



***CHAPITRE 2:***  
***LES ACTIVITES DU LABORATOIRE***  
***QEE***

Dans le laboratoire QEE on effectue des analyses physico-chimiques et microbiologiques des différents types d'eaux (eau potable, eau usée, eau d'irrigation, eau industrielle, ...etc.) et d'aliments

## I. LES ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Les principales analyses microbiologiques qu'on fait au laboratoire QEE sont :

### I.1 LES GERMES :

Ce sont des micro-organismes aérobies représentant la teneur moyenne en bactéries d'une source naturelle. On va traiter deux types de germes : GT à 22 °C et les GT à 37°C, la différence entre ces deux germes c'est les conditions de vie (la température d'incubation et le temps nécessaire pour leurs croissances)

#### ▪ Le milieu de culture (MC)

Le milieu de culture nécessaire pour le développement des germes est la gélose à l'extrait de levure.

#### ▪ La stérilisation

On stérilise à l'autoclave : l'eau distillée (ED), des MC, des matériels, (pendant 15 min à 121 °C).

Les boîtes de pétris sont stérilisées avec une lampe ultra violet (UV) :

#### ▪ Le mode opératoire et la méthode

La méthode est l'incorporation ou l'ensemencement en profondeur

Le mode opératoire :

1 ml d'échantillon à analyser est introduit dans une boîte de pétri, puis on ajoute de la gélose, on agite le MC et l'échantillon à analyser et on laisse refroidir pour se solidifier

**NB :** On travaille toujours dans un environnement stérile sous la hotte

On procède de la même façon pour l'eau distillée et la gélose pour s'assurer de la stérilisation du matériel utilisé.

#### ▪ Les conditions de vie (l'incubation)

-Pour les germes à 22 °C on met les boîtes de pétris contenant la gélose et l'échantillon dans l'incubateur de 22 °C pendant 72h

-Pour les germes à 37 °C on met les boîtes dans l'incubateur de 37 °C pendant 48h

#### ▪ L'identification et la lecture

Les germes forment des colonies blanches, on compte le nombre de ces colonies dans la boîte

#### ▪ La destruction

On ne peut pas jeter les boîtes de Pétri sans destruction des germes. Les boîtes de Pétri utilisées sont détruites chimiquement.

### I.2 LES COLIFORMES TOTAUX ET FECAUX

Ce sont des bactéries capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz. La différence entre les coliformes totaux (CT) et les coliformes fécaux (CF) c'est les conditions de vie.

- **Le milieu de culture (MC)**

Le milieu de culture nécessaire pour le développement des coliformes c'est TERGITOL-7- AGAR.

- **La stérilisation**

On stérilise : le matériel de filtration, l'eau Distillée(ED) pour préparer le MC, et le MC

- **Le mode opératoire et la méthode**

La méthode utilisé c'est la filtration sur membrane qui consiste à filtrer un volume de 100 ml d'échantillon à analyser sur une membrane filtrante, puis on dépose la membrane sur la surface de la gélose.

**NB :** on procède de la même façon pour ED pour s'assurer de sa stérilisation

- **Les conditions de vie (l'incubation)**

Pour les coliformes totaux on incube les boites dans l'incubateur de 37 °C pendant 48h

Pour les coliformes fécaux on incube les boites dans l'incubateur de 44 °C pendant 48h

- **L'identification et la lecture**

Pour les coliformes totaux les colonies caractéristiques présentent une coloration jaune

Pour les coliformes fécaux les colonies caractéristiques présentent une coloration jaune

- **La destruction**

On met les boites de pétris dans l'eau chlorée à 3° pendant plus que une heure

### **1.3 LES STREPTOCOQUES OU LES ENTEROCOQUES INTESTINAUX (EI)**

- **Le milieu de culture**

Le MC nécessaire pour le développement des streptocoques ou (EI) c'est la gélose de SLANETZ

- **La stérilisation**

On stérilise : l'eau distillé toujours pour préparer le MC, le matériel de filtration

**NB :** on ne stérilise pas la gélose de SLANETZ

- **Le mode opératoire et la méthode**

La méthode c'est la même utilisé pour les coliformes (filtration sur membrane)

On procède de la même façon que les coliformes

- **Les conditions de vie (l'incubation)**

On incube les boites dans l'incubateur de 37 °C pendant 48h

- **L'identification et la lecture**

Les colonies caractéristiques présentent une coloration rouge-marron ou rose

- **La destruction**

On met toujours les boites de pétris dans l'eau chlorée à 3° pendant plus que une heure pour la destruction chimique des streptocoques

## II. LES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Dans cette partie on va traiter les analyses physico-chimiques de routine effectuées au laboratoire QEE.

### II.1 PH

#### ▪ Type d'analyse ou méthode

On fait la mesure de pH par la méthode POTENTIOMETRIQUE

#### ▪ PRINCIPE

Le pH dépend des ions  $H^+$  présents dans l'échantillon à analyser. La mesure de pH se fait avec le pH – mètre doté d'une électrode de verre, avec  $pH = -\log [H_3O^+]$

#### ▪ Mode opératoire

- Etalonnage de l'appareil (une fois par semaine)
- Rinçage de l'électrode par Eau distillée (ED)
- Met de l'électrode dans un bécher qui contient de l'échantillon à analyser
- L'appareil donne directement la valeur du pH

### II.2 LA CONDUCTIVITE

#### ▪ Type d'analyse ou méthode

La méthode utilisé c'est la même que celle utilisée pour le pH (POTENTIOMETRIQUE)

#### ▪ PRINCIPE

La conductivité dépend de la concentration totale des ions, leur concentration relative, de leur mobilité, et de leur valence. La mesure de la conductivité se fait avec le conductimètre, et elle est exprimée en ( $\mu S/cm$ )

La conductivité varie avec la température qui doit être lors de la mesure à 25 °C

#### ▪ Mode opératoire

- Etalonnage de l'appareil
- Rincer l'électrode avec l'eau distillée (ED)
- Plonger l'électrode dans le bécher qui contient une quantité suffisante d'échantillon à analyser
- L'appareil donne directement la valeur de la conductivité

### II.3 LA TURBIDITE

#### ▪ Type d'analyse ou méthode

La méthode utilisée est la néphélométrie

#### ▪ Principe

La turbidité c'est la teneur en matières qui troublent un liquide, la cause de cette trouble ce sont des particules en suspensions qui absorbent, diffusent et /ou réfléchissent la lumière. La mesure de la turbidité se fait par un turbidimètre, et elle est exprimée en NTU

- **Mode opératoire**

- Calibrage de l'appareil avec l'étalon adéquat,
- Remplissage du tube avec l'échantillon à analyser,
- Le turbidimètre affiche directement la valeur de la turbidité.

#### II.4 TITRE HYDROTIMETRIQUE TOTAL (THT) = LA DURETE TOTALE

- **Type d'analyse ou méthode**

Le type d'analyse utilisée pour déterminer la dureté totale est le dosage volumétrique

- **Principe**

La dureté correspond à l'ensemble des ions alcalino-terreux, soient les ions calcium et magnésium principalement.

Le dosage de ces ions ( $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ ) se fait avec une solution d'EDTA (sel tétra sodique de l'acide éthylène diamine tétra-acétique) à pH=10. Le noir ERIOCHROM T qui donne une couleur rouge foncé ou violette en présence des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ , est utilisée comme indicateur. La fin du dosage est décelée par la couleur bleue de l'indicateur coloré, étant violet tant que les ions  $\text{Mg}^{2+}$  restent à l'état libre en solution

- **Mode opératoire**

- Dans un bécher on met 50 ml d'échantillon à analyser
- On ajoute 4 ml de la solution tampon pH=10
- Puis on ajoute 3 gouttes de noire ERIRIOCHROM T
- Si la solution devient bleue ca signifie que l'eau est douce ou non dure et TH=0
- Si la solution devient rouge ou violet, on fait le dosage avec la solution EDTA à 0,01 mol /l jusqu'à virage du violet au bleue

#### II.5 TITRE ALCALIMETRIQUE SIMPLE (TA) ET TITRE ALCALIMETRIQUE COMPLET (TAC)

- **Type d'analyse ou méthode**

La méthode utilisée est le dosage volumétrique

- **Le principe**

La détermination de TA et de TAC est basée sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué. En présence d'un indicateur coloré.

- ✓ Le TA correspond à la somme :  $\text{TA} = [\text{CO}_3^-] + [\text{OH}^-] - [\text{H}_2\text{CO}_3] - [\text{H}_3\text{O}^+]$

Si le pH < 8,3, la solution ne se colore pas en rose, TA=0.

Si le  $\text{pH} > 8,3$ , la solution se colore en rose,  $\text{TA} \neq 0$ .

Il est déterminé par addition de liqueur alcalimétrique (solution d'acide sulfurique N/25)

✓ Le TAC correspond à la somme :  $\text{TAC} = [\text{HCO}_3^{-1}] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{OH}^{-}] - [\text{H}_3\text{O}^{+}]$

Le TAC succède à celle du TA sur la même solution si le  $\text{TA} \neq 0$ , on ajout 3 gouttes d'hélianthine

Si le  $\text{pH} < 4,3$ , la solution est immédiatement rouge ou orange,  $\text{TAC} = \text{TA}$ .

Si le  $\text{pH} > 4,3$ , la solution est jaune, le TAC est déterminé de la même manière que le TA.

#### ▪ **Mode opératoire**

-On mesure premièrement le pH

-On prend 100 ml d'eau, on ajout 1à2 gouttes de la solution alcoolique de phénophtaléine, si elle ne donne pas la coloration rose  $\text{TA} = 0$  et  $\text{TAC} = 0$ , et si elle donne coloration rose

-On fait le dosage avec l'acide sulfurique à N/25, on agitant bien jusqu'à décoloration Complète de la solution

-TA soit le volume d'acide utilisé pour obtenir le virage

-On ajoute 2 gouttes de la solution de vert de bromocrésol et de rouge de méthyle

-On titre encore une fois avec  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à N/25 jusqu'à disparition de la couleur bleu vérâtre et l'apparition de la couleur rose

## II.6 L'OXYDABILITE

#### ▪ **Type d'analyse ou méthode**

La méthode utilisée pour déterminer l'oxydabilité est le dosage volumétrique (dosage en retour)

#### ▪ **Principe**

L'oxydabilité ou l'indice de permanganate (IP) consiste à mesurer en milieu acide (présence de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) la quantité d'oxygène cédée par les ions permanganate et consommée par les matières oxydables contenues dans l'eau

- On oxyde par un excès de permanganate de potassium en milieu acide des matières oxydables contenues dans la prise d'essai de l'échantillon

-Puis on réduit l'excès de permanganate par une solution d'oxalate de sodium ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) en excès connu

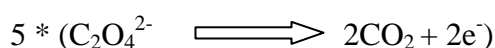
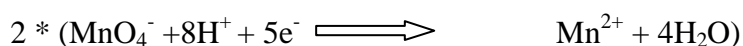
-On titre avec un dosage en retour l'excès d'oxalate par le permanganate de potassium

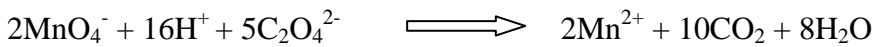
#### ▪ **Réactions misent en jeu :**

La réaction d'oxydation est :



La réaction de réduction est :





**NB:** il s'agit de déterminer le nombre de mole d'électrons cédé par la matière organique, qui est égal à celui capté par le dioxygène. Selon l'équation suivante 1 mol d'O<sub>2</sub> (soit 32g) capte 4moles d'électrons

#### ▪ **Mode opératoire**

- Dans un erlenmeyer on met 25 ml d'échantillon à analyser
- On ajoute 5 ml de KMnO<sub>4</sub> (chauffage pendant 10 min à ébullition douce)
- Puis on ajoute 5 ml d'oxalate de sodium (agitation jusqu'à apparition d'une coloration)
- Titrage à chaud avec la solution de KMnO<sub>4</sub> jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pale persistante environ 30 secondes
- On note le volume de KMnO<sub>4</sub> nécessaire pour le dosage de l'excès d'oxalate

### II.7 DOSAGE DES IONS AMMONIUMS NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

#### ▪ **Type d'analyse ou méthode**

La méthode utilisée pour le dosage des ions ammoniums est la spectrophotométrie.

#### ▪ **Principe**

En milieu alcalin et en présence de NITROPRUSSATE de sodium (qui agit comme un catalyseur), les ions ammoniums (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) traités par une solution de chlore et de phénol donnent du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage spectrophotométrie.

#### ▪ **Mode opératoire**

- On prend 50 ml d'eau à analyser
- On ajout 4ml de la solution actifs (solution de NITROPRUSSATE de SODIUM et de PHENOL), et 4 ml de la solution chlorée on fait l'agitation
- ✓ S'il donne une coloration jaune la concentration de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> est inférieure à 0,001
- ✓ S'il ne donne pas la coloration jaune, on place à l'obscurité pendant 6h au moins, puis on effectue la lecture au spectrophotomètre à λ=630 nm

### II.8 DOSAGE DES IONS NITRATES NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

#### ▪ **Type d'analyse ou méthode**

La méthode utilisée pour le dosage des nitrates est la spectrophotométrie

#### ▪ **Principe**

En présence de l'acide sulfosalicylique (formé par réaction entre le salicylate de sodium et l'acide sulfurique) les nitrates donnent en présence d'un alcali (EDTA et l'hydroxyde de sodium), un complexe stable coloré en jaune et susceptible d'un dosage spectrophotométrique à une λ=415 nm

#### ▪ **Mode opératoire**

- On prend 10 ml d'échantillon à analyser dans un erlenmeyer

- On ajout 0,2 ml de l'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  et 0,5 ml d'azoture de sodium  $\text{N}_3\text{Na}$
- On met l'elenmeyer dans l'étuve à  $75-80\text{ C}^\circ$  jusqu'à vaporisation
- On ajout ensuite 1 ml de solution salicylate de sodium, on mélange et on évapore à nouveau à sec (l'étuve), puis on ajout 1 ml d'acide sulfurique concentré
- Après 10 min on ajoute 15 ml d'eau distillée puis 20 ml de la solution alcali (EDTA+NaOH) qui développe une coloration jaune
- On fait ensuite la lecture au spectrophotomètre à  $\lambda=415\text{ nm}$

**NB :** -le rôle de l'azoture : il élimine l'interférence avec les nitrites  $\text{NO}_2^-$

- le rôle d'EDTA : empêche la précipitation du  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$

## II.9 DOSAGE DES IONS NITRITES $\text{NO}_2^-$

### ▪ Type d'analyse ou méthode

La méthode utilisée pour le dosage des ions nitrites est la spectrométrie d'absorption moléculaire

### ▪ Principe

La diazotation de l'amino-4-benzènesulfonamide par les nitrites en milieu acide et sa copulation avec le dichlorure de N-(naphtyle-1) diamino-1,2 éthane, donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage spectrométrique

### ▪ Mode opératoire

- On met 50 ml d'échantillon à analysée dans une fiole jaugé
- On ajout 1 ml du réactif de diazotation
- S'il ne donne pas une coloration rose, alors il n'y a pas des nitrites dans l'échantillon
- S'il donne une coloration, on fait la lecture avec le spectrophotomètre





# ***CHAPITRE 3 :*** ***CONTEXTE DE SUJET DE STAGE***

## I. ACCREDITATION ISO 17025

### I.1 DEFINITION<sup>1</sup>

La norme ISO 17025 est une norme internationale définissant les compétences exigibles en matière d'essai et d'étalonnage par les laboratoires.

### I.2 L'OBJECTIF<sup>2</sup> ET L'OBTENTION D'UNE ACCREDITATION ISO 17025<sup>3</sup>

- L'objectif d'une accréditation selon ISO/CEI 17025 est d'attester de la compétence technique et de la fiabilité des résultats du laboratoire.
- Pour qu'un laboratoire reçoive une accréditation ISO 17025 il doit :

- Comprendre les exigences de la norme ISO 17025,
- Etre capable de mettre en œuvre ces exigences,
- Savoir s'impliquer dans un système qualité du type ISO 17025.

### I.3 LES EXIGENCES DE LA NORME ISO 17025<sup>4</sup>

La norme ISO 17025 comprend 2 grandes parties :

- Une partie qui intègre les exigences relatives au management du laboratoire, cette partie souvent appelée « partie qualité »
- Une partie « exigences techniques » qui correspondent au cœur de métier, c'est entre autre sur elle que se fonde l'aptitude Technique du laboratoire

## II. PROCESSUS POUR ATTEINDRE L'ACCREDITATION SELON LA NORME ISO 1725

Chacune des exigences de la norme ISO 17025 doit faire l'objet de la mise en place de procédures (PR) au sein du laboratoire qui justifie la conformité. Une même procédure peut répondre à une ou plusieurs exigences de cette norme, chaque procédure décrit la manière détaillée d'effectuer un processus (PS) ou une activité, donc pour chaque processus y'a plusieurs procédures, le contenu d'une procédure doit définir QUI doit faire QUOI et COMMENT le faire.

### II.1 CARTOGRAPHIE DES PROCESSUS QEE

Dans le cadre de la mise en place de procédure au sein du laboratoire QEE pour atteindre l'accréditation selon la NO ISO 17025, le laboratoire QEE a établie en 2010 une cartographie des processus (voire ANNEXE 1 : cartographie des processus QEE)

Le laboratoire QEE est composé actuellement de :

- ✓ **2 processus de management**, qui regroupent l'ensemble des activités agissant sur le fonctionnement et la dynamique de l'amélioration de QEE.
- ✓ **1 processus de réalisation**, établis selon la typologie des prestations et des clients du laboratoire

- ✓ **4 processus de supports**, qui assurent la mise à disposition de l'ensemble des moyens et des activités nécessaires au fonctionnement du laboratoire

## II.2 CARTE D'IDENTITE DU PROCESSUS 6 : HYGIENE, SANTE ET SECURITE DE TRAVAIL (HSST)

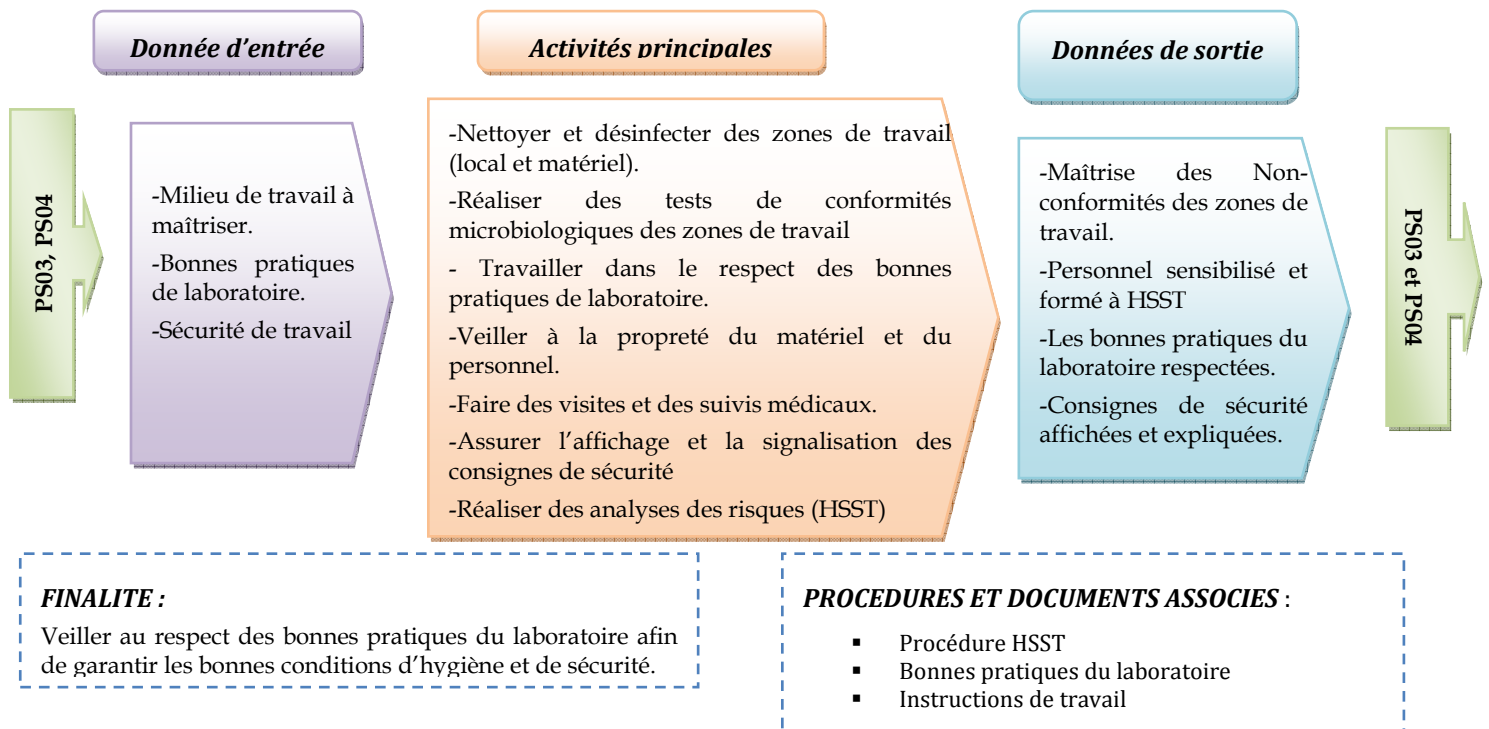
Parmi les processus de laboratoire QEE, il y a processus 6 : Hygiène, Santé et Sécurité de travail (HSST) qui appartient aux 4 processus de support, ces objectifs sont :

- Assurer la conformité des zones de travail,
- Réduire le nombre d'accident de travail nécessitant un arrêt de travail,
- Veiller à la réalisation des plans de nettoyage et de désinfection.

Tout en respectant les bonnes pratiques du laboratoire.

Le processus 6 contient 2 procédures :

- PS6-PR1 : Gestion des Produits Chimiques (GPC)
- PS6-PR2 : Hygiène et Sécurité Dans le Travail (HSST)



### PROCEDURES ET DOCUMENTS ASSOCIES :

- Procédure HSST
- Bonnes pratiques du laboratoire
- Instructions de travail

Figure 2 : carte d'identité du processus 6 (PS6)