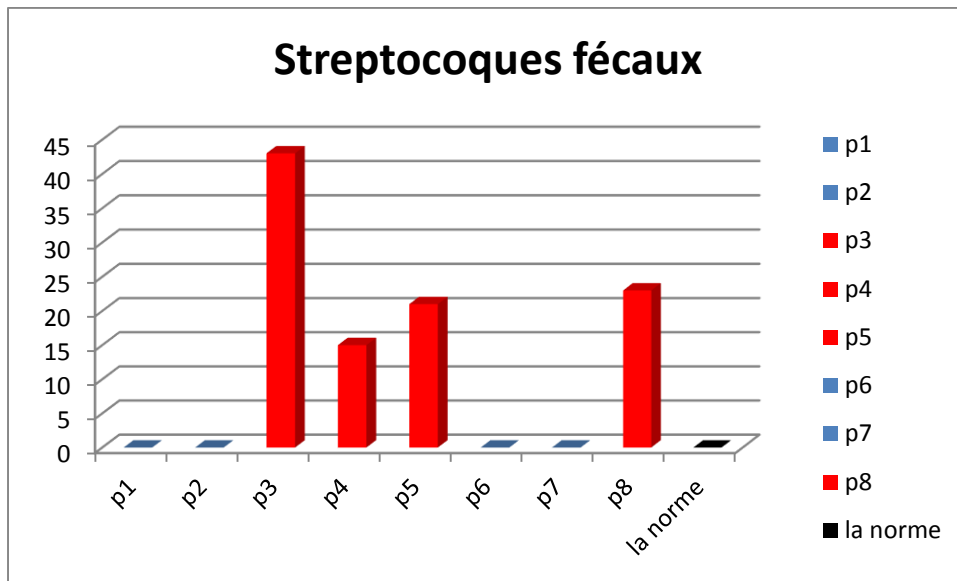


Figure n°11: Histogramme représente le nombre des streptocoques fécaux (germe/100ml) dans les puits.

D’après le tableau n°02 , nous remarquons qu’il ya présence des Streptocoques fécaux dans les puits P3 ,P4,P5 et p8 Ce qui indique présence de pollution bactérienne due a la présence de germes pathogènes qui peuvent causer des effets sanitaire nocifs , de ce fait toute eau contenant 01 Streptocoque dans un 100 ml n’est pas potable (I.S.O :7899/1).

II.2.6- Clostridium sulfito réducteurs :

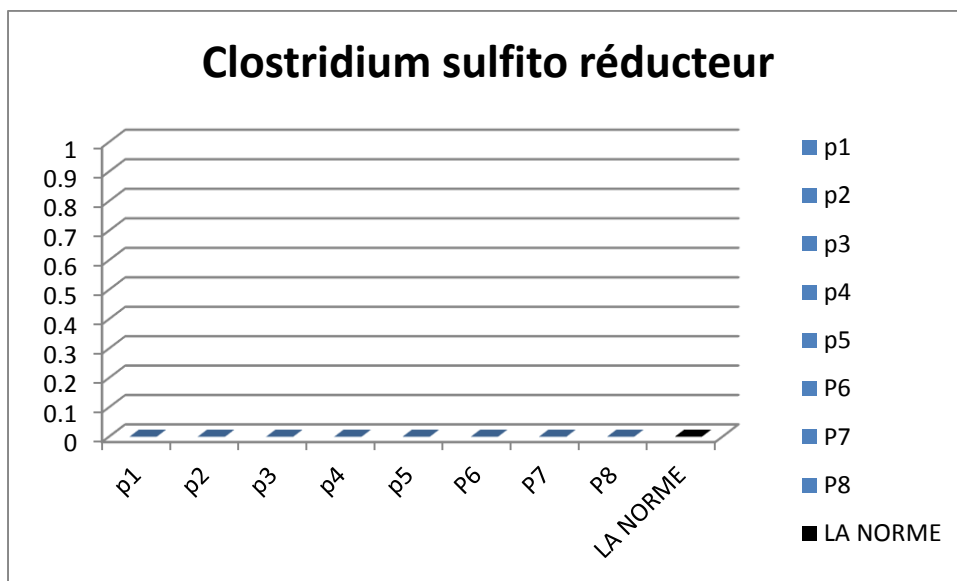


Figure n°12: Histogramme représente le nombre de clostridium sulfito réducteur (germe/100ml) dans les puits.

Nous constatons que les clostridium sulfito-réducteurs faisant partie de contamination animale ou humaine, elles sont considérées comme indicateurs de pollutions à haut danger, dans nos résultats, on a remarqué une absence totale de ces bactéries pour les huit puits analysés.

Conclusion

Générale

Depuis plusieurs décennies, l'eau potable n'a cessé d'être le problème majeur de la plupart des communautés rurales et urbaines, spécialement en ce qui concerne son accessibilité et sa qualité.

Actuellement, l'eau disponible à l'état naturel ne répond pas toujours aux conditions de potabilité à cause des phénomènes de pollution. Son traitement, généralement par voie physico-chimique, est une étape nécessaire avant sa mise à la disposition du consommateur.

D'après les résultats obtenues et en se référant aux normes des eaux potables lors de cette étude de détermination des paramètres physico-chimiques et microbiologiques des puits, nous déduisons que la majorité des puits sont pollués.

Pour préserver la santé du consommateur, il est important d'effectuer périodiquement des analyses physico-chimiques et microbiologiques sur les eaux des puits, afin de connaître l'évolution de leurs qualités physico-chimiques et microbiologiques, s'assurer de l'efficacité du traitement, et de préserver les eaux des puits d'éventuelles pollutions industrielles, domestiques, et autres...

Annexes

Annexe n°01 : Système d'ensemencement à 3 tubes nombre le plus probable de micro-organisme dans 100 ml

Nombre des tube positifs sur 3 tubes			NPP pour 100 ml	Nombre des tube positifs sur 3 tubes			NPP pour 100 ml	Nombre des tube positifs sur 3 tubes			NPP pour 100 ml	Nombre des tube positifs sur 3 tubes			NPP pour 100 ml
10 ml	1 ml	0.1 ml		10 ml	1 ml	0.1 ml		10 ml	1 ml	0.1 ml		10 ml	1 ml	0.1 ml	
0	0	0	0	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	15	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	160
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100

Annexe n°02 : Répartition des points de prélèvement dans la zone de Tiaret

Numéro de puits	Quartiers	Date de prélèvement	Heure de prélèvement
P1	Route frenda	26 /11/2017	09 :30
P2	Cité Mazhoud Ahmed	26 /11/2017	09 :42
P3	Rue frère Kaidi N °53	26 /11/2017	10 :05
P4	Rue Moulay Najem N °62	26 /11/2017	10 :20
P5	Route ainguesma	27 /11/2017	90 :10
P6	Route ainguesma	27 /11/2017	09 :28
P7	Mosquée Cité 500 logements	27 /11/2017	10 :00
P8	Rue Maarouf Ahmed N °38	27 /11/2017	10 :15

Annexes

ANNEXE n° 03 : Matériels utilisés au niveau de laboratoire.



Bec Benzène



Bain Marie



Incubateur



Réfrigérateur



Etuve

Annexes

ANNEXE n° 04 : Résultats des germes recherches :

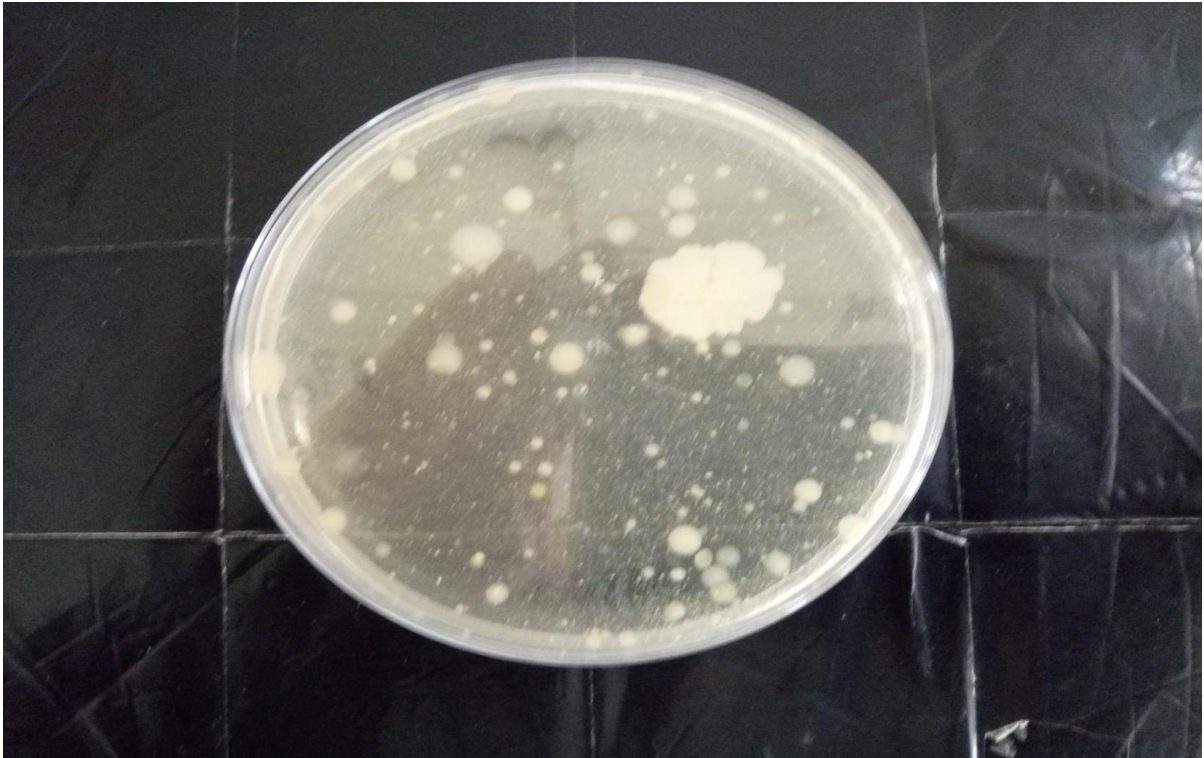


Figure n°01 : présence des germes totaux en milieu TEA.

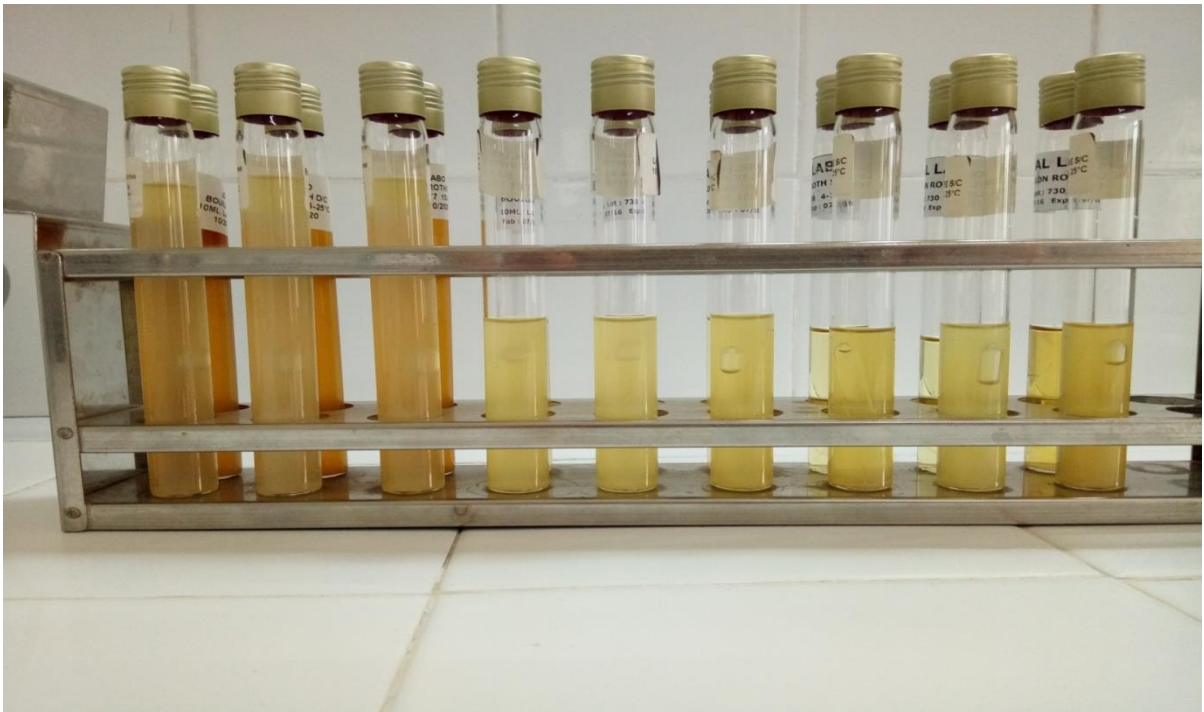


Figure n°02 : présence des coliformes totaux en milieu BCPL.

Annexes

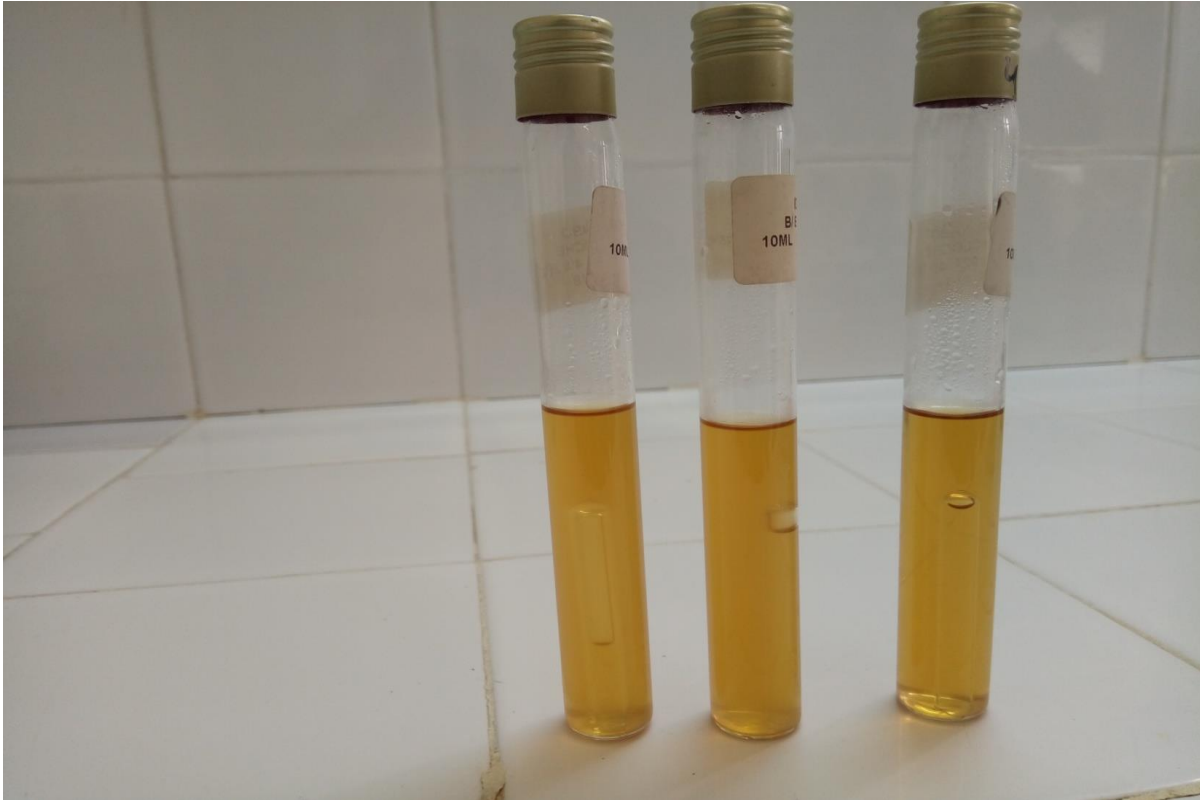


Figure n°03 : présence des coliformes fécaux en milieu Schubert.



Figure n°04 : présence des streptocoques D en milieu BEA.

Annexes



Figure n°05 : présence des clostridiuimsulfito-réducteur en milieu TSC.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ❖ **Rodier J.,Bazin C.,Broutin J.P.,chambon P.,champsaur H.,Rodi L., 2005**,analyse de l'eau, Edition DUNOD, Paris. P 745.
- ❖ **Chapmanetal,1996.**
- ❖ **J.O N°35 de 27/05/1998 Arrêté 24/06/2012.**
- ❖ **J.O N°35 de 27/05/1998 Arrêté 31/12/2012.**
- ❖ **J.O N° 13 de 09/03/2014**
- ❖ **NF V 08-061.**
- ❖ **ISO 7899/1.**
- ❖ **Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière (ANIREF), 2011,** Rubrique Monographie de la Wilaya de Tiaret. P25.
- ❖ **DRE ,2011** direction des ressources en eau.
- ❖ **Google earth.**

Résumé

Notre travail a été réalisé dans la commune de Tiaret .Il a consisté au prélèvement et analyses des eaux de puits dans huit localités en vue de déterminer les caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques.

Les valeurs des paramètres physico-chimiques et bactériologiques obtenues sont dans l'ensemble supérieures aux normes prescrites .Les analyses physico-chimiques ont révélé que tous les échantillons prélevés présentent une concentration très élevée en nitrate (p2, p3, p6, p8) respectivement (65.34mg/L, 112.64.8mg/l ,63.76mg/l, 69.61)., ce qui indique une pollution fécale. Il est de même pour les analyses bactériologiques qui ont montrés des concentrations des germes totaux, coliformestotaux,coliformesfécauxetstreptocoques D , étaientplus abondants dans la majoritédespuitsétudiés.

Cette forte contamination de l'eau laisse envisager des mesures d'hygiène à prendre par les autorités et la population lors de la consommation de l'eau et le fonçage des puits ainsi que le respect des normes recommandés pour la construction des latrines.

Mots clés:Puits contaminé , Coliformes , Nitrates, qualités de l'eau, normes .

ملخص

على مستوى بلدية تيارت، قمنا بمجموعة من الاقتطاعات لمياه الآبار لثمانية مقاطعات و ذلك من اجل التحاليل البكتريولوجية و الفيزيوكيميائية، أين لوحظ أن كل النتائج المتحصل عليها غير مطابقة للمعايير المعمول بها، حيث أثبتت النتائج، أن تركيز مادة النترات في مياه الآبار، كانت جد مرتفعة، حسب الترتيب،(بئر 2، بئر 3، بئر 6، بئر 8)(65.34مغ/ل، 112.64مغ/ل، 63.76مغ/ل، 69.61مغ/ل)، ما يثبت تلوث الآبار، كما لوحظت نفس النتائج بالنسبة للتحاليل البكتريولوجية، أين فاق تركيز الجراثيم الهوائية،الكوليفورم،ستاربتوكوك،المعايير النظامية لأغلبية الآبار المدروسة.

هذا المعدل المرتفع لتلوث الماء، يوجب علينا اتخاذ الإجراءات الوقائية من قبل السلطات المحلية و المواطن عند استهلاك المياه و حفر الآبار الجوفية و كذا احترام المعايير التقنية لبناء الحفر الصحية.

الكلمات المفتاح:

آبار ملوثة، كوليفورم، النترات، نوعية المياه ، المعايير.