

Table des matières

Remerciement	1
Table des matières.....	2
Liste des abréviations :.....	4
Liste des figures :	5
Liste des tableaux :.....	6
Introduction.....	6
I. Description de la structure d'accueil (aperçu sur l'office) :.....	2
1. Présentation d'ONEE/Banche Eau :	2
2. Présentation du laboratoire régional d'ONEE/Branche Eau :.....	Erreur ! Signet non défini.
a) Domaines d'intervention des laboratoires d'ONEE/BO :.....	2
b) Unités d'analyses du laboratoire régional de Fès :	2
II. L'ONEE/BO : Complexe de traitement des eaux d'oued Sebou	3
Partie 1 : Traitement et pollution d'eau	4
I. Aperçu sur le traitement et prétraitement d'eau dans la station d'ONEE/Branche Eau :	4
1. Station de prétraitement :	4
2. Station de traitement :	5
II. Pollution d'eau :.....	8
1. Définition	8
2. Types de pollution de l'eau :	8
3. Maladies hydriques :	9
4. Micro-organismes recherchés dans les contrôles microbiologiques de l'eau :.....	10
Partie 2 : Méthodes et matériel	12
I. Analyses physico-chimiques :.....	12
II. Analyses Microbiologiques:	14
1. Prélèvement :.....	14
2. Blanc :	15

3.	Contrôle de la qualité d'équipement et d'environnement :.....	15
4.	Méthodes d'analyses :.....	16
a)	Filtration sur membrane:.....	16
b)	Incorporation sur gélose :.....	21
c)	Le Nombre le plus probable (NPP) :.....	22
	Partie 3 : Résultats et discussion	25
	Conclusion	29
	Références	30
	Annexes.....	31

Liste des abréviations :

REIP : Régie d'Exploitation Installation et Planification

ONEE/BO : Organisation National d'Electricité et d'Eau potable

MES : Matières En Suspension

E. Coli : Escherichia Coli

TS : Tryptone Soja

BEA : Bile Esculine Azoture

TSA : Trypto-caséine Soja

PCA : Plate Cout Agar

pH : potentiel Hydrogène

VMA : Valeur Maximal Admissible

Liste des figures :

- Figure 1: Dégrilleurs
- Figure 2: Vices d'Archimède
- Figure 3: Décanteurs a , b
- Figure 4: Filtres à sable
- Figure 5: Réservoirs
- Figure 6: pH mètre
- Figure 7: Conductimètre
- Figure 8: Turbidimètre
- Figure 9: Chlore résiduel
- Figure 10: Contrôle des pipettes et membranes filtrantes
- Figure 11: Contrôle de lavage des verreries
- Figure 12: Contrôle de surface « boîte RODAC »
- Figure 13: Méthode de la membrane filtrante (bec benzène-entonnoirs- pompe à vide)
- Figure 14: Milieux de cultures de la methode de la membrane filtrante
- Figure 15: Tergitol E.Coli (+)
- Figure 16: TSA E.Coli
- Figure 17: Bouillon tryptophane E.Coli (+)
- Figure 18: Tergitol, Coliforme (+)
- Figure 19: TSA, Coliforme
- Figure 20: Oxydase (-) Coliforme (+)
- Figure 21: Slanetz positif ; EI (+)
- Figure 22: BEA Positif ; EI (+)
- Figure 23: Gélose à extrait de levure, germes revivifiables cas positif (+)
- Figure 24: Lauryle positif
- Figure 25: EC.Medium positif
- Figure 26: Bouillon-trp , E.Coli positif
- Figure 27: Lauryle positif
- Figure 28: Vert Brillant positif
- Figure 29: Roth positif
- Figure 30: BEA positif

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Quelques maladies d'origine hydrique

Tableau 2 : Quelques analyses physico-chimiques

Tableau 3: Suivi de la température des Salles de bactériologie

Tableau 4: Suivi des résultats des analyses bactériologiques des eaux brutes par méthode du NPP (3tubes)

Tableau 5: Résultats de la recherche des Bactéries coliformes, E. coli, EI et MSR dans l'eau traitée par la méthode de la membrane filtrante : (23/04/2019)

Tableau 6: Suivi des PSP (paramètres sur place)

Tableau 7: Normes relatives aux paramètres bactériologiques spécifications des eaux d'alimentation humaine NM 03.7.001

Introduction

L'eau est le composant majeur de notre planète bleue (1 360 000 000 km³), sachant qu'environ 60-65 % de notre organisme est composé d'eau il nous apporte les nutriments essentiels au bon fonctionnement du corps humain, thermorégulation, élimination des déchets et des toxines... L'eau est l'élément primordial à la vie de tout organisme. L'une des principales exigences dans la vie terrestre est donc l'économie d'eau.

L'eau, qu'elle soit douce, salée, eau de pluie, eau souterraine ou eau superficielle, peut être souillée par des matières qui la rendent nocive. Polluée, elle est à l'origine de différentes maladies et peut altérer gravement la santé humaine ainsi que la faune et la flore.

Les principales sources de pollutions de l'eau sont l'**agriculture** (pesticides, nitrates, etc.), l'**industrie** (métaux lourds, PCB, déchets des usines évacués dans les rivières,) et la **médecine** (résidus médicamenteux). C'est une menace pour la santé publique,

Il est donc primordial de traiter l'eau destinée à la consommation humaine. Cette dernière a lieu dans des stations d'épuration et de traitement qui débarrassent l'eau de tout danger quel qu'il soit : biologique ou physique par le chlore qui est un anti-pathogène efficace.

L'objectif du traitement de l'eau est principalement de lutter contre : les organismes pathogènes, matière en suspension tel que, boue, mauvais goût, odeurs, métaux toxiques et toutes impuretés présentes dans l'eau brute naturelle.

Le traitement d'une eau brute après son captage dépend de sa qualité et de ses constituants, L'eau puisée dans l'environnement doit donc être analysée avant de subir le traitement de potabilisation appropriée. Le traitement des ressources hydrauliques, lutte contre le gaspillage ce qui permet l'économie des eaux souterraines.

Dans le but de mettre en valeur l'importance et l'efficacité des différentes étapes de traitement, l'ONEE (branche eau) a mis en œuvre des analyses physicochimiques et bactériologiques conformément aux normes marocaines relatives aux eaux d'alimentation humaine au sein du laboratoire régional où j'ai eu l'occasion d'effectuer mon stage de licence LST.

Le présent travail a pour objectif de contrôler l'efficacité de traitement des eaux de surfaces ' Oued Sebou' à travers le suivi des analyses bactériologiques et physico-chimiques.

I. Description de la structure d'accueil (aperçu sur l'office) :

1. Présentation d'ONEE/Banche Eau :

L'Office National de l'Eau Potable est un établissement semi-public à caractère industriel ainsi que commercial, acteur principal dans le secteur de l'eau potable et de l'assainissement au Maroc .Sa création a été en 1929 sous le nom de REIP enfin ONEP en 1972.

Puis ce fut la fusion entre l'ONE et l'ONEP en 2012 d'où la naissance de l'ONEE-Branche Eau.

Avec l'augmentation de la population, l'eau devient une ressource de plus en plus précieuse.

L'ONEE a donc pour rôle :

- Le développement du service de l'assainissement liquide
- La modernisation et l'élargissement des réseaux de production
- La commercialisation et la distribution des ressources hydrauliques
- La lutte contre le gaspillage
- L'implémentation de nouveaux instruments et des techniques d'économies de l'eau ...

2. Domaines d'intervention des laboratoires d'ONEE/BO :

Les domaines d'intervention du laboratoire d'ONEE/BO ont lieu :

- Dans les stations de traitement pour rendre l'eau conforme aux normes nationales en vigueur, d'une part et pour vérifier l'efficacité des ouvrages de traitement, d'autre part.
- Au niveau des eaux produites et distribuées, dans le but de s'assurer de la potabilité de l'eau conformément aux exigences normatives en vigueur.

3. Unités d'analyses du laboratoire régional de Fès :

Unités physico-chimiques :

- ⇒ Analyses physico-chimiques
- ⇒ Analyses par spectrométrie moléculaire (éléments majeurs)
- ⇒ Analyses chromatographique et absorption moléculaire
- ⇒ Analyses par absorption atomique à flamme et à four
- ⇒ Analyses organoleptique et titrimétrique

Unités microbiologiques.

- ⇒ Analyses et dénombrement des germes susceptibles de causer des maladies liées à une contamination fécale.

II. L'ONEE/BO : Complexe de traitement des eaux d'oued Sebou

- **Station de prétraitement:** qui assure un traitement à l'avance dont le but est de pomper l'eau et faire diminuer la quantité de matière en suspension dans l'eau brute afin de la rendre inférieure à 2 g/l, cette station est utilisée dans le cas où les matières en suspension ont une valeur entre 2g/l et 50g/l. L'eau est par la suite refoulée vers la station de traitement.
- **Station de traitement :** qui a pour but la production d'eau potable à partir d'une eau naturelle brute (eau d'oued Sebou) par une succession d'étapes depuis le pompage jusqu'à la distribution. Le traitement nécessaire dépend fortement de la qualité de la ressource en eau ainsi que la norme marocaine exigée. Cette station a pour mission de traiter l'eau après le prétraitement et de contrôler la qualité d'eau traitée. Enfin l'eau est à la fin refoulée vers BAB HAMRA.

Partie 1 : Traitement et pollution d'eau

I. Aperçu sur le traitement et prétraitement d'eau dans la station d'ONEE/Branche Eau :

L'eau de surface est généralement souillée par des déchets évacués par l'être humain. Un traitement approprié des eaux de surface est assurée, afin de produire une eau potable destinée à la consommation humaine.

Le complexe de traitement d'ONEE/Branche Eau Fès comporte deux stations :

- ☞ Prétraitement : éliminer les matières grossières par un dégrillage, dessablage, débouage, pré-chloration.
- ☞ Traitement : rendre l'eau potable à travers les différentes étapes de traitement (coagulation, floculation, décantation, filtration, désinfection).

Selon la teneur en matières en suspension M.E.S :

- Si **M.E.S** < 2g/l \longrightarrow Pompage directement vers la station de traitement.
- Si $2\text{g/l} < \text{M.E.S} < 50\text{g/l}$ \longrightarrow Pompage vers la station de prétraitement.
- Si **M.E.S** > 50g/l \longrightarrow Arrêt des deux stations

1. Station de prétraitement :

Le prétraitement comporte plusieurs opérations :

- ✚ Prise d'eau depuis l'Oued Sebou
- ✚ Dégrillage : il y a trois types de dégrilleurs de différents diamètres : 15mm, 10mm, 5mm. c'est une étape qui a lieu à l'entrée de la prise d'eau brute par 3 grilles métalliques, qui ont pour rôle d'éliminer les grosse impuretés : plastiques, papiers, bouteilles, branches d'arbres, feuilles...

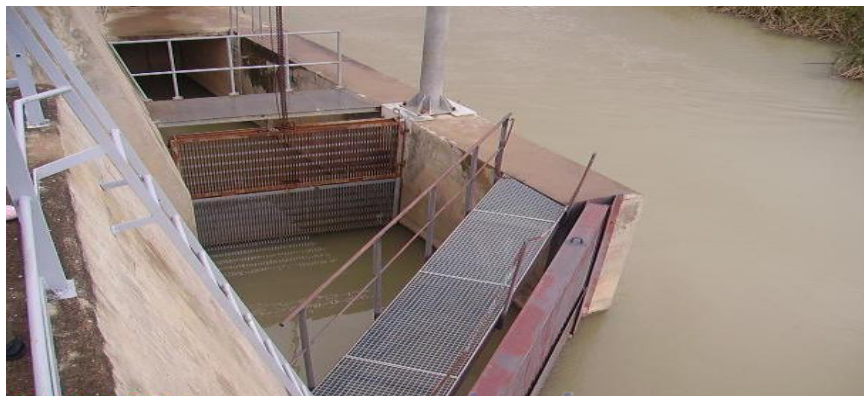


Figure 1 : Dégrilleurs

- ✚ Pompage : à l'aide des vices d'Archimède (3 vices), leur rôle est d'augmenter le volume d'eau du bas vers le haut avec un débit de 550 litre/seconde.



Figure 2 : vices d'Archimède

- ✚ Dessablage : opération mécanique qui consiste à éliminer les particules minérales plus ou moins fines, les graviers, les sables, puis rejet de boues vers l'oued.
- ✚ Ajout des polymères : floculation
- ✚ Débourbage : décantation qui permet la clarification des eaux de surface, et l'élimination de la majorité des matières en suspension de l'eau brute par leur évacuation sous forme de boues concentrées, pour atténuer la M.E.S à une valeur inférieure à 2 g/l.
- ✚ pré-chloration : addition d'une quantité de chlore à l'eau pompée afin :
 - D'oxyder le fer et le manganèse contenus dans l'eau brute. (En général responsable de la couleur).
 - De détruire les matières organiques susceptibles d'influencer la santé humaine
 - De détruire les micro-organismes et d'inhiber la croissance algale.
 - D'améliorer la coagulation, la floculation, ainsi que la décantation.
- ✚ Pompage de l'eau prétraité vers la station de traitement

2. Station de traitement :

- ✚ Ouvrage d'arrivée d'eau brute (anti bélier = stopper le choc de revenu d'eau), c'est une grande chambre pour casser la vitesse d'eau arrivée (stabilisateur)
- ✚ Ajout de sulfate d'alumine : coagulation

Coagulation –Floculation :

Les colloïdes sont des particules de diamètre très faible (de 1 nm à 1 µm), chargées électro-négativement ils s'expriment par une très faible vitesse de sédimentation (que l'on peut considérer nulle dans le cas du traitement de l'eau). On procède donc à une Coagulation-floculation afin d'éliminer ces colloïdes.

☞ La coagulation consiste à rendre les colloïdes instables, en éliminant la charge électro-négative afin de favoriser la collision par addition de sulfate d'alumine (coagulant).

☞ La floculation grâce à l'ajout de flocculant, une agglomération des particules colloïdales déstabilisées (micro-flocs) augmente de volume (flocs). Cette agglomération en flocs dispose d'une masse suffisante pour pouvoir se décantent. Le flocculant un polymère, qui va jouer un rôle de colle entre les colloïdes.

✚ Répartiteur : il a pour rôle d'ajouter une quantité optimale de polymère (sulfate d'alumine) et d'une quantité de charbon actif (ajouté en fin d'été, quand le niveau d'eau diminue ce qui provoque un dégagement de mauvaises odeurs et couleurs). Le répartiteur sert à répartir des quantités d'eau équilibrée dans les six décanteurs.

✚ Décantation : C'est un procédé physique qui consiste à séparer les particules dont la densité est plus lourde que l'eau. Ces particules sont récupérées au fond du bassin sous forme de boue. Il y a 2 types = décanteurs à turbines statique (3) et décanteurs par racleurs automatique (3), il y a 6 décanteurs.



Figure 3 : Décanteurs a , b

✚ Filtration à sable rapide: opération qui permet de soustraire les particules en suspension de l'eau à traiter, barrage des particules qui n'ont pas pu être décantées (1 mètre d'eau filtré sur 1 mètre de sable+ graviers+ buselures).

NB: lavage des filtres si nécessaire par un courant d'eau de lavage et d'air ce qui permet une réutilisation continue des filtres à sable.



Figure 4: Filtres à sable

✚ Désinfection : A chaque entrée de réservoir il y a une injection de chlore qui sert à désinfecter et éliminer toute vie microbienne qui peut altérer l'eau. C'est une élimination de façon simple et à faible coût de la plupart des microbes, bactéries, virus et germes responsables de maladies ce qui permet une potabilisation d'eau, la rendant consommable sans aucun danger.

- **Effet bactéricide** : c'est la capacité de détruire des germes à une étape donnée du traitement.
- **Effet rémanent** : c'est un effet du désinfectant qui se maintient dans l'eau, en particulier dans le réseau de distribution, et qui permet de garantir la qualité bactériologique de l'eau jusqu'au robinet du consommateur

✚ Réservoirs : ils comportent au maximum 45000 m³ d'eau, qui n'est pas stocké plus de 24h dont le fonctionnement est en circuit fermé qui permet l'entrée d'eau traitée tout en assurant sa sortie vers le consommateur.



Figure 5 : Réservoirs

✚ Refoulement d'eau traitée 450 m³/s dirigée vers la RADEEF, à la sortie de la station le chlore résiduel d'eau traitée destinée à la consommation humaine doit être compris entre (0.5-1mg/l) selon la norme.

II. Pollution d'eau :

1. Qu'est-ce que la pollution de l'eau?

La pollution de l'eau est une altération de sa qualité et de sa nature, qui rend son utilisation dangereuse et perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines. La pollution de l'eau a pour principales origines l'activité humaine, les industries, l'agriculture et les décharges de déchets domestiques et industriels.

2. Types de pollution de l'eau :

- Pollution agricole : avec les déjections animales, les nitrates et les phosphates contenus dans les engrais, ainsi que les pesticides.
- Pollution radioactifs : hydrosoluble, peut causer des cancers, des malformations chez les nouveau-nés et des modifications génétiques, et sont donc des polluants de l'eau très dangereux.
- Pollution biologique : Ce sont les bactéries, les virus, les protozoaires et les vers parasites qui se développent dans les égouts et les eaux usées non traitées.
- Pollution industrielle : avec les produits chimiques et les eaux évacuées rejetés par les industries.
- Pollution domestique : avec les eaux usées rejetées des toilettes, les savons de lessive, les détergents ...

La qualité bactériologique d'une eau n'est pas un paramètre stable, mais au contraire, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents et représentant la cause la plus fréquente de non potabilité de l'eau. (*Rodier, 1997*).

La pollution par les micro-organismes pathogènes reste la plus fréquente pour la santé du consommateur.

3. Maladies hydriques :

Tableau 1 : Quelques maladies d'origine hydrique

Maladies	Micro-organisme responsable	Symptômes
Cholera	bactérie <i>Vibrio cholerae</i> .	diarrhée aqueuse, des nausées et des vomissements, déshydratation entraînant la mort en absence de traitement
Campylobactériose	<i>Campylobacter jejuni</i> ou <i>Campylobacter coli</i>	diarrhée (souvent avec présence de mucus et de sang), des douleurs abdominales, des malaises, de la fièvre, des nausées et des vomissements.
Botulisme	Toxine <i>Clostridium botulinum</i>	une paralysie flasque descendante pouvant entraîner une insuffisance respiratoire. faiblesse et des vertiges, troubles de la vision, vomissements, de la diarrhée ...
Hépatite (A et E) infectieuse	Les virus de l'hépatite A et E	Transmission oro-fécale, cause une infection et une inflammation du foie. l'apparition soudaine de fièvre, une faiblesse de l'organisme, un manque d'appétit, des nausées, une gêne abdominale
poliomyélite	Virus <i>poliovirus</i> sauvage	fièvre, fatigue, des céphalées, des vomissements, une raideur dans la nuque, des douleurs dans les membres. Envahit le système nerveux et peut entraîner une paralysie voire la mort en quelques heures
Fièvres typhoïde et paratyphoïde	bactéries <i>Salmonella typhi</i> et <i>Salmonella paratyphi</i>	malaises, une anorexie, des céphalées, une constipation ou une diarrhée, des taches rosées sur la poitrine ainsi qu'une splénomégalie et une hépatomégalie.

4. Micro-organismes recherchés dans les contrôles microbiologiques de l'eau :

L'appareil digestif de l'homme et des animaux constitue un réservoir de germes pathogènes qui peuvent être d'origine hydrique, on est à la recherche donc des bactéries indicatrices de contamination fécale on cite :

- ❖ **Les coliformes (totaux et fécaux) :** regroupe plusieurs espèces des *Entérobactéries*, ils sont des aérobies et anaérobies facultatifs, en forme de bâtonnets, Gram négatif, non sporogones, et capables de fermenter le lactose et glucose, dépourvus d'oxydase, réduisent le nitrates en nitrites. Les coliformes comprenant des bactéries vivant dans les intestins d'animaux à sang chaud (comprenant les humains), leur présence dans l'eau ou les aliments suppose une pollution fécale.
- ❖ ***Escherichia coli (E. Coli) :*** Ce sont des bactéries de la famille des coliformes fécaux, ayant les mêmes propriétés à 44°C, thermo tolérants, L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *E. coli*, elle est d'origine fécale, la raison pour laquelle elle est considérée comme la bactérie la plus importante parmi les indicateurs de pollution.
- ❖ ***Entérocoques intestinaux et/ou streptocoques fécaux :*** sont des *Streptococcaceae* de forme sphérique ou coques, gram positif, apparait sous forme de chaînette, non sporulés, immobiles, dépourvus de catalase et d'oxydase, font partie de la flore intestinal d'homme et animaux et capable de croître à 37 °C en 48h.
- ❖ **Les spores de microorganismes anaérobies sulfito-réducteurs (*Clostridium*) :** C'est un bacille gram positif, anaérobie strict pour la plupart, souvent sporulé. Ils sont généralement des germes hautement pathogènes pour l'homme, saprophytes tellurique intervenant dans la putréfaction des déchets organiques (déchets fécales). Leur présence dans l'eau désinfectée peut donc montrer une déficience de traitement.
- ❖ **Les micro-organismes revivifiables :** sont des bactéries aérobies recherchées à 22°C (air ambiant) et à 37°C (intestins des humains). Leur dénombrement, vise à estimer la densité de la population bactérienne générale, qui se développe dans l'eau à des conditions habituelles. En général, la présence d'un nombre anormal des micro-organismes revivifiables dépassants les normes peut être un indicateur de difficultés de traitement ou d'un entretien inadéquat du réseau.

Partie 2 : Méthodes et matériel

I. Analyses physico-chimiques :

1. Méthodes :

Afin d'assurer une bonne qualité d'eau destinée à la consommation humaine, différentes analyses physicochimiques sont effectuées au sein du laboratoire régional :

Les analyses pratiquées sont les suivantes :

- ☞ L'analyse **physique**: la température, la turbidité, le pH et la conductivité.
- ☞ L'analyse **chimique**: TA, TAC, l'oxydabilité, dureté de l'eau, le chlore résiduel et l'oxygène dissous.

Tableau 2 : Quelques analyses physico-chimiques

Analyses	Définition	VMA
PH (Potentiel Hydrogène)	Mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Le pH renseigne sur le degré d'acidité ou de basicité d'eau, selon la teneur en ions H ⁺ dissout dans l'eau. Il caractérise un ensemble d'équilibres physico-chimiques, et contrôle la croissance des organismes présente dans l'eau.	6.5 ≤ pH ≤ 8.5
Température	Grandeur physique liée à la notion immédiate de chaud et froid. Elle affecte les taux métaboliques des organismes aquatiques et la sensibilité de ces organismes à la pollution, Mesurée par un thermomètre.	°C Acceptable
Conductivité	La mesure de la conductivité permet d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau. La mesure de conductivité se fait à l'aide d'un Conductimètre.	2700 μS/cm à 20°C
Turbidité	Caractéristique optique de l'eau qui mesure la capacité à réfracter ou absorber la lumière incidente. Cette analyse traduit la présence de particules en suspension dans l'eau. Elle est mesurée à l'aide d'un turbidimètre.	5 NTU Turbidité médiane: 1 NTU (Néphélométrique)

Chlore résiduel	Cette analyse colorimétrique a pour but de détecter la valeur de chlore dissous dans l'eau. Ceci se fait par l'ajout du comprimé DPD (diéthyl-p-phénylènediamine). Une coloration rose plus ou moins foncée est un indicateur de concentration du chlore.	Entre 0,1 et 1 mg/l à la distribution Entre 0.5 à 1 mg/l à la production d'eau potable
couleur	---	20 Pt mg/l

2. Matériel :



Figure 6 : Ph mètre

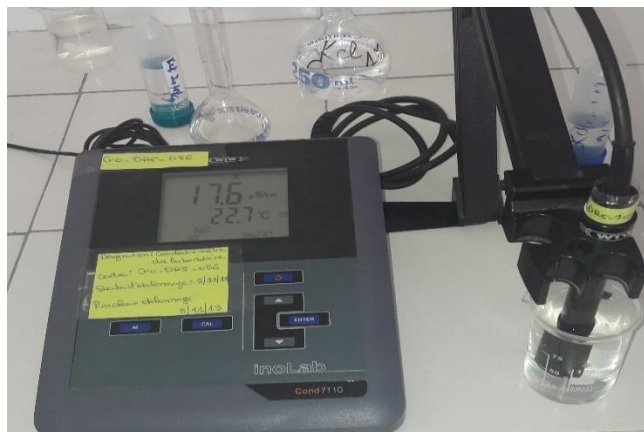


Figure 7 : Conductimètre



Figure 8 : Turbidimètre



Figure 9 : Chlore résiduel

NB : tout matériel utilisé pour les analyses physico-chimiques (solutions, béchers, fioles, machine...) est étalonnés quotidiennement pour accréditer et certifier l'exactitude des opérations effectuées au sein du laboratoire régional.

II. Analyses Microbiologiques:

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de celles qui sont souvent présentes dans l'intestin des mammifères et sont par leur présence indicatrices d'une contamination fécale et donc des maladies associées à la contamination fécale (Rodier, 1997).

Ces analyses se basent sur la recherche des micro-organismes marqueurs spécifiques, qui constituent simultanément des preuves de pollution des eaux brutes et des témoins de bonne désinfection des eaux traitées.

Pour cela l'ONEE/Branche Eau, procède à un contrôle bactériologique qui s'effectue quotidiennement sur l'eau à la sortie de la station de traitement et hebdomadaire sur l'eau brute naturelle (oued Sebou).

Les paramètres recherchés de façon routinière :

- ↪ Les coliformes (totaux et fécaux)
- ↪ *Escherichia coli* (*E. Coli*)
- ↪ *Entérocoques intestinaux* et/ou *streptocoques fécaux*
- ↪ Les micro-organismes revivifiables
- ↪ Les spores de microorganismes anaérobies sulfite-réducteurs(*Clostridium*)

A côté des examens de routine, des analyses microbiologiques sur des échantillons de différents réservoirs, régions, forages, sources, puits ... sont effectuées.

1. Prélèvement :

Un examen bactériologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans un flacon stérile, selon un mode opératoire précis, évitant toute contamination accidentelle, ou variation de la qualité et de la quantité des bactéries présentes lors du prélèvement.

NB : Stratégie de prélèvement d'eau traitée, flamber le robinet, puis faire couler l'eau 3-5 min, et enfin prélever dans un flacon stérilisé spécifique.

2. Blanc :

La validité des résultats émise par un laboratoire doit être sans équivoques, lors de la réalisation des analyses d'une série d'échantillon, un blanc de la méthode doit être effectué afin de vérifier la conformité de l'ensemble des étapes d'une méthode analytique.

Témoin= (eau de dilution stérile) analysé autant qu'échantillon.

3. Contrôle de la qualité d'équipement et d'environnement :

Afin d'assurer le bon déroulement des analyses bactériologique, un contrôle de qualité de différents paramètres est effectué. Ces analyses ont pour objectif principal le maintien d'un état de propreté adéquate.

Contrôle de qualité des surfaces de travail : les surfaces peuvent être contaminées soit par contact soit par sédimentation des micro-organismes présent dans l'air. On a effectué un prélèvement de surface par deux méthodes : boîte contact RODAC (paillasses, salles), écouvillonnage (étuves, réfrigérateurs). Ceci nous a permis d'évaluer le nombre de germes présent dans la surface analysée.

Contrôle de la qualité d'air ambiant : analyse des germes aériens qui reste très importante à réaliser.

Autres analyses : contrôle de la qualité des pipettes à usage unique, membrane filtrante, boîtes de pétrie (à chaque réception), l'eau à usage analytique, stérilité des verreries, lavage des verreries (avec bleu de bromothymol).

NB : on attribue la technique de marche en avant qui signifie du propre au sale pour éviter tout déplacement des micro-organismes à incuber.

NB : Personnel doit être bien équipé d'une blouse des gants stériles pour assurer la fiabilité des résultats.



Figure 10: Contrôle des pipettes surface et membranes filtrantes



Figure 11: Contrôle de lavage des verreries

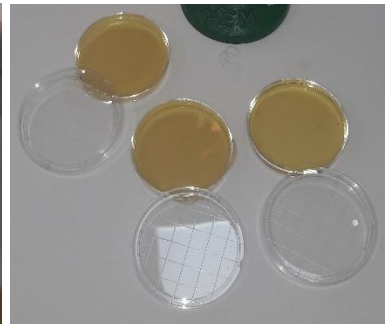


Figure 12: Contrôle de « boîte RODAC »

4. Méthodes d'analyses :

- ↳ Un dénombrement direct des colonies après concentration par **filtration sur une membrane filtrante**, ou bien **incorporation sur gélose** → cas d'**eau traitée**.
- ↳ Une évaluation par calcul statistique du **nombre le plus probable** « NPP » après incubation dans des milieux de cultures liquides spécifiques → cas d'**eau brute**.

NB : tout équipement utilisé en bactériologie est vérifié annuellement pour assurer l'exactitude des analyses microbiologiques effectuées (Étuves, bains marie, réfrigérateurs, autoclaves).

Eau Traitée :

a) Filtration sur membrane:

La méthode de la filtration sur membrane nous permet d'isoler les micro-organismes en suspension dans l'eau, afin de pouvoir les identifier en les incubant à une température et dans un milieu de culture spécifique.

Après incubation, le dénombrement des colonies ayant poussé sur la membrane est effectué directement. Cette méthode est très utilisée pour les eaux traitées peu chargées en bactéries. Par contre pour les liquides troubles et très chargés, elle ne peut pas être valable.



Figure 13 : Méthode de la membrane filtrante (bec benzène-entonnoirs- pompe à vide)

Stratégie de recherche et dénombrement des bactéries dans les eaux traité par la méthode de la filtration sur membrane :

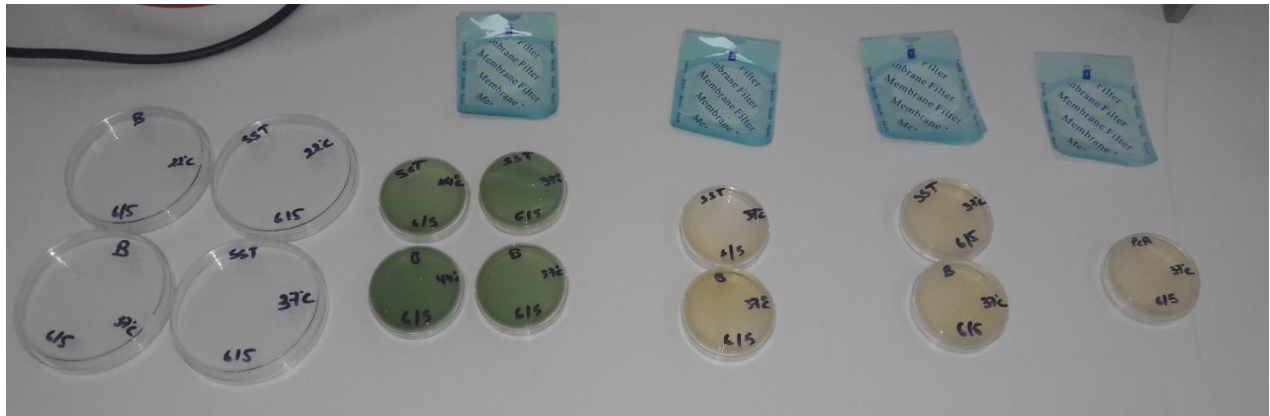
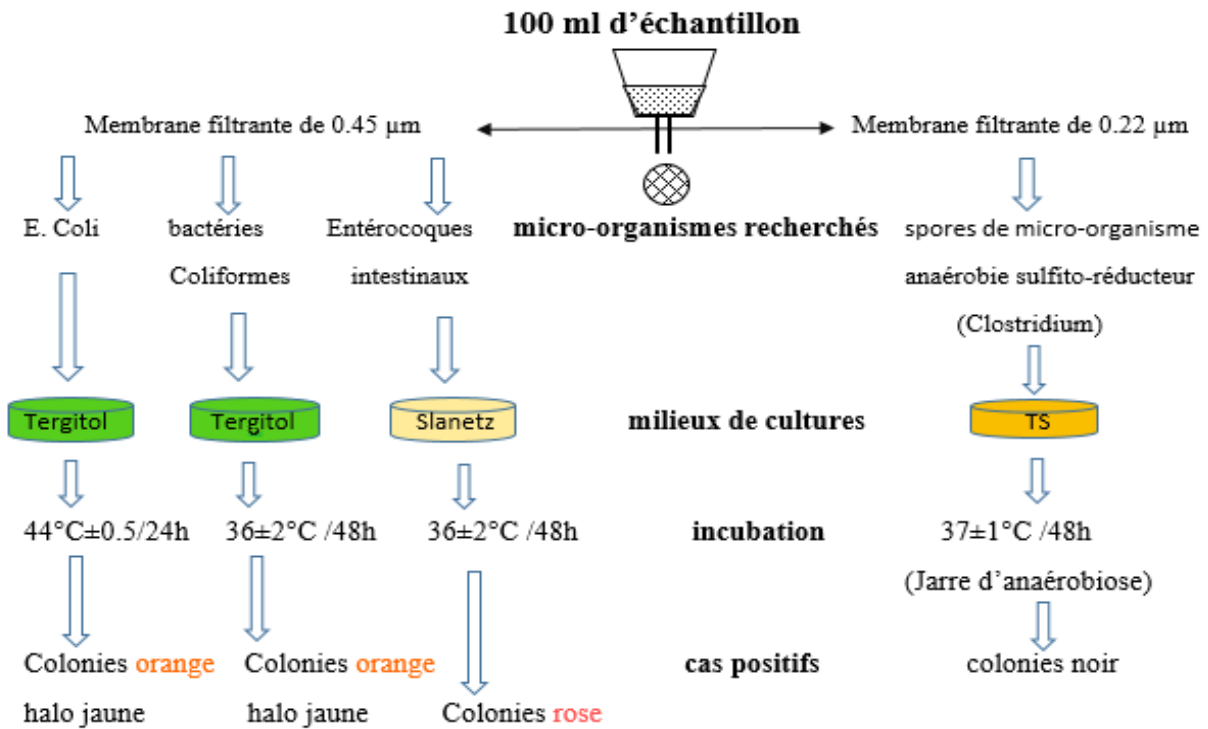


Figure 14 : Milieux de cultures de la methode de la membrane filtrante

NB :

- on utilise pour l'isolement des coliformes un milieu tergitol7 TTC
- on utilise une boîte de Pétri PCA afin de s'assurer de la stérilité des entonnoirs de filtration.
- Pour les spores avant d'effectuer la filtration l'eau traitée est préalablement chauffée à bain marie à $75\pm 5^\circ\text{C}$ pendant 15min puis refroidissement d'échantillon sous un jet d'eau froid (choc thermique) ce qui permet la destruction de la forme végétative et la transformer en spores.

(1) Confirmation des *Escherichia Coli* dans le cas positive :

- 1) Repiquage de 5 colonies typiques (jaune-orange halo jaune), puis ensemencement de chacune des colonies dans une boîte de Pétri avec un milieu de culture TSA (préalablement fondu dans un bain marie) qui est un milieu sélectif gélosé lactosé.
- 2) la même opération se fait pour 5 colonies atypiques (autre couleur qu'orange halo jaune).
- 3) Incubation 24h à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ (des 10 boîtes).
- 4) A partir de chaque boîte un repiquage d'une colonie est effectué puis ensemencement dans le bouillon tryptophane ensuite incubation 24h à 44°C .
- 5) ajout de 0.2 à 0.3 ml de réactif Kovacs, anneau rouge si positif ce qui traduit la dégradation du tryptophane en indole par *E. Coli*.

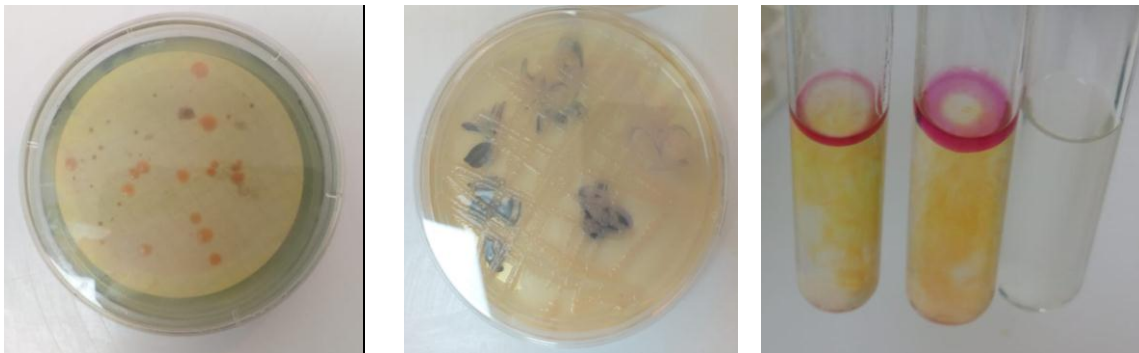
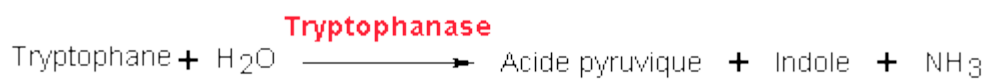


Figure 15: Tergitol *E. Coli* (+) Figure 16: TSA *E. Coli* Figure 17: Bouillon tryptophane *E. Coli* (+)

Le Tergitol 7 inhibe la croissance des microorganismes à Gram positif et favorise la récupération des coliformes. La coloration jaune-orange est provoqué par l'acidification du lactose. Toutes les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase, mais positive à l'indole, seront considérées comme étant des *Escherichia coli*.

(2) Confirmation des Bactéries Coliformes dans le cas positif :

Les mêmes étapes qu'*E. Coli* sont effectuées : 1) et 2)

3) Incubation 24h à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ (boîtes)

4) Isolement d'une partie de culture puis l'étaler sur un papier filtre

5) Ajout de 2à3 gouttes d'oxydase préparées à l'avance. En présence d'une oxydase une coloration violette apparait immédiatement, une réaction tardive blanchâtre infirme la présence des coliformes, (ils ne possèdent pas d'enzyme cytochromes-oxydases).

Rappel : Les cytochromes sont des protéines qui appartiennent à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons.

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif.



Figure 18: Tergitol, Coliforme (+) Figure 19: TSA, Coliforme Figure 20: Oxydase (-) Coliforme (+)

(3) Confirmation des *Entérocoques intestinaux* dans le cas positif :

- 1) Transfert de la membrane à une boîte contenant le milieu de culture BEA
- 2) Incubation 2h à 44°C, dénombrement des colonies noires ou brunes si positif, suite à l'hydrolyse de l'esculine par les *Entérocoques intestinaux*.

Coloration noire : hydrolyse de l'esculine et production d'esculétine qui réagit avec le fer

Esculine + H₂O --- > Glucose + Esculétine

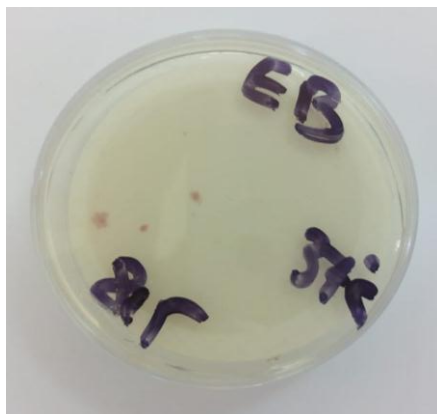


Figure 21: Slanetz positif ; EI (+)



Figure 22: BEA Positif ; EI (+)

Milieu Slanetz : Il contient un inhibiteur des gram - qui sélectionne les Streptocoques qui est l'azide de sodium, le TTC qui lors de sa réduction donne une coloration des bactéries en rouge.

Milieu BEA : c'est un milieu sélectif des streptocoques peu exigeants. Il contient 2 inhibiteurs : la bile de bœuf et l'azide de sodium

b) Incorporation sur gélose :

Méthode simple, nous permettant un dénombrement direct des unités formant colonies (UFC/ml) sur un milieu solide gélosé. La lecture de cette méthode est limitée pour un nombre de colonies entre 30-300. Cette méthode nous permet de quantifier les bactéries revivifiables qui peuvent être tuées au cours du traitement d'eau mais, dans des conditions favorables, peuvent revivre.

Définition : les micro-organismes revivifiables sont toute bactérie aérobie, levure ou moisissure, capable de former des colonies dans un milieu spécifique.

Stratégie de Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables dans les eaux traitées par la méthode d'incorporation sur gélose:

1- Dépôt de 1 ml d'eau traité prélevé stérilement avec une pipette de 1ml (stérile et jetable).

Dépôt de 1 ml d'eau de dilution préalablement stérilisé (blanc).

2- Addition de 20ml du milieu de culture gélosé à l'extrait de levure (pas sélectif) préalablement fondu dans un bain marie à 100°C puis refroidit à 47°C (permettre la survie des micro-organismes).

3- Homogénéisation en gardant la boîte Pétri fermée par des mouvements circulaires, puis laisser refroidir.

4- Incubation à : $36 \pm 2^\circ\text{C}$, 2 jours (température du corps humain)
 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 3 jours (température d'air ambiant)

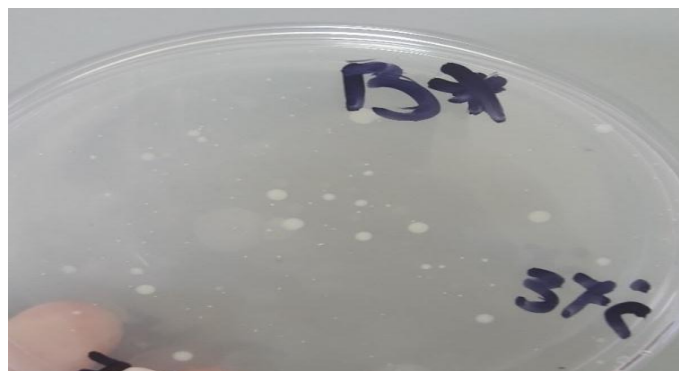
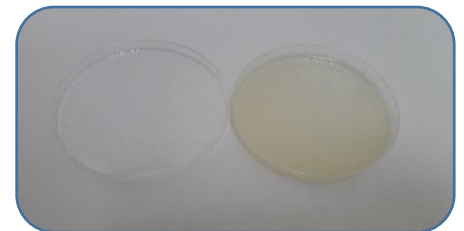
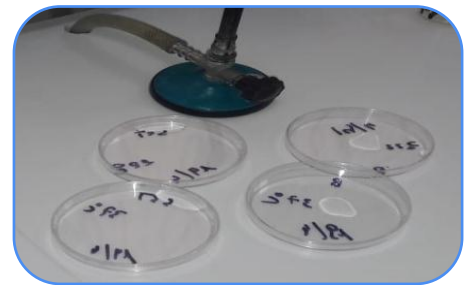


Figure 23: Gélose à extrait de levure, germes revivifiables cas positif (+)

Eau Brute :

c) Le Nombre le plus probable (NPP) :

Le Nombre le Plus Probable (NPP) est une estimation statistique de la densité des microorganismes. Cette méthode se fait par inoculation d'un volume fixe de suspension initiale et de ses dilutions en milieu liquide.

Résultats fournis par des tables statistiques de Mac-CRADDY, le nombre de cultures positives considérées dans 3 dilutions successives donne le NPP.

Test Présomptif des bactéries dans les eaux brutes par la méthode du NPP :

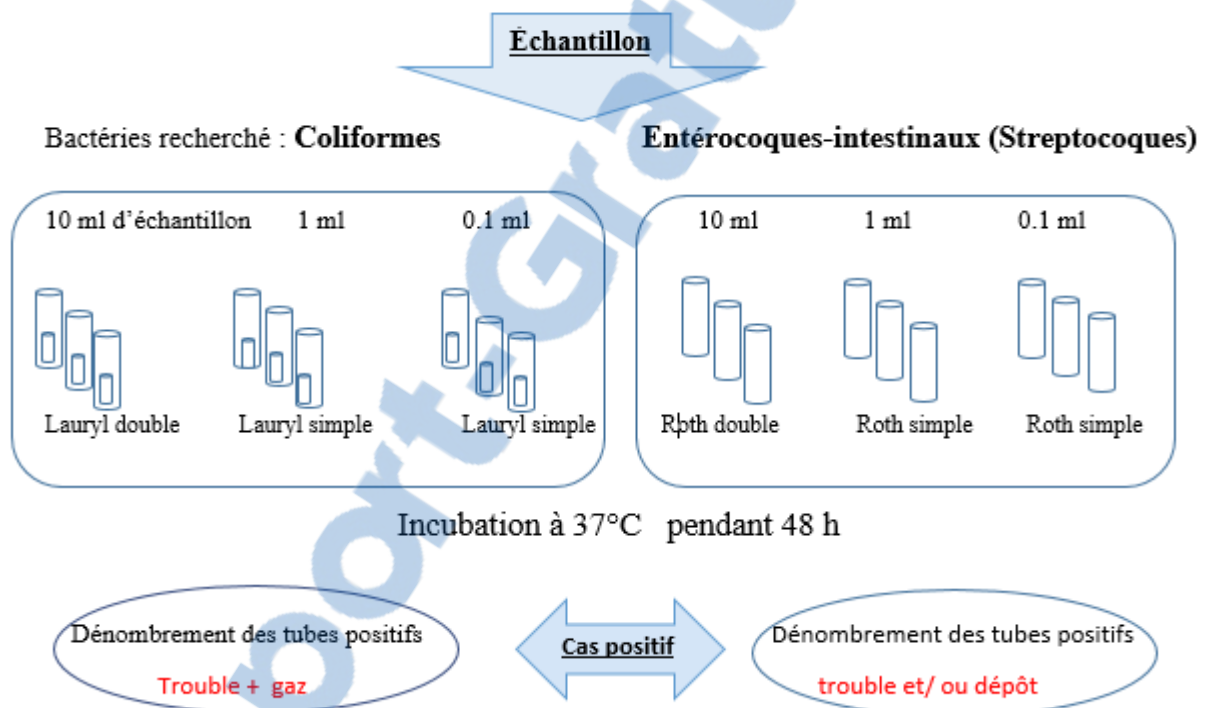


Schéma de méthode du nombre le plus probable

(1) Confirmation des Coliformes fécaux : E. Coli dans le cas de Lauryle positive :

- 1) Ensemencement des tubes positifs dans des milieux de culture EC.Medium
- 2) Incubation 24h /44±0.5°C
- 3) Si EC.Medium positif : dégagement du gaz (1/10 de la cloche vide = positif) + trouble, on ensemence les tubes positifs dans un tube de Bouillon tryptophane incubation 44±0.5°C/24h
- 4) Addition de Kovacs, si positif on observe un anneau rouge à la surface du tube ce qui traduit la production d'indole par E.Coli .

Le bouillon LAURYL (sulfate-Tryptose) : inhibe largement le développement de la flore secondaire contaminante. En raison de son excellent pouvoir nutritif, ainsi que de la présence de tampons phosphates, le bouillon laurylsulfate-Tryptose permet aux coliformes de se développer rapidement et de produire un dégagement gazeux important par fermentation du lactose.

Le milieu EC.Medium : où le lactose est la source de carbone, le mélange de sels biliaires est l'agent sélectif contre les bactéries à Gram positif.

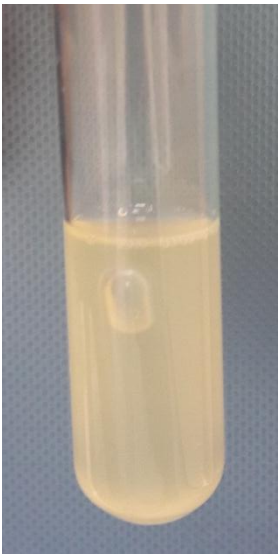


Figure 24: Lauryle positif

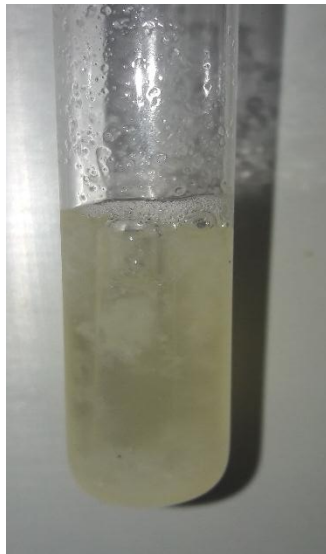


Figure 25: EC.Medium positif

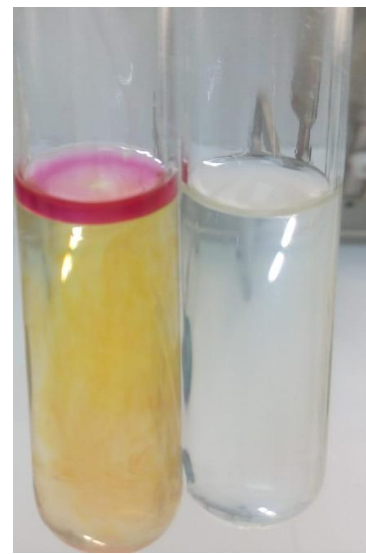


Figure 26: Bouillon-trp , E.Coli positif

(2) Confirmation des Coliformes totaux dans le cas de Lauryle positive :

- 1) Ensemencement des tubes positifs dans des milieux de culture Vert Brillant
- 2) Incubation 48h / $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$
- 3) Si Vert Brillant positif : dégagement du gaz + trouble : donc c'est les coliformes totaux

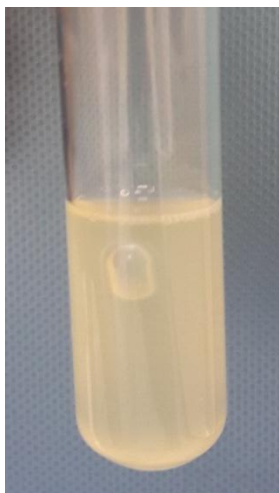


Figure 27: lauryle positif



Figure 28: Vert Brillant positif

Bouillon VERT BRILLANT lactose bilié : La présence simultanée de bile de bœuf et de vert brillant provoque l'inhibition de la presque totalité des microorganismes à Gram-positif et des bactéries à Gram-négatif autres que les coliformes. Fermentant le lactose (dégagement du gaz)

(3) Confirmation des *Streptocoques* dans le cas de Roth positive :

- 1) Repiquage des tubes glucosé à l'azide de sodium positif à l'aide d'une anse bouclée dans des boîtes de gélose BEA
- 2) Incubation 48h/44±0.5°C
- 3) Si BEA positif (colonies foncée à noir): donc c'est entérocoques intestinaux
(Les entérocoques intestinaux hydrolysent l'esculine)



Figure 29: Roth positif

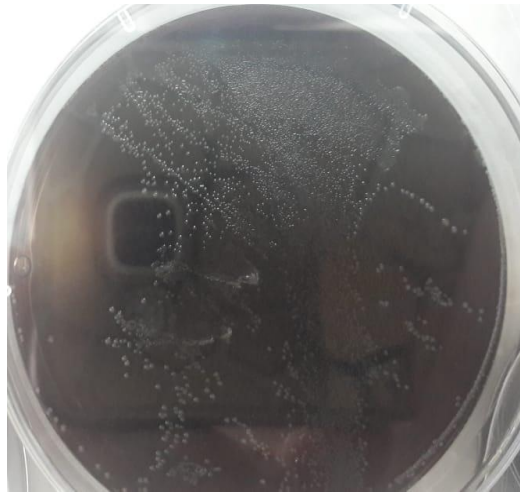


Figure 30: BEA positif

NB : Dénombrement : pour les confirmations d'eau brute, on fait un choix du triplet, puis voir sur la table de Mac. CRADDY (voir annexe) puis le résultat est en NPP/100ml.

Bouillon de ROTHE (bouillon glucosé à l'azote) : L'azide de sodium inhibe la croissance des microorganismes à Gram négatif par son action bactériostatique et favorise la culture des streptocoques fécaux.

Partie 3 : Résultats et discussion

La température est l'un des paramètres les plus importants dans le domaine bactériologique. Au sein du laboratoire régional notre objectif est de s'assurer des bonnes conditions d'environnement pour le contrôle de la qualité d'eau. Les résultats de suivi de la température des Salles de bactériologie sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3: Suivi de la température des Salles de bactériologie

Mois	Jours	Salle de préparation de milieu de culture (°C)	Salle d'analyses (°C)	Salle d'incubation (°C)	Salle de confirmation (°C)	VMA
Mai	6	22.5	23	22.5	24.5	16-27°C (salles climatisées)
Mai	7	23.5	22.5	23.5	23.5	
Mai	8	22.5	23.5	22.5	22.5	
Mai	9	21.5	22.5	22.5	23.5	
Mai	10	20.5	22.5	21.5	22.5	

Toute variation de la température peut avoir des effets plus ou moins importants sur les analyses microbiologiques effectuées quotidiennement sur différents échantillons d'eau.

Selon le suivi de la température effectué, on peut conclure qu'il y a aucun dépassement des valeurs limites au cours des 5 jours d'analyses. Ceci nous certifie que les analyses bactériologiques effectuées au sein du laboratoire induisent à des résultats fiable et exact.

NB : Des suivis des étuves sont également effectués, et d'après leur analyse on peut dire qu'ils assurent tout de même une température exacte favorable au développement des bactéries exigée dans les analyses bactériologique effectuées.

L'eau brute à l'état naturelle, capté depuis l'oued Sebou, est très chargée en organismes vivants pouvant être nuisible à la santé du consommateur. Les résultats des analyses bactériologiques de ces eaux sont regroupés dans le tableau 4

Tableau 4: Suivi des résultats des analyses bactériologiques des eaux brutes par méthode du NPP (3tubes)

Tests Dates d'analyses	TEST PRESOMPTIF		TEST CONFIRMATIF				
	C.T	SF	C.T	CF	SF	EC	EI
07/05/2019 Résultats en NPP/100ml	---	---	460	460	---	240	240
02/05/2019 Résultats en NPP/100ml	---	---	1100	460	---	240	460
25/04/2019 Résultats en NPP/100ml	---	---	1100	1100	---	2400	2100
12/04/2019 résultats en NPP/100ml	---	---	1100	1100	---	240	93
01/04/2019 Résultats en NPP/100ml	---	---	1100	1100	---	240	93

CT : *coliformes totaux* ; CF : *coliformes fécaux* ; SF : *streptocoques fécaux* ; EC : *Escherichia coli*
EI : *entérocoques intestinaux*

Selon le suivi des résultats d'eau brute on peut conclure que la majorité des échantillons examinés sont positifs et contenant des micro-organismes indicateurs de contamination qui peuvent causer des maladies hydriques à l'être humain.

La présence d'un nombre important de germes (*coliformes totaux* ; *coliformes fécaux* ; *Escherichia coli* ; *Entérocoques intestinaux*) dans chacun des échantillons est un danger non négligeable, majeur. L'ONEE/ Branche Eau a pour objectif d'effacer toute trace de contamination ou de danger présent dans l'eau brute. Cette élimination est généralement effectuée par le chlore qui joue le rôle de désinfectant efficace.

Le tableau 5 présente les résultats des analyses bactériologiques d'eau traitée effectuées le 15/04/2019.

Tableau 5: Résultats de la recherche des Bactéries coliformes, *E. coli*, EI et MSR dans l'eau traitée par la méthode de la membrane filtrante : (15/04/2019)

GERMES	LE NOMBRE DES GERMES
Bactéries <i>Coliformes</i>	0 UFC/100ml
<i>E. coli</i>	0 UFC/100ml
Entérocoques Intestinaux	0 UFC/100ml
MSR	0 UFC100ml
Les micro-organismes revivifiables à 22°C	12 UFC/ml
Les micro-organismes revivifiables à 37°C	0 UFC/ml

D'après les résultats des analyses d'eau traitée on peut dire que tout échantillon examiné représente un résultat qui correspond strictement aux normes Marocaine NM 03.7.001. Ce qui nous montre que l'eau traitée ne contient aucune trace de germes indicatrice de contamination fécale.

En comparant entre les analyses d'eau brute et d'eau traitée :

On remarque que l'eau brute est très chargée en **CT, CF, EI, EC**, Par contre l'eau traitée est exempte de toutes contaminations ce qui est conforme aux normes marocaines. Les traitements effectués par l'ONEE/Branche Eau sont donc appropriés et se traduisent par l'efficacité des étapes de traitement (coagulation, floculation, décantation, filtration, et désinfection) dont l'objectif est d'assurer une eau sans danger sanitaire destinée à la consommation humaine.

Les paramètres physicochimiques des eaux avant et après traitement sont résumés dans le tableau 6

Tableau 6: Suivi des PSP (paramètres sur place)

	Eau avant traitement	Eau après traitement	Eau avant traitement	Eau après traitement	VMA
Date	06/05/2019	06/05/2019	13/05/2019	13/05/2019	----
Analyses					
Température d'air °C	17	17	16	18.5	°C Acceptable
pH	8.09	7.35	7.99	7.50	$6.5 \leq \text{pH} \leq 8.5$
Température d'eau °C	19.1	19.5	17.4	19.5	°C Acceptable
Conductivité $\mu\text{S}/\text{cm}$	1030	1046	1014	1075	2700 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20°C
Turbidité NTU	220	0.36	17	0.31	Turbidité médiane: 1 NTU
Couleur	10	<5	10	<5	20 Pt mg/l
Chlore résiduel libre mg/l	---	0.75	---	0.90	0.5 - 1 mg/l à la production d'eau potable 0,1 - 1 mg/l à la distribution

En comparant les paramètres physico-chimiques d'eau avant et après traitement on constate :

pH : une diminution de 8.03 à 7.35 suite à l'injection du coagulant sulfate d'alumine qui est responsable de la diminution du pH d'eau favorisant la formation des floccs.

Conductivité : une légère augmentation qui est due à l'ajout des réactifs de traitement.

Turbidité : rabattement très important de 220 à 0.36 NTU. Ce qui traduit le bon fonctionnement de la coagulation-floculation ainsi que l'efficacité des différentes étapes de traitement permettant de clarifier l'eau.

Couleur : diminution de 10 à <5 suite à l'élimination des matières en suspension qui rendent l'eau plus trouble, ce qui génère l'élévation de la coloration d'eau brute.

Chlore résiduelle : une teneur comprise entre 0.5-1 mg/l est assuré à la sortie de la station de traitement afin d'assurer la qualité biologique de l'eau au cours de son transport aux consommateurs.

Conclusion

Le traitement des eaux de surface est une nécessité pour satisfaire les besoins en eau potable de la population de la ville de Fès.

Le projet de fin d'étude que j'ai élaboré vise le contrôle de l'efficacité de traitement des ressources hydrauliques d'Oued Sebou, passant par différents procédés de la prise d'eau naturelle jusqu'à son refoulement à la RADEEF. Ces procédés ont pour but essentiel, la potabilisation de l'eau la rendant sans aucun risque ni danger.

Le laboratoire régional de l'ONEE/Branche Eau où j'ai eu l'occasion d'effectuer mon stage, m'a permis de contrôler l'efficacité du traitement et le bon déroulement des procédés de traitement selon des paramètres bactériologiques et physico-chimiques et bactériologiques tout en respectant les normes marocaines de la qualité des eaux d'alimentation humaine NM 03.7.001 (2006)

Les résultats obtenus durant ce stage dévoilent la qualité de l'eau s'est améliorée suite à la comparaison des résultats des analyses effectuées avant et après traitement, tout en respectant les normes marocaines. Ceci implique que les traitements réalisés sont efficaces.

Au terme de ce stage, j'ai eu l'occasion d'approfondir mes connaissances dans le domaine des analyses bactériologiques, dans le domaine d'assurance qualité ainsi que quelques notions physico-chimiques. Par ailleurs, j'ai acquis des compétences tant communicationnelles que techniques à travers la connaissance des différents problèmes confrontés au sein de l'entreprise, et leur procédé de gestion par un personnel qualifié. Ce stage m'a également permis de mettre en pratique mes connaissances théoriques acquises au cours de ma formation à la FST Fès en licence BHSA.

Références

Webographique

https://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/diseasefact/fr/

<https://www.safewater.org/french-fact-sheets/2017/2/9/la-temperature-de-leau>

<https://www.suezwaterhandbook.fr/procedes-et-technologies/traitement-des-eaux-potables/filieres-de-traitement-des-eaux-de-surface/la-desinfection>

<http://www.onep.ma>

<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-maladie-hydrique-6340/>

Bibliographique :

Rodier J. 1997. Analyse de l'eau : Eaux naturelles, Eaux Résiduaires, Eaux de mer. DUNOD. Paris, 753-771 ; 1107-1117. 9eme édition. Page 719.

Manuel des analyses physico-chimiques et des analyses bactériologiques de l'ONEP.

Normes Marocaines NM037001 .Qualité des eaux d'alimentation humaine (2006).

Annexes

Tableau 7: normes relatives aux paramètres bactériologiques spécifications des eaux d'alimentation humaine NM 03.7.001

	Organisme recherché	Valeurs maximales admissibles (VMA)
Paramètres à effet sanitaire	Escherichia coli	0 /100ml (les teneurs en chlore résiduel doivent être comprises entre: 0.1et1mg/l à la distribution 0.5à1mg/l à la production)
	Entérocoques intestinaux	0 /100ml
Paramètres bactériologiques indicateurs du fonctionnement des installations et de l'efficacité de traitement	Coliformes	0 /100ml
	Spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs	0 /100ml
	micro-organismes revivifiables à 22°C à 37°C	100/1ml 20/1ml

pH < 5	Acidité forte => présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
pH = 7	pH neutre
7 < pH < 8	Neutralité approchée => majorité des eaux de surface
5,5 < pH < 8	Majorité des eaux souterraines
pH = 8	Alcalinité forte, évaporation intense

Gélose lactosée au Tergitol-7 et au TTC :

Peptone pancréatique de viande.....	10g/l
Extrait de viande.....	5g/l
Extrait autolytique de levure.....	6g/l
Lactose.....	20g/l
Tergitol -7.....	0,1g/l
Bleu de bromothymol.....	0,05g/l
Agar agar bactériologique.....	10g/l

Gélose Slanetz:

Tryptose.....	20g/l
Extrait autolytique de levure.....	5g/l
glucose.....	2g/l
Phosphate di potassique.....	4g/l
Azide de sodium.....	0,4g/l
Agar agar bactériologique.....	10g/l

Gélose tryptone-sulfite-cyclosérine (TSC):

Tryptone.....	15g/l
Peptone papainique de soja.....	5g/l
Extrait autolytique de levure.....	5g/l
Métabisulfite de sodium.....	1g/l
Citrate ferrique ammoniacal.....	1g/l
Agar agar bactériologique.....	15g/l

Gélose à l'extrait de levure :

Tryptone.....	6g/l
Extrait autolytique de levure.....	3g/l
Agar agar bactériologique.....	10g/l

Bouillon Lauryl sulfate de tryptose :

Tryptose.....	20g/l
lactose.....	5g/l
Phosphate dipotassique.....	2,75g/l
Phosphate monopotassique.....	2,75g/l
Chlorure de sodium.....	5g/l
Lauryl sulfate de sodium.....	0.1g/l

Milieu de Rothe :

Tryptone.....	45g/l
Extrait de viande.....	7,5g/l
Glucose de soduim.....	7,5g/l
Azide de sodium.....	0,2g/l

Bouillon lactosé bilié au vert brillant :

Tryptone.....	10g/l
Bile de bœuf bactériologique.....	20g/l
Lactose.....	10g/l
Vert brillant.....	0,0133g/l

ECmedium :

Tryptone.....	20g/l
lactose.....	5g/l
Sels biliaries no.....	1,5g/l
Phosphate dipotassique.....	4g/l
Phosphate monopotassique.....	1,5g/l
Chlorure de sodium.....	5g/l

Milieu litsky :

Polypeptone.....	20g/l
Glucose.....	5g/l
Chlorure de sodium.....	5g/l
Phosphate monopotassique.....	2,7g/l
Phosphate dipotassique.....	2,7g/l
Azide de sodium.....	0,3g/l
Ethyl-violet.....	0,0005g/l