



UNIVERSITE MOULOUD MAMMERRI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE

*Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de
master en science de la nature et de la vie.*

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THEME :

**Evaluation de la qualité des eaux usées brutes et
épurées de la ville de Tizi-Ouzou : Analyse Physico-
chimique, Bactériologique, Parasitaire et
Antibiorésistance.**

Présenté par :

M^{elle} : HAMEK Rabiha.

M^{elle} : MOKRANE Fatima.

Soutenu devant le jury composé de :

Mr OUELHADJ A. Maitre de conférences classe (UMMTO) Promoteur

M^{me} D. MAZI D. Doctorante (UMMTO) Co-promotrice

M^{lle} ASMANI K. Maitre de conférences classe B (UMMTO) Présidente

M^r SEBANE H. Maitre-Assistant classe A (UMMTO) Examineur

M^r MOUALEK I. Maitre-Assistant (UMMTO) Examineur

PROMOTION 2017/2018

Remerciements

Nous remercions Dieu le plus puissant qui nous a donné le courage et la volonté de mener à bien ce travail.

Notre reconnaissance et gratitude à notre Directeur de mémoire Monsieur Oulhadj Akli et la co-promotrice madame Mazi damia pour leur disponibilité, leur dévouement et leur précieux conseils et encouragements qui nous ont aidé à réaliser ce mémoire.

Nous remercions également le personnel administratif

Nos vifs remerciements sont adressés aux professeurs de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques à l'UMMTO qui ont assurés notre formation durant le cursus universitaire.

Sans oublier de remercier les membres de jury qui ont eu l'amabilité de juger ce travail.

Nos remerciements sont adressés à nos parents, nos familles, de nous avoir soutenu et encourager durant nos études.

Sans oublier nos camarades en master « Microbiologie appliquée » et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A la mémoire de mes très chers grands parents

A ma grand-mère paternelle

A mes très chers parents

A mes très chères sœurs

A mon binôme du mémoire

A tous mes amis (es)

A mes collègues du travail.

Rabiha

Dédicaces

A la mémoire de mes très chers grands parents

A mes très chers parents

A mes très chères sœurs

A mes très chers frères (Amar et samir)

A mon binôme du mémoire

A tous mes amis (es)

A mes collègues du travail.

Fatima

Liste des abréviations

STEP : station d'épuration des eaux usées

ERU : eau résiduaire urbaines

UV : ultraviolet

PH : potentiel hydrogène

CE : conductivité

MES : matière en suspension

MVS : matière volatile soluble

MMS : matière minéral en suspension

DBO : demande biologique en oxygène

ASTM: American Society for testing Material

OMS: Organisation mondial de la santé

ONID : office national d'irrigation et de drainage

FTU: Formazing Turbidity Unit

GPI: irrigation de grand périmètre d'irrigation

MRE : ministère des ressources en eau

IANOR : l'Institut Algérien de Normalisation

CMA : Concentration minimal admissible

CA-SFM : le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

GTA : groupe de travail anti-infectieux

AMM : autorisation de mise sur le marché

CMI : concentration minimal inhibitrice

PLP : protéine liant la pénicilline

UFC : unité formant colonie

Liste des figures

Figure 1 : vue globale de la station d'épuration de pont de bougie Tizi-Ouzou.....	17
Figure 2 : Structure de la STEP de Tizi-Ouzou (pont de bougie).....	17
Figure 3 : Schéma représentant les étapes de traitement des eaux usées	18
Figure 4 : Etape de dégrillage.....	19
Figure 5 : Etape de déshuilage et dessablage.....	22
Figure 7 : Représente les étapes d'épuration des eaux usées	24
Figure 8 : Schéma représentatif du fonctionnement global de l'ONA de Tizi Ouzou	25
Figure 9 : Schéma d'une bactérie à Gram positif (gauche) et à Gram (droite) avec les mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques.....	36
Figure 10 : Point de prélèvement des eaux brute et traitée de la station EST.....	52
Figure 11 : Technique de mesure de la température des eaux brutes et épurées.....	53
Figure 12 : Le pH-mètre pour la mesure de la conductivité de l'eau (brute et épurée).....	53
Figure 13 : Mesure de la turbidité.....	54
Figure 14 : Technique de Mesure de la conductivité	54
Figure 15 : Schéma représentatif de la technique de mesure des MES.....	55
Figure16 : Décantation de la matière décantable.	56
Figure 17 : Mesure des MES par la méthode de filtration.....	58
Figure 18 : Méthode de mesure de la DCO	59
Figure 19 : Méthode de mesure de la DBO ₅	60
Figure 20 : Schéma représentatif de la méthode de mesure des nitrates.....	62
Figure 21 : Schéma représentatif de la méthode de mesure des nitrites	63

Figure 22 : Schéma représentatif de la méthode de mesure du phosphate.....	64
Figure 23 : Schéma représentatif de la méthode de mesure de l'azote ammoniacal.....	65
Figure 24 : Méthode de recherche des microorganismes revivifiabiles à 22 et à 37°C sur milieu TGEA	69
Figure25 : Méthode pour la recherche des coliformes par filtration sur membrane...71	
Figure 26 : Méthode pour la recherche des entérocoques par filtration sur membrane..72	
Figure 27 : méthode pour la recherche des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices par filtration sur membrane.....	74
Figure 28 : Recherche des salmonella	75
Figure 29 : Recherche des staphylocoques à coagulase positive par filtration sur membrane	77
Figure30 : Recherche des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> par méthode de filtration sur membrane	79
Figure 31 : Recherche des <i>Vibrio</i> par méthode de filtration sur membrane	80
Figure 32 : Schéma représentatif des étapes cruciales pour la réalisation de l'antibiogramme	93
Figure 33 : Résultats d'analyse physico-chimique	98
Figure 34 : Résultats d'analyse physico-chimique.....	79
Figure 35 : Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des coliformes totaux 37°C pour l'eau brute et eau épurée.	
Figure 36 : Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des coliformes fécaux 44°C pour l'eau brute et eau épurée.	
Figure 37 : Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des streptocoques 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur le milieu Slanetz et Bartley.	
Figure 38 : Les boites de pétries correspondant à la recherche des streptocoques 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu BEA.	

Figure 39: Les boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Staphylococcus* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu Chapman.

Figure 40: Les boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Clostridium* à 37°C en anaérobiose pour l'eau brute et eau épurée sur milieu VF.

Figure 41: l'enrichissement primaire correspondant à la recherche des *Vibrio* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée dans de l'eau peptonée alcaline.

Figure 42: boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Vibrio* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur GNAB.

Figure 43: l'enrichissement primaire et secondaire correspondant à la recherche des *Salmonelles* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée dans de l'eau peptonée tamponnée et Rappaport Vassiliadis.

Figure 44: boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Salmonelles* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu Hektoen.

Figure 45 : boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Pseudomonas* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu Cétrimide.

Figure 46 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l'eau brute à divers antibiotiques testés (première analyse).

Figure 47 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l'eau épurée à divers antibiotiques testés.

Figure 48 : Pourcentage des souches bactériennes résistantes à au moins quatre antibiotiques, cinq antibiotique, six, sept et huit antibiotique dans la station d'étude.

Figure 49 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l'eau brute à divers antibiotiques testés (deuxième analyse).

Figure 50 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l'eau épurée à divers antibiotiques testés (deuxième analyse).

Figure 51: Pourcentage des souches bactériennes résistantes à au moins quatre antibiotiques, cinq antibiotique, six, sept et huit antibiotique dans la station d'étude (deuxième analyse).

Figure 52 : *Entamoeba histolytica* (×100)

Figure 53 : Kyste *Giardia duodenalis* (×100).

Liste des tableaux

Tableau I: Principaux virus responsable de pathologie liée à l'ingestion de l'eau contaminée

Tableau II : Principales bactéries responsable d'infections d'origine hydrique

Tableau III: Infections d'origine parasitaires transmises par l'eau

Tableau IV: Spécifications microbiologiques des eaux usées épurées à des fins d'irrigation

Tableau V: Spécifications physico-chimiques des eaux usées épurées à des fins d'irrigation

Tableau VI : La liste des cultures pouvant être irriguées avec des eaux usées épurées

Tableau VII: Principales résistances naturelles

Tableau VIII : Principaux mécanisme de résistance aux antibiotiques

Tableau IX: Maladies d'origine bactérienne transmises par voie hydrique

Tableau X: Maladies d'origine parasitaire transmises par voie hydrique

Tableau XI : Maladies d'origine virales transmises par voie hydrique

Tableau XII: Liste d'antibiotiques utilisés et leurs abréviations.

Tableau XIII : Paramètres physicochimique des eaux usées brute et traitées

Tableau XIV: Résultats du dénombrement de la flore mésophile.

Tableau XV: Résultats macroscopique de la première analyse pour l'eau brute.

Tableau XVI: Résultats macroscopique de la deuxième analyse pour l'eau brute.

Tableau XVII : Résultats microscopique de la première analyse pour l'eau brute.

Tableau XVIII : Résultats microscopique de la deuxième analyse pour l'eau brute.

Tableau XIX : Représentatif des résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir de l'eau brute de la première analyse.

Tableau XX: Représentatif des résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir de l'eau brute de la première analyse.

Tableau XXI : Représentation des diamètres d'inhibition des souches isolées dans l'eau brute de la première analyse.

Tableau XXII : Représentation des diamètres d'inhibition des souches isolées dans l'eau épurée de la deuxième lyse.

Tableau XXIII : Résultats macroscopique de la première analyse pour l'eau brute.

Tableau XXIV : Résultats macroscopique de la deuxième analyse pour l'eau épurée.

Tableau XXV : Résultats microscopique de la première analyse pour l'eau brute.

Tableau XXVI: Résultats microscopique de la deuxième analyse pour l'eau épurée.

Tableau XXVII : Représentation des résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir de l'eau brute de la deuxième analyse.

Tableau XXVIII : Représentation des résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir de l'eau épurée de la deuxième analyse.

Tableau XXIX : Représentation des diamètres d'inhibition des souches isolées dans l'eau brute de la deuxième analyse.

Tableau XXX : Représentation des diamètres d'inhibition des souches isolées dans l'eau épurée de la deuxième analyse.

Tableau XXI : Détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du canal de l'eau brute (EB) à l'entrée de la STEP.

Tableau XXII : Détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du canal de l'eau épurée (EP) à la sortie de la STEP.

Tableau XXIII: Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau brute aux antibiotiques testés.

Tableau XXIV : Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau épurée aux antibiotiques testés.

Tableau XXV: Détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du canal de l'eau brute (EB) à l'entrée de la STEP.

Tableau XXVI: Détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du canal de l'eau brute (EB) à la sortie de la STEP.

Tableau XXVII: Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau brute aux antibiotiques testés.

Tableau XXVIII: Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau épurée aux antibiotiques testés.

Sommaire

Introduction générale

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur les eaux usées.

1-Définition des eaux usées.....	01
2-La collecte des eaux usées	01
3-Origines des eaux usées	02
4-Characterisation qualitative des eaux usées	04
4-1- Caractères physico-chimiques	04
4-2 -Caractéristiques chimiques	06
4-1-4-Paramètres organoleptique	08
4-2-Characterisation quantitative des eaux usées.....	09
5-Paramètres biologiques	10

Chapitre II : Traitement des eaux usées.

1- Présentation de l'Office National de l'Assainissement.....	16
1-	Sy
stème d'assainissement EST de la ville de TIZI-OUZOU	16
3- Les procédés d'épuration des eaux usées	17
4-Fonctionnement de la station d'épuration pont de bougie de Tizi Ouzou	23

Chapitre III : Réutilisation des eaux usées traitées et antibiorésistance

1- Critères de qualité des eaux épurées	27
2-	Le
s résidus médicamenteux dans l'eau épurée destiné à l'irrigation	30
3-Définition des antibiotiques	31
4-Classification des antibiotiques	31
4-1-Modes d'action des antibiotiques	32
4-1-1-Les antibiotiques agissant sur la synthèse de la paroi bactérienne	32
4-1--2-Antibiotiques inhibant la synthèse protéique	33
4-1-3-Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques	34
4-1-4-Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique.....	35
4-2-Résistance bactérienne	36
4-2-2-1-Biochimie de la résistance.....	37
4-2-2-1-1-Mécanismes de la résistance	38
4-2-2-2- Génétique de la résistance	43
4-3-Emergence et propagation de la résistance	45
4-4-Impact de l'utilisation de l'eau épurée dans l'irrigation sur la santé publique et l'environnement	47

Deuxième partie : Etude expérimentale.

Chapitre I : Analyse physicochimique.

I-Matériels	53
-------------------	----

I-1-Appareillages	53
I-2-Solutions chimiques (réactifs).....	53
4-Méthode d'échantillonnage	52
3-Analyse quotidienne	
III-2- Analyse complète (une fois par semaine)	56

Chapitre II : Analyses bactériologique et parasitaire.

Introduction	66
I-Méthode	66
2- Méthode	66
3- Analyse bactériologique	67
3-1- Dénombrement des microorganismes revivifiables.....	68
3-2- Recherche et dénombrement des coliformes	70
3-3-Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux	71
3-4-Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices et de <i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs	73
3-5- Recherche et dénombrement des Salmonelles.....	74
3-6- Recherche et dénombrement des staphylocoques à coagulase positive	76
3-7-Recherche des <i>Pseudomonas</i>	78
3-8- Recherche du vibrion cholérique	79
4- Isolement des bactéries	81
4-1- identification des isolats	81
4-1-1- Etude macroscopique	81

4-1-2- Etude microscopique	81
4-1-3- Etude biochimique	83
5- Réalisation de l'Antibiogramme	92
6-Analyse parasitologique	94
Résultats de la pratique	
1-Résultats de la Physicochimie et interprétation	9
2-Résultats de la bactériologie et interprétation	104
3-Résultats parasitologique	145
Conclusion générale	
Annexes	
Référence bibliographique	

Introduction générale

L'eau ne peut être considérée comme un simple produit commercial, elle doit être classée comme un patrimoine universel qui doit être protégée, défendue et traitée comme tel. Elle est une ressource vitale pour l'homme, sa survie, sa santé, son alimentation ; elle l'est également pour ses activités agricoles, économiques et la qualité de son environnement en dépend étroitement. Cependant, elle est le réceptacle universel de tout type de pollution (Metahri, 2012).

L'eau est une denrée de plus en plus rare en Algérie et de moins en moins renouvelable, elle fait actuellement l'objet d'une exploitation concurrentielle entre les besoins de la population, ceux de l'agriculture et de l'industrie qui se disputent une disponibilité limitée.

Devant ces besoins en eau douce et vu l'impossibilité de se contenter seulement de ces ressources naturelles conventionnelles, la recherche de moyens de la réutilisation des effluents d'eaux usées traitées est devenue une option attrayante et une alternative incontournable afin de mobiliser de plus importants volumes d'eau et satisfaire ainsi la demande de plus en plus croissante, particulièrement, dans les pays semi- arides comme l'Algérie. Ces eaux usées représentent une source d'eau et d'engrais additionnels renouvelables et fiables.

Cependant, en raison de la composition variable, cette eau peut être un vecteur de divers contaminants chimiques et biologiques, en effet les eaux résiduaires urbaines, même traitées par une station d'épuration, contiennent divers micro-organismes pathogènes et des contaminants chimiques en quantité faible mais hautement significatives ; il peut s'agir de nutriments comme le nitrate et le phosphore, de produits chimiques industriels et des produits pharmaceutiques notamment les antibiotiques . Ces derniers sont à l'origine de l'émergence du phénomène de résistances qui actuellement un problème majeur de santé publique.

Les conditions de réutilisation d'eaux usées traitées doivent être encadrées réglementairement afin de prévenir les risques sanitaires liés à cette pratique. En Algérie, la présence de normes de rejet spécifiques à la réutilisation des eaux usées en agriculture (Décret exécutif n° 93-160 du 10 juillet 1993 et décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006) ainsi que la présence de textes réglementaires fixant la modalité de réutilisation des eaux usées et la liste des cultures et les conditions de leur irrigation par les eaux usées épurées (Décret exécutif n° 07-149 de 20 mai 2007 et l'arrêté interministériel du 2 janvier 2012) constituent un promotion de projets de réutilisation des eaux usées épurées

Sa réutilisation devrait être gérée soigneusement, surveillée et contrôlée, afin de vérifier les risques et les menaces potentiels sur les usagers, le sol, l'eau et les cultures irriguées avec elle, ainsi que sur l'environnement dans son ensemble.

Notre étude se focalise sur la caractérisation physico-chimique et bactériologique des effluent liquide de la station d'épuration Est (pont de bougie) de la ville de Tizi-Ouzou et cela afin d'évaluer la qualité de l'eau traitée.

Ce travail comporte deux parties principales :

I- La synthèse bibliographique est composée essentiellement de trois chapitres:

-Le premier chapitre traite les paramètres de qualité des eaux usées.

-Le deuxième chapitre est consacré pour l'étude du processus des traitements appliqué par la station d'épuration Est (pont de bougie) de la ville de Tizi-Ouzou.

Le troisième chapitre :

- Rapporte les possibilités de réutilisation des eaux usées traitées en agriculture.

- traite la présence de résidus médicamenteux notamment les antibiotiques dans les rejets d'eau usée apurée et la conséquence de leur présence sur l'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques.

II- La partie expérimentale porte sur la présentation du matériel et méthodes d'analyse adoptées pour la caractérisation physicochimique, microbiologiques et l'étude de l'antibiorésistance des effluents liquides de la station d'épuration Est (pont de bougie) de la ville de Tizi-Ouzou. Enfin, nous terminons notre étude par une conclusion générale où sont récapitulés les principaux résultats obtenus.

En parlant de l'eau usée, il semble important d'avoir une idée sur sa définition, son origine et ses caractéristiques, ainsi que les différentes méthodes utilisées pour son épuration.

1-Définition des eaux usées

L'eau est essentielle à de nombreuses activités domestiques, industrielles, agricoles. Après usage, cette eau contient de nombreux contaminants biologiques et chimiques, on dit que cette eau, contaminée et rejetée après usage, est usée, encore appelée eau polluée. On distingue trois types d'eaux usées : les eaux usées domestiques, les eaux industrielles, les eaux de ruissellement. Leur dépollution nécessite un traitement approprié afin de sauvegarder le milieu environnemental naturel dans lequel elles seront déversées.

La pollution de l'eau s'entend comme, une modification défavorable ou nocive des propriétés physico-chimiques et biologique, produite directement ou indirectement par l'activité humaine, les rendant impropres à l'utilisation normale établie (Metahri, 2012).

2-La collecte des eaux usées

2-1-Assainissement

Dans la plupart des pays et en particulier dans les milieux urbanisés, les eaux usées sont collectées et acheminées par un réseau d'égout (ou réseau d'assainissement), les collecteurs permettent l'acheminement des eaux depuis les immeubles producteurs d'eaux usées (habitations, industries, écoles, hôpitaux,...) d'une ou de plusieurs entités (ville, village,...) ,soit jusqu'à une station de traitement collective, soit jusqu'à un site autonome de traitement.

L'assainissement des agglomérations a pour objet d'assurer l'évacuation des eaux pluviales et des eaux usées dans des conditions satisfaisantes pour la santé publique ; et entrant de ce fait, dans le cadre de la loi n° 64-1245 du 16 décembre 1964 relative au régime et à la répartition des eaux et à la lutte contre leur pollution (Rejsek, 2002).

On distingue deux types de réseaux d'assainissement :

2-1-1-Les réseaux unitaires

Les eaux usées domestiques et les eaux pluviales sont collectées dans un même tuyau, c'est le cas de la plupart des réseaux existants, ce système nécessitent de tenir compte des brutales variations de débit des eaux pluviales dans la conception et le dimensionnement des collecteurs et des ouvrages de traitement, dans ce cas l'installation des déversoirs d'orage est nécessaire afin de permettre de gérer les débits admis dans les réseaux de collecte unitaire et les stations d'épuration et éviter l'encombrement des conduites et l'inondation des agglomérations , le débit excédentaire est évacué soit vers le milieu récepteur soit vers un dispositif de stockage : bassin d'orage (Roland ,2000).

2-1-2-Les réseaux séparatifs

Comportant deux réseaux de canalisation différents l'un pour les eaux pluviales et l'autre pour les eaux usées domestiques ou industrielles, les eaux de pluie peuvent être stockées dans des citernes à eau de pluie et réutilisées pour certains usages domestiques (arrosage, lessivage, nettoyage, chasses d'eau de WC). Le réseau séparatif a comme avantage principal de décharger les stations d'épuration des variations de charges importantes que produise les évènements pluvieux (Roland ,2000).

Un système dit **pseudo séparatif** pour lequel une partie des eaux pluviales provenant des toitures et cours intérieurs sont évacuées avec les eaux usées domestiques, et l'autre partie provenant des surfaces de voirie s'écoulent par les ouvrages particuliers conçus pour cet objet comme les caniveaux, aqueducs, et fossés avec évacuation directe dans la nature (Rejsek, 2002).

3-Origines des eaux usées

Les eaux usées, appelées aussi eaux résiduaire urbaines (ERU), qui arrive à la station d'épuration sont un mélange de plusieurs types d'eau, les caractéristiques principales de chacune des catégories d'eau usées sont successivement étudiées ci-après (Rejsek ,2002).

3-1-Eaux usées domestiques

Les eaux usées domestiques proviennent d'établissement et service résidentiels. Elles se répartissent en eaux ménagères, appelées aussi eaux grises, proviennent de la cuisine, de la salle de bain, sont généralement chargées de détergents et de savons mais aussi de graisses, provenant de la vaisselle et déchets de la nourriture. et les eaux de vannes (ou eaux noires) ; rejets des toilettes chargées de matières organique (fèces, urines), matières azotés et de germes fécaux (Rejsek ,2002).

3-2-Eaux usées industrielles

Les eaux usées industrielles sont celles de provenance des diverses usines de fabrication ou de transformation. Leur composition varie selon l'activité de l'entreprise en question. Elles sont généralement chargées de matières organiques, phosphorées ou azotées, et peuvent également contenir aussi des produits toxiques, les métaux lourds, des hydrocarbures et des micropolluants organiques.

Les eaux industrielles sont extrêmement dangereuses pour la santé et l'environnement elles font l'objet d'un prétraitement avant leur évacuation dans les réseaux de collecte (Rejsek ,2002).

3-3-Les eaux usées agricoles

Ces effluent proviennent des terres cultivées après lessivage et ruissellement ,Ce sont des eaux qui ont été polluées par des substances utilisées dans le domaine agricole dont certaines présentent des risques pour l'environnement et plus particulièrement pour la qualité des eaux des nappes les plus superficielles et des eaux des cours d'eau. Il s'agit principalement des fertilisants (engrais minéraux de synthèse ou de déjections animales), des produits phytosanitaires (herbicides, fongicides, insecticides).

3-4-Les eaux de ruissellement

Les eaux de ruissellement, comprennent les eaux de pluie, les eaux de lavage et les eaux de drainage. Ces eaux sont polluées par les matières qu'elles entraînent, en provenance des trottoirs et chaussées (mazout, bitume, etc.) ; elles contiennent également, du zinc du plomb et du cuivre. La pollution des eaux de ruissellement est variable dans le temps plus forte au début d'une précipitation qu'à la fin par suite de nettoyage des aires balayées par l'eau, cette pollution première est-elle-même croît en même temps que le taux d'industrialisation du pays.

Conformément aux prescriptions contenues dans le circulaire n° 429, du 8 avril 1975, du ministre de la santé, les eaux de ruissellement recueillies sur les toitures et les aires des établissements hospitalières devront être conduites, par une canalisation spéciale, le plus directement possible et sans stagnation, vers les canalisations publiques (Rejsek ,2002)

4- Caractérisation qualitative des eaux usées

La composition des eaux usées, est extrêmement variable en fonction de leur origine. Elles constituent un effluent pollué et nocif .leur étude doit s'effectuer sous le double point du vue physico-chimique et biologique. La mesure de ces paramètres se fait au niveau des rejets, à l'entrée et à la sortie des usines de traitement et dans les milieux naturels (Rejsek ,2002).

4-1- Caractères physico-chimiques

Dans cette partie nous passerons en revue les principaux paramètres physicochimiques analysés au cours de la partie expérimentale.

4-1-1- Paramètres physiques

4-1-1-1- Température

La température est un facteur écologique important des milieux aqueux. Elle permet de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température notamment la conductivité électrique, permet aussi la détermination du pH et la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels.

La température agit aussi comme un facteur physiologique de croissance des micro-organismes vivant dans l'eau mais aussi elle joue un rôle majeur dans la nitrification et la dénitrification biologique. La nitrification est optimale pour des températures variant de 28°C à 32°C par contre, elle est fortement diminuée pour des températures de 12°C à 15°C et elle s'arrête pour des températures inférieure à 5°C (Metahri, 2012).

4-1-1-2- La conductivité (CE)

Elle consiste à une appréciation des matières minérales en solution. En effet, dans les eaux naturelles qui constituent des solutions peu concentrées en sels minéraux, pratiquement tous les éléments dissous sont ionisés et contribuent donc à la conductibilité d'une eau. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau.

La minéralisation de la plupart des eaux est dominée par huit ions appelés couramment les ions majeurs, on distingue les cations : calcium , magnésium , sodium et potassium , et les anions : chlorure , sulfate , nitrate et bicarbonate (Rejsek ,2002).

La conductivité s'exprime en micro Siemens par centimètre , la mesure de de la CE permet d'évaluer la minéralisation globale de l'eau , sa mesure est utile car au-delà de la valeur limite de la salinité correspondant à une conductivité de 2500micro siemens /cm , la prolifération de microorganismes peut être réduite d'où une baisse de rendement épuratoire (Metahri, 2012).

4-1-1-3-Matière en suspension (MES)

Ces matières en suspension représentent l'un des paramètres globaux de pollution les plus facilement perceptible mais l'un les plus difficilement mesurable, en fonction de la taille des particules, on distingue les matières grossières ou décantables (diamètres supérieur à 100um) et les matières en suspension (Rejsek ,2002).

Elles représentent, la fraction constituée par l'ensemble des particules, organiques (MVS) ou minérales (MMS), non dissoute de la pollution .Elles constituent un paramètre important qui marque bien le degré de pollution d'un effluent domestique ou industriel (Metahri, 2012).

On peut estimer la concentration en MES en faisant appel aux deux appareillages suivant : turbidimètre et le MES mètre, ces techniques permettent en continue, au niveau des stations d'épuration, la valeur de cette concentration renseigne sur la qualité de l'eau ou sur le traitement (Rejsek ,2002).

La pollution particulaire d'une ERU est à l'origine de nombreux problème au niveau de la station d'épuration comme ceux liés au dépôt des matières dans les bassins ou les canalisations ou aux phénomènes de détérioration du matériel, mais aussi les MES peuvent entrainer des perturbations de l'écosystème par une diminution de la clarté de l'eau, limitant la photosynthèse végétale, par le dépôt, l'envasement, et l'asphyxie des poissons. Les dépôts dans les zones calmes sont susceptibles d'entrainer le développement des bactéries anaérobies, avec les conséquences habituelles : fermentation, production d'odeurs nauséabondes (Rejsek ,2002).

4-1-2-Caractéristiques chimiques

4-1-2-1-Potentiel hydrogène

Le pH est un paramètre qui permet de mesurer l'acidité, l'alcalinité ou la basicité d'une eau. IL influence d'autres éléments comme les ions des métaux dont il peut diminuer ou augmenter leur mobilité en solution biodisponible et donc leur toxicité, le pH joue un rôle important dans l'épuration d'un effluent et le développement bactérien (Rejsek ,2002), la nitrification optimale ne se fait qu'à des valeurs de Ph comprises entre 7,5 et 9 (Metahri, 2012).

Le pH doit être impérativement mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre (méthode photométrique) ou par colorimétrie (Rejsek ,2002).

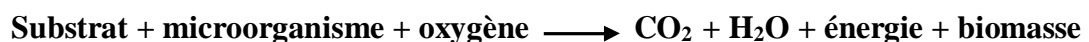
4-1-2-2-L'oxygène dissous

La concentration en oxygène dissous est un paramètre essentiel dans le maintien de la vie. Il conditionne les réactions biologiques qui ont lieu dans les écosystèmes aquatiques et dans les phénomènes de dégradation de la matière organique et de la photosynthèse. La solubilité de l'oxygène dans l'eau dépend de différents facteurs, dont la température.

Une eau très aérée est généralement sursaturée en oxygène (torrent), alors qu'une eau chargée en matières organiques dégradables par des micro-organismes est sous-saturée. En effet, la forte présence de matière organique, dans un plan d'eau par exemple, permet aux microorganismes de se développer tout en consommant de l'oxygène.

4-1-2-3-Demande biochimique en oxygène (DBO)

C'est la quantité d'oxygène consommée à 20 °C et à l'obscurité pendant un temps donné pour assurer par voie biologique l'oxydation des matières organiques (lipides, glucides, les détergents, les huiles minérales, les débris cellulosiques, etc.) Présentes dans l'eau. On utilise conventionnellement la DBO5, c'est-à-dire la quantité d'oxygène consommé après 5 jours. Cette quantité est mesurée en mg/l (Rejsek ,2002).Elle se résume à la réaction chimique suivante :



Selon (Hacene, 2016), la mesure de la DBO permet de suivre le processus d'épuration des eaux usées. Ainsi, dans les eaux usées domestiques, la DBO varie en moyenne entre 200 et 300 mg / l, une eau épurée doit avoir une DBO dix fois inférieure (entre 20 et 40 mg/L).

Une autre mesure appelée carbone organique total (COT) : critère de pollution organique mesurant tous les composés organiques fixés ou volatils présents dans les eaux résiduaires : cellulose, huiles, sucres, etc. Les éléments carbonés sont oxydés à 950°C en présence de catalyseurs. Le CO₂ qui se forme est dosé dans un analyseur infra rouge. Les résultats ainsi obtenus sont exprimés en mg de carbone par litre d'eau (Hocine, 2016).

4-1-2-4-Demande chimique en oxygène (DCO)

La pollution chimique concerne les hydrocarbures et dérivés, les phénols, les pesticides, les engrais, les nitrates et les métaux lourds, se sont en majorité des molécules synthétiques toxiques et peu biodégradables. Pour évaluer l'oxydation des polluants biologiques et chimiques biodégradables ou non, dans un milieu donné on fait appel à la demande chimique en oxygène (DCO) : c'est la quantité d'oxygène nécessaire pour convertir en CO₂ la matière organique contenue dans les eaux usées (Hocine, 2016).

La mesure de la DCO se fait à l'aide d'un réactif oxydant, le bichromate de potassium, en milieu sulfurique pendant deux heures à ébullition, les résultats ainsi obtenus sont exprimés en mg/l d'O₂ (Frank, 2002).

La DBO ; la COT ; et la DCO sont différentes, mais complémentaires, pour donner les informations sur le carbone présent dans l'eau, il convient de noter que ces trois paramètres qui visent le carbone, ne permettent pas l'élimination des sels minéraux, les phosphates et les sulfates. Or, l'élimination de ces éléments, ainsi que la matière organique et des pathogènes est déterminante dans le traitement des eaux (Hocine, 2016).

La valeur du rapport DCO / DBO indique le coefficient de biodégradabilité d'un effluent, il permet aussi de définir l'origine de l'eau usée, Généralement la valeur de la DCO est :

DCO = 1.5 à 2 fois DBO pour les eaux urbaines ;

DCO = 1 à 10 fois DBO pour tout l'ensemble des eaux résiduaires ;

DCO > 2.5 fois DBO pour les eaux usées industrielles.

La relation empirique de la matière organique (MO) en fonction de la DBO₅ et la DCO est donnée par l'équation suivante : $MO = (2 DBO_5 + DCO) / 3$ (Metahri, 2012).

4-1-3-La biodégradabilité

La biodégradabilité traduit l'aptitude d'un effluent à être décomposé ou oxydé par les micro-organismes qui interviennent dans le processus d'épuration biologique des eaux. La biodégradabilité est exprimée par un coefficient K, tel que, $K = DCO / DBO_5$:

- Si $k < 1,5$: cela signifie que les matières oxydables sont constituées en grande partie de matières fortement biodégradables ;
- Si $1,5 < K < 2,5$: cela signifie que les matières oxydables sont moyennement biodégradables.
- Si $2,5 < K < 3$: les matières oxydables sont peu biodégradables.
- Si $K > 3$: les matières oxydables sont non biodégradables.

Selon, Metahri(2012).Un coefficient K très élevé traduit la présence dans l'eau d'éléments inhibiteur de la croissance bactérienne, tels que, les sels métalliques, les détergents, les phénols, les hydrocarbures ... etc.

La valeur du coefficient K détermine le choix de la filière de traitement à adopter, si l'effluent est biodégradable on applique un traitement biologique, sinon on applique un traitement physico-chimique.

4-1-4-Paramètres organoleptique

4-1-4-1-Turbidité

La turbidité représente l'opacité d'un milieu trouble. C'est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes. Elle est causée, dans les eaux, par la présence des matières en suspension (MES) fines, comme les argiles, les grains de silice et les micro-organismes. Une faible part de la turbidité peut être également à la présence des matières colloïdales d'origine organiques ou minérale (Rejsek, 2002).

Les unités utilisées pour exprimer la turbidité proviennent de la normalisation ASTM (American Society for testing Material): unité FTU (Formazing Turbidity Unit) (Rejsek, 2002).

4-1-4-2-Couleur

La couleur de l'eau peut être causée par la présence des minéraux naturels comme le fer et manganèse mais aussi à la présence de plancton, d'herbage et de composés organiques comme les substances humiques et les polyphénols (lignines). Les effluents industriels et des eaux de ruissellement des terres agricoles peuvent aussi teinter l'eau. L'eau usée domestique est de couleur grisâtre, elle peut être dans certains cas noir, à cause de la décomposition partielle. Par contre l'eau usée industrielle peut être incolore, comme elle peut avoir plusieurs couleurs à cause du déversement de colorants industriels (Rejsek, 2002).

4-1-4-3-Odeur

Les eaux usées chargées en matières organiques particulières et dissoutes, en composés azotés et phosphorés, peuvent dégager des odeurs désagréables, les principaux composés odorants rencontrés dans les stations d'épuration font partie essentiellement des familles des produits soufrés et azotés, ainsi que des composés organiques tels les acides gras volatil (Rejsek, 2002).

4-2-Characterisation quantitative des eaux usées

4-2-1-Débit

En Hydrologie, le débit d'un cours d'eau est le volume d'eau traversant une section transversale de l'écoulement par unité de temps. L'estimation du débit journalier d'eaux usées qui arrive à la station d'épuration repose sur la mesure du débit dans un canal de comptage situé à l'entrée et à la sortie de la station (Rejsek, 2002).

Des variations de débit peuvent se produire au cours de la journée ou même au cours de la semaine .Elles ont plusieurs origines :

1. La consommation d'eau potable cyclique (matin, midi, soir) ;
2. Les variations dans le fonctionnement d'établissement publics (écoles) ou industriels ;
3. L'incidence des eaux pluviales (Rejsek, 2002).

5-Paramètres biologiques

La contamination microbiologique est une forme de pollution de l'eau engendrée par la présence de microorganismes comprennent, par ordre de taille croissant, des virus, des bactéries, des parasites, et les helminthes, ils proviennent dans leur immense majorité des matières fécales ; on distingue alors la flore entérique normale et les micro-organismes pathogènes. On ne parlera ici que de ces derniers. Ils ont des effets divers sur la santé : ils sont la cause d'infections bénignes ou de maladies mortelles.

5-1-virus

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires de très petite taille, qui ne peuvent se multiplier que dans leur cellule hôte. Les virus ne sont pas naturellement présents dans l'intestin contrairement aux bactéries. L'infection se produit par l'ingestion dans la majorité des cas, où elle peut aussi avoir lieu par inhalation.

Leur concentration dans les eaux usées urbaines comprise entre 10^3 et 10^4 particules par litre. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées sont difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel. Il semble que les virus soient plus résistants dans l'environnement que les bactéries. Du fait qu'au cours de processus de traitement des eaux usées les virus sont plus difficiles à éliminer que les bactéries classiques couramment utilisées comme indicateurs de la qualité bactériologique des eaux.

Les virus responsable d'infection hydrique sont excrétés dans les selles d'individus infectés .Il a été démontré que plus de 130 virus pathogènes, que l'on peut dénommer virus entériques, peuvent être éliminés dans les fèces humains (Bouziane, 2000).

Dans le tableau I sont recensés la plupart des virus que l'on peut trouver dans les eaux usées, avec les symptômes de la maladie qui leur est associée.

Tableau I : Principaux virus responsable de pathologie liée à l’ingestion de l’eau contaminée (Rejsek, 2002).

Famille	Genre	Espèce	Maladies provoquées	Contamination
Picornaviridae	Entérovirus	Virus de poliomyélite	Poliomyélite, paralysie, méningite.	Ingestion
		Virus Coxsackies A	Méningite, infection respiratoire	Ingestion
		Virus Coxsackies B	Myocardite, éruption cutanée	Ingestion
		Echovirus	Méningite, infection respiratoire	Ingestion
		Virus de l’hépatite	Hépatite infectieuse	Ingestion
Reoviridae	Rotavirus	Rotavirus humains	Gastro-entérite	Ingestion
Calciviridae	Calcivirus	Calcivirus humains	Gastro-entérite	Ingestion
		Virus de Norwalk	Gastro-entérite	Ingestion
		Virus de l’hépatite E	Gastro-entérite	Ingestion
		Astrovirus	Hépatite infectieuse	Ingestion
Adenoviridae	Mastadénovirus	Adénovirus	Gastro-entérite, Pharyngite, Conjonctivite	Ingestion et contacte
Coronaviridae	Coronavirus	Coronavirus humains	Entérocolite	Ingestion
		Coronavirus like	Gastro-entérite	Ingestion
Papoviridae	Papillomavirus	Papillomavirus humains	Verrues	Contacte

5-2- bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires simples et sans noyau, doués de métabolisme et capable de croître et se diviser aux dépens de substance nutritives, Leur taille est comprise entre 0,1 et 10 μm . La quantité moyenne de bactéries dans les fèces est d'environ 10¹² bactéries/g.

La majorité de ces bactéries ne sont pas pathogènes. Par ailleurs, les bactéries pathogènes vont se trouver en compétition avec les bactéries autochtones, ce qui limitera leur développement. Les eaux usées contiennent en moyenne 10⁷ à 10⁸ bactéries/l. La concentration en bactéries pathogènes est de l'ordre de 10⁴/l. Le nombre de germes peut être multiplié par 1 000 dans les eaux de rivières après un rejet urbain ; ainsi, le nombre de coliformes fécaux passe de 10³ à 10⁶ par millilitre, après la zone de rejet d'une station d'épuration (Metahri, 2012).

Les eaux usées urbaines contiennent environ 10⁶ à 10⁷ bactéries/100 ml dont 10⁵ proteus et entérobactéries, 10³ à 10⁴ streptocoques et 10² à 10³ *Clostridium*. Parmi les plus communément rencontrées, on trouve les salmonelles dont on connaît plusieurs centaines de sérotype différents, dont ceux responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux. Des germes témoins de contamination fécale sont communément utilisés pour contrôler la qualité relative d'une eau ce sont les coliformes thermo tolérants (Hocine, 2016).

Dans le tableau II sont présentées les principales bactéries pathogènes rencontrées dans les infections bactériennes d'origine hydrique (Rejsek, 2002).

Tableau II : Principales bactéries responsable d'infections d'origine hydrique (Rejsek, 2002).

Bactéries	Maladies induites	Mode de transmission
<i>Aeromonas</i>	Gastro-entérite syndrome cholériforme	
<i>Clostridium perfringens</i>	Gastro-entérite	Contamination fécale peu spécifique
<i>Entérocooccus</i>		Contamination fécale
<i>Escherichia coli entérotoxiques et entéroinvasifs</i>	Gastro-entérite et autres maladies	Contamination fécale
<i>Compylobacter jejuni ou coli</i>	Gastro-entérite	
<i>Légionella pneumophila</i>	Pneumopathie, fièvre	
<i>Leptospira</i>	Leptospirose ictère- hémorragique	Maladie professionnelle
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infection cutanée, pus	
<i>Salmonella typhi et paratyphi A</i>	Fièvre typhoïde et paratyphoïdes	
<i>Salmonella (autres)</i>	Gastro-entérite	
<i>Shigella dysnteriae</i>	Dysenterie bacillaire	
<i>Shigella (autres)</i>	Gastro-entérite	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection cutanée	
<i>Vibrio</i>	Choléra, Gastro-entérite, infection cutanée	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastro-entérite	

5-3-Protozoaires

Son des organismes eucaryotes unicellulaires, sous forme de ciliés ou flagellés, vivent principalement dans l'eau ils sont parfois la source de maladie aigue ou chronique

Les protozoaires sont en nombre beaucoup moins élevé : de l'ordre de quelques centaines dans 100 millilitres, les espèces prédominant sont les flagellés.

La plupart des protozoaires pathogènes sont des organismes parasites, c'est-à-dire qu'ils se développent aux dépens de leur hôte. Certains protozoaire s'adaptent au cours de leur cycle de vie une forme de résistance, appelée kyste. Cette forme peut résister généralement aux procédés de traitements des eaux usées. On peut citer parmi ceux-ci *Entamoeba histolytica*, responsable de la dysenterie amibienne ou encore *Giardia lamblia*. (Voir tableau III)

5-4-Helminthes

Les helminthes sont des vers multicellulaires. Tout comme les protozoaires, ce sont majoritairement des organismes parasites. Peuvent notamment survivre plusieurs semaines voire plusieurs mois sur les sols ou les plantes cultivées. La concentration en œufs d'helminthes dans les eaux usées est de l'ordre de 10^1 à 10^3 œufs/l, sont considérés comme étant les agents biologiques les plus résistants aux agressions de l'environnement extra-intestinal. Toutefois, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) considère la présence de ces pathogènes, en particulier les nématodes intestinaux, comme la principale contrainte pour la réutilisation des eaux usées en agriculture (Bouziane, 2000).

Ce large spectre d'activité biologique, s'il présente par certains de ses aspects un danger potentiel pour l'hygiène, garanti par ailleurs un ensemencement permanent en germes utiles à l'épuration par biodégradation, il suffira à l'aide de techniques appropriées de favoriser le développement des germes utiles au détriment des autres.

Tableau III : Infections d'origine parasitaires transmises par l'eau (Rejsek, 2002).

Type d'organisme	Nom	Maladie	Type de contamination
Protozoaires	Amibe	Amibiase	Ingestion des kystes
Protozoaires	Cryptosporidium parvum	Gastro-entérite	Ingestion
Protozoaires	Giardia lamblia, intestinalis	Gastro-entérite	Ingestion des kystes
Protozoaires	Plasmodium	Paludisme	Piqûre d'anophèle
Protozoaires	Trypanosome	Maladie du sommeil	Piqûre par glossine
Helminthe	Anguillule	Anguillulose	Contact ou ingestion
Helminthe	Ankylostoma duodénale	Ankylostomosose	Contact
Helminthe	Fasciola hepatica	Fasciola hepatica	Ingestion
Helminthe	Schistosoma	Bilharziose	Contact
Helminthe	Filaires	Filariose	Ingestion

Chapitre II : Traitement des eaux usées

Introduction

La station d'épuration reste un moyen fondamental pour la protection des milieux naturels, de ce fait leur extension à l'échelle nationale est important cela dans l'unique but de la préservation des milieux récepteur de la pollution.

1- Présentation de l'Office National de l'Assainissement

L'Office National de l'Assainissement (**ONA**) est un établissement public national à caractère industriel et commercial (E.P.I.C), crée par le décret exécutif n° 01-102 du 21 avril 2001 ; qui est placé sous la tutelle du Ministère des Ressources en Eau (MRE).

L'ONA s'est vu attribuée le certificat ISO selon le référentiel ISO 14001 (relative à la protection de l'environnement) en décembre 2007.

Cette distinction à la fois nationale et africaine est une première dans le domaine de la gestion et de l'exploitation des systèmes d'assainissement.

Conformément à son engagement de généralisation de la démarche environnementale ; la direction générale de l'ONA a procédé à l'extension du périmètre d'application du S.M.E (Système management de l'environnement) vers de nouveaux sites.

2- Système d'assainissement EST de la ville de TIZI-OUZOU

2-1- Description et Situation géographique

Tizi-Ouzou est une ville du nord centre du pays, située à 120 km à l'est d'Alger et à 30 km des côtes méditerranéennes. Cette wilaya compte plus de 100 000 habitants.

Le système de management environnemental mis en place concerne le système d'assainissement TEST du chef-lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou, qui couvre un linéaire réseau unitaire de 7 Km, avec un taux de raccordement de 97%.

Le réseau en question débouche en gravitaire sur la station d'épuration des eaux usées domestiques de la ville. La station d'épuration Est de Tizi-Ouzou est un établissement classé ; d'une capacité de 120 000 équivalents habitants ; qui a été conçue pour épurer les eaux usées urbaines afin de protéger le milieu récepteur, en l'occurrence l'Oued Sebaou.

Elle est située sur la rive gauche d'Oued Sebaou à 200 m en amont du Pont de Bougie sur le chemin de Wilaya n° 124 reliant Tizi-Ouzou à Bejaïa.

La STEP est donc implantée à la sortie Est de la ville de Tizi-Ouzou, en dehors du tissu urbain. D'une superficie de 35591 m² dont 14714 m² bâtis.

Chapitre II : Traitement des eaux usées

L'Office est chargée de la protection et de sauvegarde des ressources et de l'environnement hydrique ainsi qu'à la lutte contre la pollution hydrique et contribue aussi à la conservation de la santé publique.



Figure1 : vue globale de la station d'épuration de pont de bougie Tizi-Ouzou



Figure 2 : Structure de la STEP de Tizi-Ouzou (pont de bougie)

Chapitre II : Traitement des eaux usées

3- Les procédés d'épuration des eaux usées

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes, altérées par les activités industriels, agricoles, domestiques ou autres. Elles sont considérées comme polluées et doivent être donc traitées avant toute réutilisation ou injection dans les milieux naturels récepteurs. Dans une STEP l'épuration des eaux passent par différentes étapes ; ci-joint :

- Les prétraitements ;
- Traitements physicochimiques ;
- Traitements biologiques ;
- Traitements d'affinages.

Pour obtenir une qualité d'eau traitée répondant aux normes de rejet, les effluents subissent les traitements suivants : (voir figure 3)

Chapitre II : Traitement des eaux usées

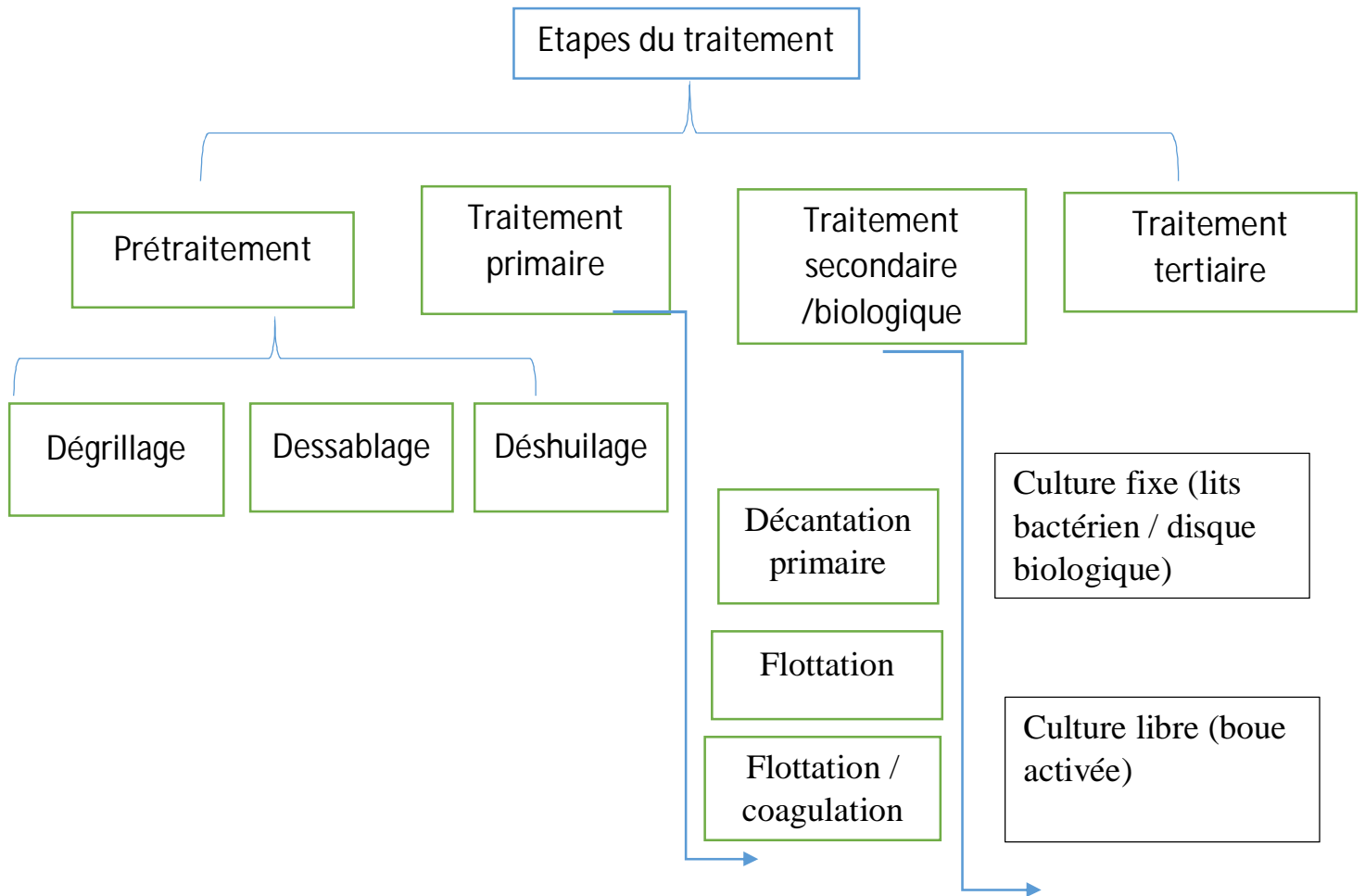


Figure 3 : Schéma représentant les étapes de traitement des eaux usées

3-1-Prétraitement

Les prétraitements sont indispensables au bon fonctionnement de la station. il s'agit d'une série d'opérations qui ont pour but d'éliminer la fraction la plus grossière des particules entraînées, et de retirer de l'effluent des matières grossières qui sont susceptibles de gêner les traitements ultérieurs et endommager les équipements (Vilaginès, 2003).

Ils sont appelés :

- A des procédés mécaniques, comme des grilles ou des tamis, pour éliminer des grosses particules transportées par les eaux ;
- A des procédés physiques, comme des phénomènes de décantation pour éliminer les sables, ou de flottation pour éliminer les graisses (matière grasseuse) (Franck, 2002).

Ces procédés sont détaillés comme suite :

3-1-1-Dégrillage

Ce procédé vise à débarrasser l'effluent des matières les plus volumineuses, en procédant à l'utilisation des grilles qui retiennent une quantité de déchet, celle-ci varie en fonction de l'écartement des barreaux du grillage, de ce fait on distingue un dégrillage grossier et fin qui s'établit systématiquement à l'entrée de la station d'épuration est cela afin de permettre un bon déroulement des traitements suivants ainsi que d'assurer la protection des canalisations. (Chocat, 1997). Les déchets sont réorientés vers la benne de déchets et l'eau est redirigé vers le dessablier.



Figure 4 : Etape de dégrillage.

Chapitre II : Traitement des eaux usées

3-1-2-Dessablage

La technique de dessablage consiste à faire circuler l'eau dans une chambre de tranquillisation ou il est tenté d'obtenir une vitesse constante afin de permettre la décantation des éléments amenés par l'effluent tel que les graviers et les sables au fond du dessableur de façon à éviter leur dépôts dans les canaux et conduites ainsi protéger le pompes et autres appareils contre le colmatage et éviter de surcharger les stades de traitement , ceci en transférant le sable et gravier vers la benne de sable et l'eau est aspirée et redirigée vers le bassin de déshuilage afin de poursuivre leur traitement d'épuration (Vilaginès ,2003).

3-1-3-Déshuilage et dégraissage

L'objectif de ce procédé est d'éliminer les huiles et les graisses non dissoute contenues dans les eaux usées, qui peuvent gêner l'efficacité du traitement biologique qui intervient ensuite. Ce processus est principalement fondé sur le fait que les huiles et les graisses sont plus légères que l'eau ce qui provoque leurs remontés sous forme de mousse en surfaces de l'eau ou il est possible de les prélever à l'aide d'un racleur motorisé (Metahri, 2012).



Figure 5 : Etape de déshuilage et dessablage

A : Bassin de dessablage et déshuilage ; **B** : Vis d'Archimède ; **C** : Collecteur de mousses.

Chapitre II : Traitement des eaux usées

Il s'agit le plus souvent d'une décantation qui permet d'éliminer les matières en suspension décantables en deux heures. L'utilisation de réactifs chimiques pour éliminer des particules plus fines constitue un traitement physico-chimique.

Ce traitement permet donc essentiellement l'élimination de la pollution particulière et d'une partie de pollution organique sous forme de particulaire.

Cependant, cette élimination est insuffisante pour répondre aux nouvelles normes de rejets (arrêté du 22 décembre 1994 et il faudra compléter ce traitement par un traitement secondaire. Il faut noter que ces traitements physico-chimiques éliminent parfaitement le phosphore et satisfont en général à la réglementation concernant le rejet du phosphore (Rejsek ,2002).

3-2-Décantation primaire (sans coagulant)

Le processus principal du traitement primaire est basé sur le phénomène de décantation qui est provoqué par les forces de gravitations : s'agit d'une séparation physique (liquide-solide), dont l'objectif est de retenir le maximum de matières en suspension présentes dans les eaux usées. Ces résidus sont concentrés au fond du bassin de décantation sous forme de boues primaires, particulièrement fermentescibles et générant donc rapidement des odeurs noséobandes (Koller, 2004).

3-2-1-Coagulation –Floculation

Ce procédé est préconisé en vue de mieux agglomérer et séparer les matières non décantables et matières décantables cela en ajoutant des réactif de coagulation tel que le sel de fer et d'alumine, charbon actif ainsi que la chaux afin de les alourdir et favoriser leur séparation par décantation.

En résumé les coagulants améliorent les performances d'abattement de la pollution comparé à ce qui est obtenu par une simple décantation sommaire traditionnelle (Vilaginès, 2003).

3-2-2-Flottation

La flottation est un procédé de séparation des matières en suspension dans l'eau, utilisant la Densité apparente plus faible de ces matières et conduisant à leur rassemblement et à leur Collecte à la surface libre (Vilagineès, 2003).

Chapitre II : Traitement des eaux usées

3-3-Traitement secondaire ou procédé d'épuration biologique

Ce traitement reproduit le phénomène d'autoépuration existant dans la nature. Cela est réalisé par l'exploitation du phénomène de dégradation mis en œuvre par des cultures bactériennes spécifiques (aérobie ou anaérobie) présentes dans l'eau qui pour croître, vont assimiler la pollution organique via les enzymes (catalyseurs) tout en générant de l'énergie nécessaire à leur reproduction et leur croissance. On retrouve deux groupes de procédés :

3-3-1- Les procédés à culture libre (boues activées) ou la biomasse est en suspension dans l'eau à traiter

Dans ce procédé, les effluents biodégradables sont mis en contact pendant un temps suffisamment long avec des amas biologiques floculés maintenus en suspension dans des bassins parfaitement mélangés et oxygénés nommés bassin d'aération. Dans celui-ci les bactéries synthétisent un gel qui permet leur agglomération de piéger toute les pollutions présentes dans l'eau formant ainsi dans le fond des bassins des floccs biologiques (séparées de l'eau épurée par décantation) riche en microorganismes (bactéries et parasites) et matières organiques. Cette phase de traitement biologique permet non seulement l'élimination de la matière organique dissoute mais aussi des composés azotés et phosphorés (Franck ,2002 ; Koller ,2004).



Figure 6: Représente les deux Bassins d'aération (biologique)

Chapitre II : Traitement des eaux usées

3-3-2- Les procédés à culture fixée ou la biomasse épuratrice est fixée sur des supports

L'eau à traiter coule au contact de ces supports. Les microorganismes fixent donc la pollution organique et la dégradent (Franck ,2002).

3-3-2-1-Lits bactériens

Le principe de fonctionnement d'un lit bactérien consiste à faire ruisseler les eaux usées, préalablement décantées sur une masse de matériaux poreux qui sert de support aux micro-organismes (bactéries) épurateurs (Bernard, 1991).

3-3-2-2-Disques biologiques

Cette technique utilise des disques biologiques tournants sur lequel les micro-organismes s'adsorbent et se développent en forment un film biologique épurateur. Ces disques étant semi-immergés en mouvement permettent l'oxygénation de la biomasse fixée (Bernard, 1991).

3-4- Traitements tertiaires

Ces traitements sont à la fois physico-chimiques et biologiques qui sont des traitements complémentaire permettant d'obtenir une qualité d'effluent traité supérieure à celle obtenue par procédés biologique classiques .L'objectif de ces procédés est l'élimination des composés minéraux azotés et phosphorés et de la matière organique qui peuvent être encore présentes après le traitement secondaire (Hocine, 2016).

Cela est nécessaire pour certains rejets d'eaux traitées qui sont soumis à des réglementations spécifiques concernant l'élimination de l'azote, du phosphore ou des germes pathogènes.

L'élimination de l'azote concerne les traitements de nitrification et dénitrification qui ne peuvent être assurés que par voie biologique. Dans un premier temps, l'azote réduit est oxydé en nitrates grâce aux bactéries par le processus de nitrification puis, dans un deuxième temps, les nitrates formés sont transformés en gaz di azote par un processus biologique de dénitrification.

L'élimination du phosphore concerne les traitements de déphosphatation, soit physico-chimique, soit biologique. La déphosphatation biologique, de développement plus récent, est basée sur la succession de phases anaérobies et aérobies au cours du traitement biologique mais son rendement est en général moins bon que celui de la déphosphatation physico-chimique.

Chapitre II : Traitement des eaux usées

Un abaissement de la teneur en germes, parfois exigé pour les rejets dans des zones spécifiques (zone de baignade), sera réalisé par des traitements de désinfection chimiques (chlorure et dérivés) ou physique (irradiation UV) (Franck, 2002).

4-Fonctionnement de la station d'épuration pont de bougie de Tizi Ouzou

La station d'épuration de pont de bougie adopte le système traditionnel (de boues activées) qui consiste à établir des prétraitements des eaux usées, ensuite effectué directement des traitements biologiques dans des bassins de boues activée (bassin d'aération) sans passés par une décantation primaire.

Les boues générées sont entraînées par l'effluent vers le clarificateur qui représente un décanteur secondaire de forme conique ou elles décantent au fond du bassin, de ce fait on assiste à la séparation des eaux épurées des boues. Ainsi l'eau est évacuée vers l'oued Sebaou alors que les boues prennent deux destinations différentes, une partie (boues de retour) est recerclée en tête de la station pour ensemencher le bassin biologique et le reste des boues sont réorientées vers le bassin de stabilisation aérobie puis vers l'épaississeur ou elles subissent une digestion anaérobie puis elles sont sécher (lits de séchage) ces dernières peuvent être utilisées en agriculture afin de fertiliser les sols.

Pendant les périodes pluviales la station d'épuration , rencontre des disfonctionnement lié à la quantité supérieur d'eau de pluie qui s'ajoute au bassin de ce fait la station déverse l'excès en eau usées directement vers l'oued de Sebaou afin de maintenir un bon fonctionnement de la station.(voir figure 8) .

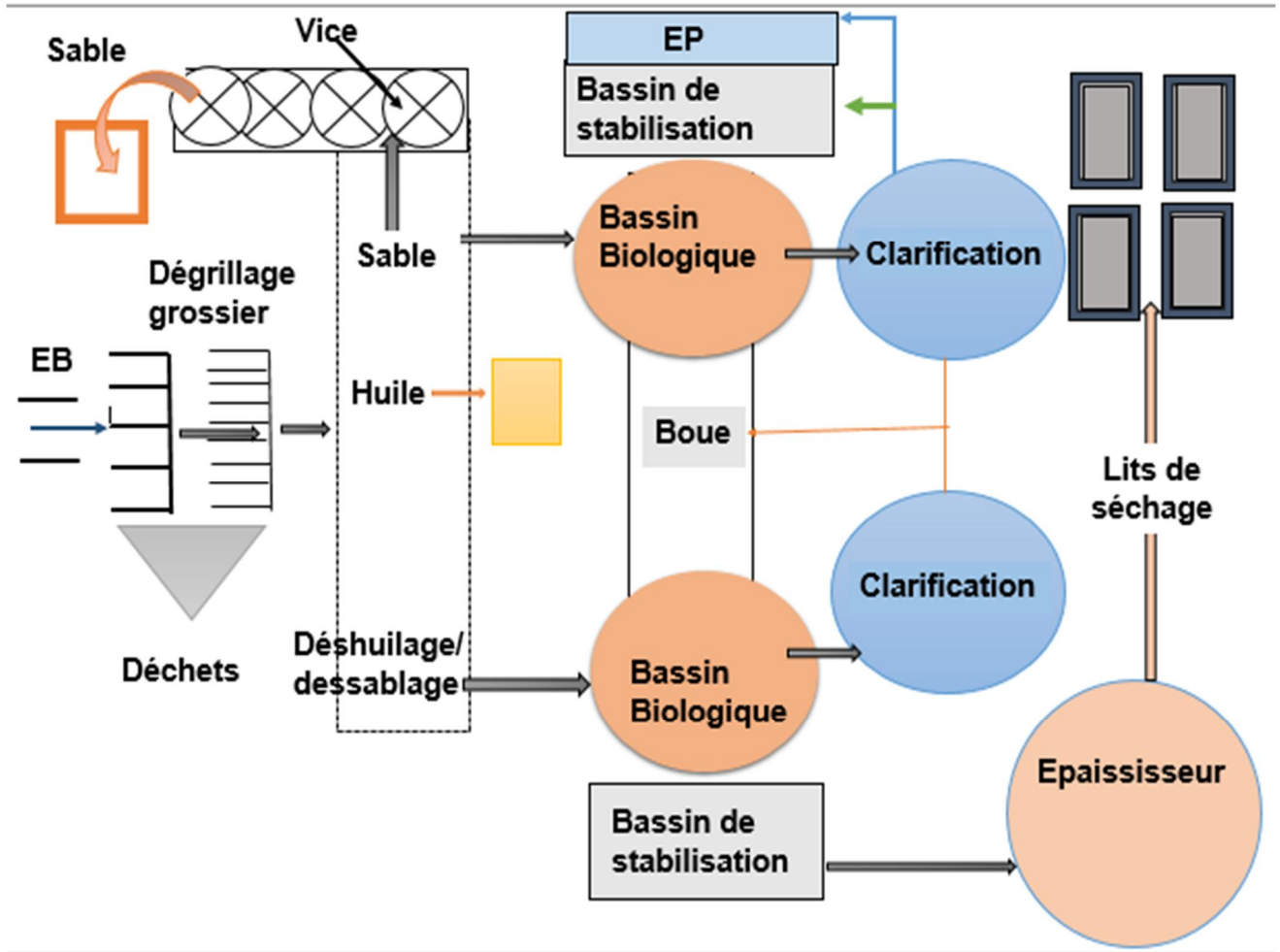
Chapitre II : Traitement des eaux usées



Figure 7 : Représente les étapes d'épuration des eaux usées.

A : Soufflante du by pass ; B : Clarificateur ; C : Epaisseur ; D : Lits de séchage ; E : Boues récupérées.

Chapitre II : Traitement des eaux usées



- Eau.
- Boues de retour.
- Boues en excès.
- Les boues stabilisées.

Figure 8 : Schéma représentatif du fonctionnement global de l'ONA de Tizi Ouzou.

Introduction

Les eaux usées domestiques étaient jusqu'à une époque récente uniquement traitée comme une manière inutile et nuisible ; à rejeter après des traitements destinés à minimiser son impact sur le milieu naturel.

Cependant, depuis quelque décennie, compte tenu de la raréfaction des ressources en eau dites conventionnelles (réseaux publics de distribution, rivières et nappes d'eau souterraines), et de l'augmentation de leur coût, la réutilisation des eaux épurées pour l'irrigation connaît un fort développement, mais cela doit être fait selon des normes afin de protéger la santé humaine ainsi que l'environnement. (Tiercelin, 2008).

Etant donné que la gestion durable de l'eau est l'un des principaux axes du développement durable, dans la mesure où l'eau doit répondre aux besoins des générations actuelles et satisfaire les générations futures mais cela demeure irréalisable vu la diminution des apports en eau ainsi que le secteur agricole qui demeure le plus gros consommateur des ressources hydriques de ce fait l'Algérie vise à réutiliser les eaux usées épurées dans le secteur agricole afin de produire des quantités complémentaires en eau pour différents usages vu que l'eau des pluies ainsi que celle des barrages et des forages ne suffiront plus pour la satisfaction des besoins (Hannachi et al., 2014)

Pour le moment, l'Algérie, qui dispose d'un volume d'eau traité de 560 000 mètres cubes, consacre 65% de ses ressources hydriques au secteur de l'agriculture (Ministère des ressources en eau, 2012), cela représente une option attrayante, en particulier dans les zones arides et semi-arides, car elle représente une source d'eau et d'engrais additionnels renouvelables et fiables (FAO, 2003).

Cependant, un plan d'action entre ONA et ONID (Office national d'irrigation et de drainage) est en cours d'étude, pour définir les possibilités réelles d'une éventuelle réutilisation des eaux usées épurées des stations d'épurations exploitées par l'ONA pour l'irrigation des grands périmètres d'irrigation (GPI) gérés par l'ONID au niveau des cinq (05) bassins hydrographiques à l'échelle nationale (MRE, 2012).

Toutefois, en raison de la nature variable de la composition de cette eau (sa charge en constituants minéraux, organiques et biologiques); sa réutilisation devrait être gérée soigneusement, surveillée et contrôlée, afin de prévenir les risques et menaces potentiels sur les usagers, le sol, l'eau et les cultures irriguées avec elle, ainsi que sur l'environnement dans son ensemble. Pour cela un projet d'élaboration de normes algériennes et d'un guide technique pour les bonnes pratiques de la réutilisation des eaux usées pour des fins agricoles est en cours

d'approbation par l'Institut Algérien de Normalisation (IANOR). La réutilisation des eaux usées sollicite une coordination étroite entre les différentes structures impliquées dans les opérations de réutilisation à tous les niveaux (MRE, 2012). (Hannachi et *al.*, 2014)

1- Critères de qualité des eaux épurées

Suivant le décret exécutif n°07-149 publié dans le journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire fixant les paramètres microbiologiques et physico-chimique, et les réglementation concernant les types de cultures autorisée pour l'irrigation qu'on peut irriguée avec cette eau qui doivent impérativement être respecter en vue d'une réutilisation sans risque des eaux traitées en agriculture . Du 2012 ci-joint :

- **Paramètres microbiologiques**

Tableau IV: Spécifications microbiologiques des eaux usées épurées à des fins d'irrigation (Journal officiel de la république algérienne, 2012).

Groupes de cultures	Paramètres microbiologiques	
	Coliformes fécaux (CFU/100ml) (moyenne géométrique)	Nématodes intestinaux (œufs/l) (moyenne arithmétique)
Irrigation non restrictive. Cultures de produits pouvant être consommés crus.	<100	absence
Légumes qui ne sont consommés que cuits. Légumes destinés à la conserverie ou à la transformation non alimentaire.	<250	<0,1
Arbres fruitiers (1). Culture et arbustes fourragers (2) Cultures céréalières. Cultures industrielles (3) Arbres forestiers. Plantes florales et omentales. (4)	Seuil recommandé <1000	<1
Culture du groupe précédent (CFU/100ml) utilisant l'irrigation localisée (5) (6)	Pas de norme recommandée	Pas de norme recommandée

En respectant ces normes l'eau est susceptible d'être utilisé mais selon les conditions c'est de sous :

- (1) L'irrigation doit s'arrêter deux semaines avant la cueillette. Aucun fruit tombé ne doit être ramassé sur le sol. L'irrigation par aspersion est à éviter.
- (2) Le pâturage direct est interdit et il est recommandé de cesser l'irrigation au moins une semaine avant la coupe.
- (3) Pour les cultures industrielles et arbres forestiers, des paramètres plus permissifs peuvent être adoptés.
- (4) Une directive plus stricte (<200 coliformes fécaux par 100 ml) est justifiée pour l'irrigation des parcs et des espaces verts avec lesquels le public peut avoir un contact direct, comme les pelouses d'hôtels.
- (5) Exige une technique d'irrigation limitant le mouillage des fruits et légumes.
- (6) A condition que les ouvriers agricoles et la population alentour maîtrisent la gestion de l'irrigation localisée et respectent les règles d'hygiène exigées. Aucune population alentour.

- **Paramètres physico-chimiques**

Tableau V: Spécifications physico-chimiques des eaux usées épurées à des fins d'irrigation (Journal officiel de la République algérienne, 2012).

	Paramètres	Unité	CMA
Physiques	PH		$6.5 \leq \text{pH} \leq 8.5$
	MES	mg/l	30
	CE	ds/m	3-6
Chimiques	DBO5	mg/l	30
	DCO	mg/l	90
	Chlorure	mg/l	10
	Azote	mg/l	30
	Bicarbonate	mg/l	8.5

CMA : concentration minimal admissible

- **Liste des cultures autorisées pour la réutilisation de l'eau traité en agriculture**

Une autre réglementation a été mise en œuvre, c'est l'arrête interministériel du 8 Safar 1433 correspondant au 2 janvier 2012 fixant la liste des cultures pouvant être irriguées avec des eaux usées épurées. Ce texte est promulgué par les ministres chargés des ressources en eau, de l'agriculture et de la santé. Les parcelles destinées à être irriguées avec des eaux usées épurées ne doivent porter aucune culture, autre que celles figurant sur la liste indiquée.

Tableau VI : La liste des cultures pouvant être irriguées avec des eaux usées épurées.

Groupes de cultures pouvant être irriguées avec des eaux usées épurées	Liste des cultures
Arbres fruitiers (1)	Dattiers, vigne, pomme, pêche, poire, abricot, nèfle, cerise, prune, nectarine, grenade, figue, rhubarbe, arachides, noix, olive
Agrumes	Pamplemousse, citron, orange, mandarine, tangerine, lime, clémentine.
Cultures fourragères (2)	Bersim, maïs, sorgho fourragers, vesce et luzerne.
Culture industrielles	Tomate industrielle, haricot à rames, petit pois à rames, betterave sucrière, coton, tabac, lin.
Cultures céréalières	Blé, orge, triticales et avoine.
Cultures de production de semences	Pomme de terre, haricot et petit pois.
Arbustes fourragers	Acacia et atriplex.
Plantes florales à sécher ou à usage industriel	Rosier, iris, jasmin, marjolaine et romarin.

Selon le journal officiel de la République Algérienne :

- L'irrigation avec des eaux usées épurées est permise à condition que l'on cesse l'irrigation au moins deux semaines avant la récolte. Les fruits tombés au sol ne sont pas ramassés et sont à détruire.
- Le pâturage direct dans les parcelles irriguées par les eaux usées épurées est strictement interdit et, ce afin de prévenir toute contamination du cheptel et par conséquent des consommateurs.

2- Les résidus médicamenteux dans l'eau épurée destiné à l'irrigation

Les eaux usées étant très chargés de produits nuisibles et toxiques qu'après traitements ces dernières se purifient à un taux variable ou certaines substances échappent aux traitements tel que les médicaments qui subsistent dans les eaux épurées.

Les rejets des résidus médicamenteux se produisent à toutes les étapes du cycle de vie des médicaments, de leur production industrielle à leur consommation. Les médicaments consommés sont rejetés sous forme de métabolites urinaires ou fécaux dans les eaux usées. Ils sont aussi parfois directement jetés avant d'être consommés dans les toilettes ou dans les poubelles et ainsi rejoignent l'environnement.

Cette émergence de la surconsommation de médicaments engendre une pollution de l'environnement ainsi qu'une contamination des chaînes trophiques que l'on peut imaginer. Quelques études publiées outre-Atlantique ont mis en évidence la présence en quantité non négligeable de certaines molécules médicamenteuses dans l'environnement : antibiotiques, bêta-bloquant, hormones stéroïdiennes, anti-inflammatoire, etc. Celle-ci étant considérée comme indésirable et doit être réduite à un minimum dans la mesure du possible (Straub, 2012).

L'emploi intensif des antibiotiques, tant en médecine humaine que vétérinaire, mais aussi pour des usages phytosanitaires, est directement lié à l'augmentation des résistances et à la perte d'intérêt d'un grand nombre de molécules

Nous sommes au temps où une utilisation plus raisonnable de ces molécules est absolument nécessaire, pour cela, la connaissance des antibiotiques, de leur mode d'action, de leur spectre d'activité, des modes de résistances est un préalable à la bonne utilisation de ces molécules (Gaudy, 2005).

Nous présenterons dans ce chapitre les modes d'action des principales familles d'antibiotiques et les diverses stratégies développées par les bactéries pour leur résister.

3-Définition des antibiotiques

Le mot antibiotique fut créé en 1889 par Paul Vuillemin qui proposa le terme Antibiotique pour les micro-organismes qui provoquent l'antibiose (Courvalin *et al.*, 2016).

Un Antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organisme possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. L'emploi maintenant dans un spectre plus large qui inclut toute substance synthétique ou semi-synthétique dotée de ces propriétés. (Singleton, 2005 ; Courvalin *et al.*, 2016).

Aucun antibiotique n'est efficace contre toutes les bactéries. Certains agissent contre un petit nombre d'espèces, tandis que d'autres sont actifs contre un large spectre d'organismes incluant aussi bien les bactéries Gram-positives que les Gram négatives (Singleton, 2005).

Selon Gaudy (2005) l'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. On peut dire que pour être actif un antibiotique doit :

- pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- ne pas être inactivé ;
- être capable de se lier à sa cible.

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types :

- Bactériostatique : s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance.
- Bactéricide : s'il y a mort de la bactérie.

4-Classification des antibiotiques

A partir de la découverte de la Pénicilline G, par Fleming en 1928, les découvertes de molécules nouvelles se sont succédées : Céphalosporine, Streptomycine, Tétracycline, chloramphénicol, etc.

Différentes classifications ont été proposées selon différents caractères (la nature chimique, le spectre d'action, origine et le mécanisme d'action, le site d'action)

Selon le site d'action, on distingue quatre catégories de molécules :

- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne ;
- Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines ;
- Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ;
- Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique
(Gaudy, 2005 ; Nauciel *et al.*, 2005).

4-1-Modes d'action des antibiotiques

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques des bactéries. Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre.

4-1-1-Les antibiotiques agissant sur la synthèse de la paroi bactérienne

Trois classes d'antibiotiques sont concernées : les β -lactamines, Glycopeptides et la fosfomycine.

4-1-1-1- β -lactamines

Les β -lactamines se fixent sur des protéines de la membrane cytoplasmique : les protéines liant les pénicillines : transpeptidase, carboxypeptidase et les transglycosylases. Sont en fait des enzymes impliquées dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane c'est-à-dire l'étape de polymérisation, Elles agissent en substrat suicide et bloquent le fonctionnement de ces enzymes, inhibant ainsi la formation du peptidoglycane (Nauciel *et al.*, 2005).

Les β -lactamines exercent un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance, en empêchant les bactéries de se multiplier l'arrêt de la multiplication est suivi d'une lyse bactérienne suite à la production de l'autolysine (Gaudy, 2005).

4-1-1-2-Glycopeptides

Les Glycopeptides se fixent sur la partie terminale D-ala-D-ala impliqué dans la phase de polymérisation de peptidoglycane. Cette fixation de type clé-serrure empêche le fonctionnement normal des transpeptidases et transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et secondairement la mort de la bactérie (Nauciel *et al.*, 2005).

4-1-1-3-Fosfomycine

La fosfomycine agit à une étape précoce, intracytoplasmique de la synthèse du peptidoglycane (Nauciel *et al.*, 2005).

Le passage à travers la membrane cytoplasmique se fait par transport actif. Une fois dans le cytoplasme, la fosfomycine se fixe sur une enzyme, la pyruvyltransférase, impliquée dans la formation d'un précurseur du peptidoglycane. Il y a arrêt de la synthèse de la paroi et mort de la bactérie (Gaudy, 2005).

4-1-2-Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber, par différents mécanismes l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries. Les antibiotiques de cette catégorie les plus importants en médecine sont les aminosides, les macrolides, les tétracyclines et la rifampicine (Nauciel *et al.*, 2005).

Toutes ces molécules doivent traverser le peptidoglycane et les diverses membranes pour arriver dans le cytoplasme et atteindre leur cible (Gaudy, 2005).

4-1-2-1-Aminosides (ou les aminoglycosides)

Les molécules d'aminoside, rentrent et se fixent sur l'acide ribonucléique (ARN) ribosomal 16S Constituant de la sous unité 30S du ribosome, il s'en suit une erreur de la traduction de l'ARN messager, donc une production de protéines anormales. L'incorporation de certaines de ces protéines dans la membrane cytoplasmique entraîne une altération membranaire.

Les actions combinées de blocage des synthèses de protéines et d'altération des membranes expliquent l'action bactéricide des aminosides (Gaudy, 2005).

4-1-2-2-Macrolides, lincosamides et streptogramines

Sont des antibiotiques de structures chimiques différentes mais dont le mode d'action et les spectres d'activité sont similaires : les macrolides, les lincosamides, et les streptogramines. Du fait de leur grande taille et leur hydrophobicité, ces molécules sont incapables de traverser la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Sont généralement considérés comme bactériostatiques. Ils agissent essentiellement sur les cocci Gram positif et sur les anaérobies.

Les macrolides et les lincosamides, se fixent sur la cible, l'ARN ribosomal 23S de la sous unité 50S du ribosome, cette fixation entraîne l'inhibition de l'élongation du peptide en formation (Nauciel *et al.*, 2005).

4-1-2-3-Tétracycline

Cette famille d'antibiotiques exerce une activité bactériostatique, en effet ces antibiotiques traversent la membrane externe des bactéries à Gram négatif soit par les pores, soit directement à travers la bicouche lipidique ; elle est suivie par le passage à travers le peptidoglycane, une fois dans le cytoplasme, les tétracyclines se fixent de façon irréversible sur la sous-unité 30S du ribosome, empêchant la fixation de nouveaux aminoacyl-ARNt. La synthèse protéique est donc interrompue (Gaudy, 2005).

4-1-2-4-Rifampicine

Ce sont des molécules très hydrophobes passe mal à travers la membrane externe des bactéries à Gram négatif. C'est ce qui explique sa faible activité sur ces bactéries. La molécule inhibe la synthèse protéique à une étape très précoce puisqu'il s'agit d'une inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messager. La rifampicine se fixe sur la sous unité de l'ARN polymérase et bloque son action (Gaudy, 2005).

4-1-3-Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

4-1-3-1-Quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides qui bloquent la réplication de l'ADN, avant d'atteindre leur cible, elles traversent les diverses structures membranaires de manière passive.

Elles se concentrent dans le cytoplasme où elles se lient à une topo-isomérase ou l'ADN gyrase : ce sont des enzymes qui modifient la topologie de l'ADN bactérien au cours du cycle de réplication du chromosome bactérien en coupant l'ADN et en le recollant. La quinolone se fixe sur le complexe ADN-topo-isomérase en stabilisant les coupures d'ADN qui déclencheraient des phénomènes d'autolyse (Gaudy, 2005).

4-1-3-2-Imidazole

La diffusion intracellulaire est facilitée par leur faible poids moléculaire. Dans le cytoplasme, les nitro-imidazolés se lient à des protéines réductrices, entraînant la libération des dérivés très réactifs qui provoquent des coupures de l'ADN (Nauciel *et al.*, 2005).

Le métronidazole est la molécule la plus employée, exerce une activité bactéricide vis-à-vis des bactéries anaérobies et microaérophiles. Les bactéries à Gram négatif, autres que clostridium, sont généralement peu sensibles (Nauciel *et al.*, 2005).

4-1-3-3- Sulfamides et Triméthoprime

Les sulfamides et les Triméthoprime qui entrent en compétition avec les substrats naturels dans la synthèse des folates (substrats carbonés utilisés par les bactéries dans la synthèse des acides nucléiques).

Les sulfamides et les Triméthoprimes sont des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PAB) et du dihydrofolate (DHF), respectivement. Donc ce sont des inhibiteurs compétitifs des deux enzymes dihydroptéroate synthétase (DHPS) et dihydrofolate réductase (DHFR). Cela aboutit à la synthèse de l'ADN est diminuée, ce qui ralentit la croissance bactérienne (Gaudy, 2005).

4-1-4-Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique

Les polyamines, dont la colistine est le représentant le plus connu, sont capables de détruire la membrane cytoplasmique après avoir désorganisé la membrane externe des bactéries à Gram négatif compris *Pseudomonas aeruginosa*. Elle reste cependant inactive sur *Proteus*, *Providencia* et *Serratia*. (Nauciel *et al.*, 2005)

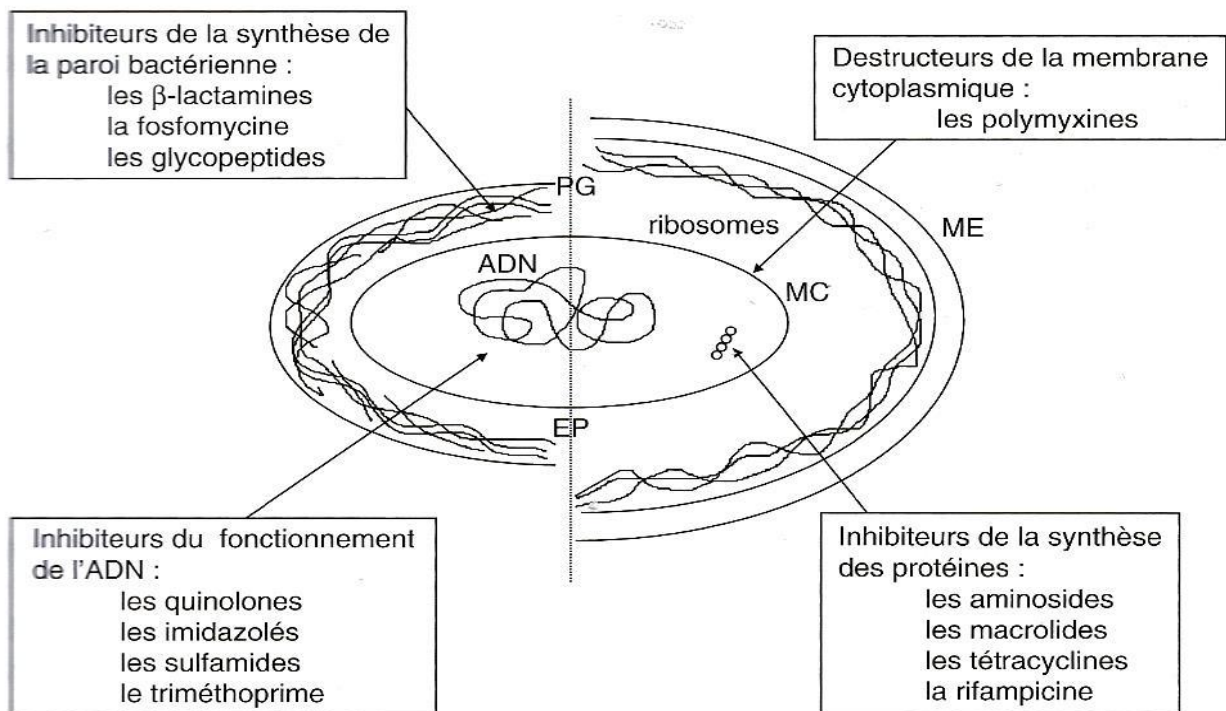


Figure 9 : Schéma d'une bactérie à Gram positif (gauche) et à Gram (droite) avec les mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques (Gaudy, 2005).

4-2-Résistance bactérienne

Après plus de 50 ans d'utilisation massive des antibiotiques, nous arriverons maintenant à une période plus délicate. Le monde bactérien est capable de s'adapter à une nouvelle situation écologique, y compris à la présence des antibiotiques (Gaudy, 2005).

Le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM) et le groupe de travail anti-infectieux (GTA) placé auprès de la commission d'autorisation de mise sur le marché (AMM) avaient établi une nouvelle classification des espèces microbiennes. Cette modification tenait compte de l'épidémiologie de la résistance des espèces bactérienne aux antibiotiques et décrivait mieux le potentiel d'activité en instaurant quatre classes : espèces sensible, espèces modérément sensible, espèces résistante (mouton *et al.*, 2002).

4-2-1-Définition

Dès 1961, un comité d'expert réunis par l'OMS avait donné une définition de la résistance bactérienne.

-Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Carle, 2009).

Cette définition bactériologique de la résistance doit être complétée par deux autres : une clinique et une génétique. La définition clinique associe la notion de succès ou d'échec clinique, en première approximation une bactérie résistante est une bactérie qui échappe au traitement, la définition génétique de résistance correspond à la présence de gènes de résistance au sein de la bactérie, détectés par des techniques de la biologie moléculaire.

Parfois la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique, et c'est ce que l'on appelle la résistance croisée.

Les bactéries sont dites multi-résistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques. Elles sont alors résistantes à plusieurs classes pharmacologiques d'antibiotiques (Gaudy, 2005).

La connaissance des mécanismes de résistance et leur compréhension doivent permettre une meilleure utilisation des antibiotiques, Le but est multiple :

- permettre en premier lieu d'être actif sur les bactéries impliquées dans les infections ;
- limiter l'émergence des souches résistantes ;
- éviter l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance.

4-2-2-1-Biochimie de la résistance

Les bactéries ont démontré leur capacité à accroître leur résistance aux antibiotiques par une multitude de mécanismes dont la nature et l'efficacité varient suivant les espèces et les produits. Les principales stratégies connues sont décrites ci-dessous et résumées dans le tableau 8.

4-2-2-1-1-Mécanismes de la résistance

a-Phénomènes d'imperméabilité

Il faut, pour qu'un antibiotique soit actif, qu'il pénètre jusqu'à sa cible. Cela suppose qu'il soit capable de traverser les divers obstacles mis par la bactérie. Ces obstacles varient selon la localisation de la cible et selon le type bactérien : Gram positif ou Gram négatif. On peut retenir :

- membrane externe ;
- membrane cytoplasmique ;
- espace péri plasmique ;
- le peptidoglycane.

a-1-Membrane externe

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles, des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques (Nauciel *et al.*, 2005).

Les canaux que forment les porines traversent la membrane externe ; c'est la voie de passage utilisées par les antibiotiques .Les antibiotiques doivent être suffisamment hydrophiles et de faible poids moléculaire pour traverser ces canaux .Les molécules hydrophobes telles la pénicilline G, les macrolides et les Glycopeptides ne peuvent traverser la membrane externe, c'est ce qui explique la résistance naturelle des bacilles à Gram négatif vis-à-vis de ces molécules (Courvalin, 2016).

Le même mécanisme est aussi mis en cause dans la résistance acquise. La résistance aux carbapénème chez *P. aeruginosa* offre l'exemple le plus typique. En effet, la pénétration des carbapénème chez le bacille pyocyanique s'effectue préférentiellement par une porine spécifique, OprD, dont la fonction naturelle est de faciliter la diffusion des acides aminés basiques et du gluconate .le défaut de synthèse de cette porine sous l'effet des mutations, est dans la très grande majorité des cas, à l'origine de la résistance des souches de *P. aeruginosa* à l'imipénème et au méropénème (Courvalin, 2016).

a-2-Membrane cytoplasmique

Les aminosides traversent la membrane cytoplasmique par un mécanisme de transport actif nécessitant de l'énergie. L'énergie provient de la chaîne respiratoire. Or, les bactéries anaérobies aéro-tolérantes comme les streptocoques en sont dépourvues, ce qui explique leurs résistances naturelles vis-à-vis des aminosides.

Il existe aussi de résistances acquise par modification de système de transport de la membrane cytoplasmique .C'est le cas des mutants résistants à la fosfomycine par mutation chromosomique portant sur les deux systèmes de transport : le système glycérophosphate (glpT) et /ou des hexoses phosphates (uhp) (Gaudy, 2005).

b-Résistance par efflux

Un processus assez répandu dans le monde vivant pour maintenir l'homéostasie cellulaire consiste à refouler de façon active les agents nocifs dans le milieu extérieur. Ces systèmes d'efflux encore appelés « pompes » ont été mis en évidence chez des souches d'*Escherichia coli* résistante à la tétracycline. Certains d'entre eux sont intrinsèque, d'autres apportés par des éléments génétique mobile (Gaudy, 2005).

L'antibiotique rentre dans la bactérie, mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par des protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie.

Ce système fonctionne avec une :

1. protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur ou « pompe »
2. protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion
3. protéine périplasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes

Ce système de résistance a été mis en évidence chez :

- *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des quinolones ;
- Les staphylocoques vis-à-vis des macrolides ;
- *P. aeruginosa* vis-à-vis des b-lactamines.

C-Défaut d'affinité

Après la pénétration cellulaire de l'antibiotique, il existe une étape de reconnaissance de la cible .C'est à ce niveau qu'intervient ce type de résistance .Il s'agit :

- Soit d'une résistance naturelle avec la mauvaise affinité de certains antibiotiques pour les cibles ;
- Soit d'une résistance acquise avec modification des cibles et perte d'affinité des antibiotiques pour ces cibles.

Les différentes molécules au sein d'une famille ne possèdent pas toutes la même affinité pour les cibles bactériennes .Ainsi, l'aztréonam a peu d'affinité pour les PLP des bactéries à Gram positif et pour celles des bactéries anaérobies strictes, ce qui explique leur résistance naturelle vis-à-vis de cet antibiotique.

De même les quinolones de première génération (acide pipémidique et acide nalidixique) n'ont que peu d'affinité pour l'ADN gyrase des staphylocoques.

Ce type de mécanisme est responsable d'un grand nombre de résistances acquises .On citera la résistance du staphylocoque vis-à-vis des b-lactamines, il s'agit ici de l'acquisition de matériel génétique (gène mecA) .Ce gène code pour la synthèse d'une nouvelle PLP : la PLP 2a ou 2' possédant une mauvaise affinité pour les β -lactamines quelle que soit la molécule, expliquant ainsi la résistance croisées vis-à-vis de toutes la famille (Gaudy, 2005).

d-Résistance par modification enzymatique

Un des mécanismes de résistance le plus répandus et le plus efficaces, pour les bactéries, est de modifier la structure de l'antibiotique de façon à lui faire perdre sa capacité à se lier à sa cible cellulaire et, par voie de conséquence, à l'inhiber. Ces enzymes se rencontrent de façon naturelle ou acquise chez les bactéries d'intérêt clinique, se sont classées suivant les β -lactamines qu'elles hydrolysent de manière préférentielle (pénicillinase,Céphalosporinase), ou suivant qu'elles sont codées par des gènes chromosomiques ou plasmidique (Nauciel, 2005).

Les enzymes les plus importantes sur le plan clinique sont les enzymes dirigées contre les β -lactamines : les b-lactamase. Ces enzymes hydrolysent le cycle b-lactame en détruisant le lien empêchant ainsi les b-lactamines de se fixer de façon covalente sur le site actif des enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi, les protéines liant la pénicilline (PLP), Ces enzymes peuvent être d'origine chromosomique (intrinsèque appartenant à l'espèce) ou extrinsèque (gène transmis par des plasmides ou des transposons).

Si on s'intéresse aux aminosides, il existe ici de nombreuses enzymes inactivatrices d'origine plasmidique d'intérêt clinique, selon leur type, elles sont responsables de l'inactivation de nombreuses molécules utilisées en clinique : la gentamycine, la nétilmicine, ou l'amikacine. On les rencontre fréquemment chez les entérobactéries, les Pseudomonas, et encore plus fréquemment chez les staphylocoques (Courvalin, 2007).

Les bactéries des genres Streptococcus et Entérocooccus ont une résistance naturelle aux aminosides due au fait que les aminosides traversent mal la membrane de ces bactéries (Nauciel, 2005).

Les aminosides peuvent perdre leur capacité à se fixer sur leur cible, le ribosome, lorsque certaines de leurs fonctions $-OH$ ou $-NH_2$ sont modifiées par des enzymes bactériennes : Phospho-transférase, nucléotidyl-transférase, acétyl-tansférase. Certaines de ces enzymes sont acquises par les bactéries pathogène à l'occasion d'échanges génétique avec les espèces environnementales (Nauciel, 2005).

Tableau VII: Principales résistances naturelles (Gaudy *et al.*, 2005).

Mécanisme	Antibiotiques	Bactéries
1-Enzymatique Pénicillinase Céphalosporinase B-lactamase Acétyltransférase	Aminopénicillines Carboxypénicillines Céphalosporines B-lactamines Aminosides	Entérobactéries gr II Entérobactéries gr III <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Serratia, Providencia</i>
2-Défaut de pénétration	Pénicillines M et G Macrolide Glycopeptides Aminosides	Entérobactéries <i>Pseudomonas</i> Streptocoques, bactéries anaérobies
3-Efflux	Tétracycline Chloramphénicol	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4-Défaut d'affinité	B-lactamines Céphalosporines Quinolones de 1 ^{ère} génération Glycopeptides Colistine	Mycoplasmes Entérocoques, <i>listeria</i> Staphylocoques, <i>Pseudomonas</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Serratia, Neisseria</i> <i>meningitidis,</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>

Tableau VIII : Principaux mécanisme de résistance aux antibiotiques (Gaudy *et al.*, 2007).

Antibiotiques / Famille	Mécanismes	Bactéries
Pénicilline Céphalosporine Imipénème	Pénicillinase Céphalosporinase Imipénèmase	Staphylococcies <i>aureus</i> Entérobactéries Pseudomonas <i>aeruginosa</i>
Aminosides	Acétyltransférase Phosphotransférase Acétyltransférase	Staphylocoques reptocoques Entérobactéries Pseudomonas
Phénicolés	Estéras → Enzymatique	Streptocoques Staphylocoques
Chloramphénicol Tétracycline Carboxypénème Imipénème	Défaut de pénétration et efflux	Klebsiella sp Enterobacter Pseudomonas <i>aeruginosa</i> Entérobactéries
Quinolones Macrolides Rifampicine	Défaut d'affinité Antibiotiques	Entérocoques Staphylocoques

4-2-2-2-- Génétique de la résistance

A la suite de ce qui vient d’être dit à propos des différents modes de résistance adopter par les bactéries, il est clair qu’il est important de dépister les mécanismes de résistance sur le plan génétique.

La résistance aux antibiotiques peut être une :

Résistance naturelle :

Présente chez tous les membres d’une même espèce ou d’un même genre bactérien .Elle est liée à son patrimoine génétique, déterminée dès le début du développement d’un antibiotique et ne pose pas de problème en pratique clinique, Ces résistances sont bien connues et elles déterminent le spectre d’activité d’un antibiotique donné quand il est introduit en thérapeutique.

-Résistance acquise :

Résulte d'une modification du patrimoine génétique il peut s'agir d'une mutation ou il s'agit le plus souvent de l'acquisition d'ADN étranger pouvant provenir de la même espèce ou d'espèces bactériennes différentes

L'acquisition d'un gène se fait le plus souvent par conjugaison, dans certaines espèces, comme le pneumocoque et *Neisseria*, l'acquisition d'ADN peut se faire par transformation .le transfert de gènes de résistance par l'intermédiaire d'un bactériophage (transduction) est rare (Nauciel *et al.*, 2005)

4-2-2-2-1-Acquisition de gène

La résistance aux antibiotiques résulte principalement de l'acquisition de gènes de résistance exogènes suivant trois principaux modes de transfert de gènes qui ont lieu au cours de la recombinaison bactérienne : la transformation, la conjugaison et la transduction (Hocine, 2016).

a-Transformation

Des fragments d'ADN libérés lors de la lyse bactérienne, peuvent pénétrer dans d'autres bactéries et s'intégrer par recombinaison dans leur ADN .Ce processus ne s'observe que dans certaines espèces bactériennes appartenant notamment aux genres *Streptococcus*, *Neisseria*, *Haemophiles* .il faut en outre que la bactérie recevant le fragment d'ADN soit dans un état particulier, dit de compétence. L'échange de matériel génétique par transformation ne s'effectue qu'entre bactérie de même espèce ou entre espèce apparentées, car des homologies de séquence sont nécessaires au processus de recombinaison (Nauciel *et al.*, 2005 ; Hocine, 2016).

b-Conjugaison

C'est probablement le mécanisme le plus fréquent dans la nature, le transfert se fait d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice, la bactérie donatrice exprime a sa surface des structures permettant l'accolement (pili sexuels chez les bacilles à Gram négatif, adhésines chez les Gram positif) .le transfert concerne essentiellement des plasmides (Hocine, 2016).

c-Transduction

Est un processus par lequel le transfert de gène se fait d'une bactérie donatrice à une autre réceptrice par l'intermédiaire d'un bactériophage sans contact entre les deux cellules, on distingue deux types de transduction : la transduction généralisée et la transduction spécialisée (Hocine, 2016).

4-3-Emergence et propagation de la résistance

Depuis leur découverte, les antibiotiques se sont révélés très précieux dans la lutte contre les maladies d'origine bactérienne touchant l'homme et les animaux, mais le monde bactérien s'est adapté aux antibiotiques et cela s'est traduit par l'émergence de souches résistantes chez l'homme, chez les animaux et dans l'environnement.

Les bactéries développent de la résistance à la suite d'une exposition aux antibiotiques. La résistance aux antibiotiques se développe à grande échelle selon les étapes suivantes : sélection d'organismes résistants, élimination de la flore normale sensible au médicament et colonisation avec ces micro-organismes résistants, contact d'une personne à l'autre et transmission dans l'environnement puis finalement la transmission globale (Carle, 2009).

Selon Nauciel et al. (2005), le pourcentage de souches résistantes à un antibiotique donné a souvent tendance à augmenter en fonction du temps d'utilisation de cet antibiotique, c'est le résultat de la pression sélective des antibiotiques. L'administration d'un antibiotique entraîne la disparition, ou la diminution, des bactéries ayant acquis des gènes de résistance, et des espèces possédant une résistance naturelle.

Selon l'OMS, la résistance aux antibiotiques atteint désormais des niveaux dangereusement élevés dans toutes les régions du monde. De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent dans le monde entier, compromettant notre capacité à traiter les maladies infectieuses courantes. Pour un nombre croissant d'infections comme la pneumonie, la tuberculose, la septicémie et la gonorrhée et les maladies d'origine alimentaire, le traitement devient plus difficile, voire impossible parfois, du fait de la perte d'efficacité des antibiotiques (OMS, 2017).

Après la sélection de la résistance, divers facteurs peuvent contribuer à sa diffusion.

- Diffusion de la résistance chez les bactéries par transfert de gènes à la descendance suivant les différents modes de transfert génétique.
- Transmission interhumaine en milieu communautaire et plus encore en milieu hospitalier où la situation est en effet aggravée par la forte pression de sélection des antibiotiques et par la transmission des bactéries par le personnel hospitalier, si les précautions d'hygiène ne sont assez strictes.
- Transmission d'origine animale : chez les animaux domestique, les antibiotiques ne sont pas utilisés à titre thérapeutique, mais aussi comme additif dans l'alimentation. Des souches résistantes ainsi sélectionnées chez l'animal, peuvent ensuite être transmises à la population humaine

L'OMS accorde une grande priorité à la lutte contre la résistance aux antibiotiques. Un plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, qui inclut la résistance aux antibiotiques, a été approuvé par l'Assemblée mondiale de la santé en mai 2015. Il vise à préserver notre capacité de prévenir et traiter les maladies infectieuses à l'aide de médicaments sûrs et efficaces.

Ce plan d'action mondial définit 5 objectifs stratégiques :

- Améliorer la sensibilisation et la compréhension du phénomène de résistance aux antimicrobiens ;
- Renforcer la surveillance et la recherche ;
- Optimiser l'usage des agents antimicrobiens
- Consentir des investissements durables pour combattre la résistance aux antimicrobiens ;
- Réduire l'incidence des infections.

4-4-Impact de l'utilisation de l'eau épurée dans l'irrigation sur la santé publique et l'environnement

L'utilisation des eaux épurées dans le secteur agricole peut présenter divers risques du fait de leurs teneurs en résidus nocifs. L'accumulation de ces produits s'avère très stable dans l'environnement, ce qui pose des craintes sur leurs impacts sur la biodiversité et à terme sur la santé humaine. D'autant plus que les associations passives de ces résidus (par conjugaison de molécules) dans l'environnement n'ont jamais encore été étudiées (Spiroux J. *et al.*, 2009).

Sachant que la demi-vie d'un médicament étant de l'ordre de plusieurs mois voire de plusieurs années dans l'environnement, cela potentialise des effets nocifs encore imprévus qui concerne tous les milieux :

- Atmosphère : cette pollution reste faible car elle résulte essentiellement de l'utilisation d'aérosols dans le cas d'irrigation par aspersion, ce qui peut porter atteinte à la santé humaine (agriculteur) par inhalation et peut être à l'origine de plusieurs maladies.
- Le sol, cette pollution peut être causé par l'irrigation avec les eaux épurée ainsi que par l'intermédiaire de l'épandage des boues de station d'épuration sur les parcelles cultivées, ce qui peut, par ailleurs, altérer la biodiversité de la microfaune des pâturages qui consomme cette herbe de ce fait porte atteinte à la santé humaine qui consomme ces animaux. Dans le cas de l'intervention d'une intoxication liée à :
 - La présence dans cette eau des anticancéreux qui peuvent produire des effets mutagènes.
 - La présence des antibiotiques entraînent une réduction de la biodiversité microbienne et développent une résistance bactérienne.
 - La présence des hormones stéroïdes qui produisent des perturbations endocriniennes aboutissant à une féminisation des organes génitaux mâles et à une hypofertilité.

Certains de ces médicaments ont tendance à s'accumuler dans les organismes qui les absorbent et à se concentrer progressivement le long des chaînes alimentaires Ainsi que ,par l'infiltration de cette eau polluée dans les nappes phréatique et les cours d'eau, causera l'altération des milieux aquatiques, d'eau douce et d'eau marine par l'accumulation de concentration des résidus médicamenteux dans les sédiments ce qui engendre une altération de la microfaune des milieux aquatiques, et de la sélection de souches bactériennes résistantes.

Ainsi qu'il est interdit d'évacuer, de rejeter ou d'injecter dans les fonds du domaine public hydraulique des matières de toute nature et ; notamment, des effluents urbains et industriels

Contenant des substances solides, liquides ou gazeuses, des agents pathogènes, en quantité et concentration de toxicité susceptibles de porter atteinte à la santé publique, à la faune et à la flore ou nuire au développement économique (Décret exécutif n° 93-160 du 10 juillet 1993 (JO, 1993) et décret exécutif n° 06-141 du 19 avril 2006 (JO, 2006).

Sans oublier le risque sur la santé humaine que présentent les microorganismes pathogènes résistant d'origine fécale présent dans cette eau dont les plus importants ceux à transmission hydrique. (Spiroux J.*et al* ., 2009).

Tableau IX : Maladies d'origine bactérienne transmises par voie hydrique (Vilagineès, 2003).

Micro-organismes	Symptômes	Maladies
Salmonella Typhi et paratyphi et autres	Fièvre, céphalées, diarrhée, douleur abdominale dès fois mortelles : hémorragie intestinales, respiratoire et neurologique	Fièvre typhoïdes et paratyphoïdes, gastroentérite
Vibrio cholera	Diarrhée, Vomissements, douleurs épigastriques avec anurie et crampes musculaires, déshydratation	Choléra
Legionella sp.	Pneumonie aigue : une toux, fièvre et détresse respiratoire, céphalée, anorexie.	Légionellose
Escherichia coli	Diarrhée, septicémie, infections urinaires.	Gastroentérites aigue et diarrhée
Campylobacter jejuni	fièvre, crampes abdominale, diarrhée plus ou moins sanglantes.	gastroentérites
Yersinia enterocolitica	Entérocolite sanglante et des complications abdominales	entérocolite
Shigella dysenteriae	Douleurs abdominales, selles sanglants et glaireux, amaigrissement, fièvre	Shigellose, Dysenterie.
Aeromonas sp	Diarrhée aqueuse	Gastroentérite

Tableau X : Maladies d'origine parasitaire transmises par voie hydrique (Vilagineès, 2003).

Parasites	Symptômes	Maladies
Cryptospridium Parvum	Diarrhée, Crampes abdominales ; Nausées et anorexie	Infection à Cryptospridium
Giardia lamblia	Crampes abdominales, Nausées, Diarrhée aqueuse	Giardoise
Entamoeba histolytica	Crampes et diarrhée muco-sanglante, abcès du foie, du poumon et du cerveau.	Dysenteries amibiennes

Tableau XI : Maladies d'origine virales transmises par voie hydrique (Vilagineès, 2003).

Virus	Symptômes	Maladies
Entérovirus (Poliovirus)	Paralysie musculaires	poliomyélite
<i>Les virus Cocksakie et les Echovirus</i>		Encéphalite bénignes, infections respiratoires et cardiovasculaires.
Virus de la famille des Picornaviridae	Fièvre , fatigue ,myalgie , nausées et vomissement ,méningo-encéphalite Atteinte rénale et cardio-vasculaire et .hépatite	Hépatite infectieuse (Hépatite A) Hépatite E
<i>Coronavirus et astrovirus et des calicivirus</i>	Syndrome diarrhéiques.	Gastroentérites virale
Rotavirus	Toux, écoulement nasal, broncho-pneumopathie ,déshydratation, vomissement et diarrhées	Gastroentérites aigue sporadique
<i>Virus de Norwalk</i>	Nausées et vomissements ,douleurs abdominales ,diarrhées et fièvres.	Gastroentérite à virus de Norwalk
<i>Adénovirus</i>	Diarrhée	Gastroentérite à adénovirus
<i>Astrovirus</i>	Vomissement, diarrhée et fièvre.	Gastroentérite
<i>Calicivirus</i>	Diarrhée et vomissement	Gastroentérite

Objectif d'étude

Notre travail expérimental a été réalisé dans la station d'épuration Est du pont de bougie au niveau du laboratoire d'analyse physicochimique de la dite station.

Nous avons effectué des analyses sur l'eau brute et l'eau traitée afin de déterminer les différents paramètres physico-chimiques (DBO_5 , DCO, MES, pH, Température, NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-}) et déduire si ces critères répondent aux normes de rejets afin d'évaluer les performances de la station d'épuration Est de la ville de Tizi-Ouzou en matière d'abattement de la pollution de l'eau et vérifier la conformité de cette eau à être destinée à l'irrigation.

1- Matériels

1-1-Appareillages

- Rampe de filtration ;
- Colorimètre (DR 890 colorimeter) ;
- Four à moufle (ORCHIDIS) ;
- Balance électrique (Mettler AJ100) ;
- Etuve (PROLABO) ;
- Conductimètre (ORCHIDIS);
- Réacteur de DCO ;
- Incubateurs 144°C (VELP) ;
- Thermomètre (LAMAM) ;
- DBOmètre (OXITOP) ;
- Dessiccateurs ;
- Agitateur (IKA RH basic 2) ;
- Haute (Trionyx) ;

1-2-Solutions chimiques (réactifs)

- Sulfite de sodium ;
- Réactif nitriver 3 ;
- Réactif nitriver 6 ;
- Réactif phosver 3 ;
- Réactif salicylate ;
- Réactif cyanurate ;
- Réactif nitriver5 ; Réactif nitriver3.

2- Méthode d'échantillonnage

La méthode appliquée dans la station d'épuration Est de Tizi-Ouzou est celle de l'échantillon composite ; elle consiste à prélever manuellement chaque 3 heures un volume déterminé au minimum 200 ml. Cet échantillon sera conservé au réfrigérateur à 4°C.

Chaque volume prélevé sera bien mélangé avec tous les prélèvements précédents pour constituer l'échantillon moyen (1 litre d'eau usée brute et 1 litre d'eau épurée) sur lequel l'analyse sera effectuée le lendemain suivant le protocole appliqué par l'ONA. Cette méthode permet donc de récolter une fraction de l'ensemble des matières polluantes qui s'écoulent durant la journée à travers les installations.

L'échantillonnage est effectué, de la période allant de 29/03/2018 jusqu'au 07/04/2018 pour cela nous avons retenues deux points de prélèvements au niveau de la station (A et B).

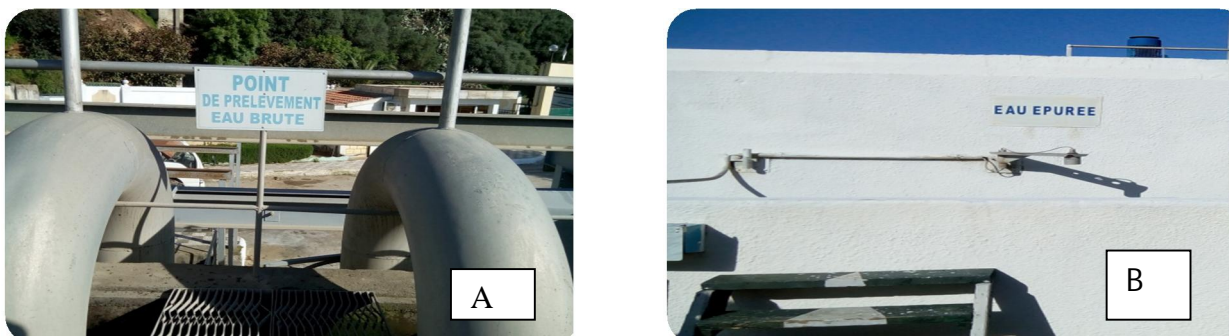


Figure 10 : Point de prélèvement des eaux brute et traitée de la station EST.(Réaliser par nous-même)

Ces analyses sont effectuées selon les normes et les techniques réglementaires et ce depuis l'échantillonnage jusqu'à l'obtention des résultats.

Au sein du laboratoire s'effectue des analyses partielle (les MES, pH, la conductivité, la température la mesure de la DCO et de la DBO₅) et une analyse complète qui une fois par semaine (nitrite, nitrate et phosphore).

3- Analyse quotidienne

3-1-Mesure de la température (T°C)

Mesurée à l'aide d'un thermomètre possédant une sonde pour les mesures des températures.

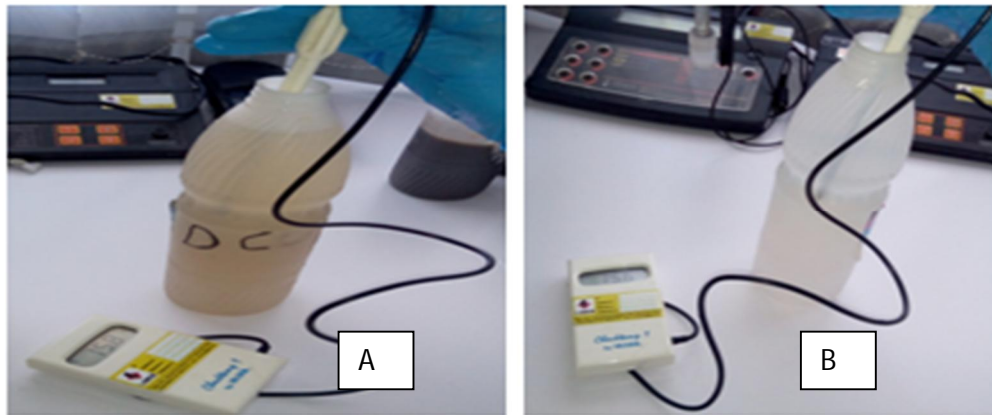


Figure 11 : Technique de mesure de la température des eaux brutes et épurées (Réaliser par nous-même) ; (A) : Mesure de la température pour l'eau brute ; (B) : Mesure de la température pour l'eau épurée

3-2- Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH sert à quantifier la concentration en ion H^+ de l'eau qui lui confère son caractère acide ou basique. La mesure du pH dans eaux brutes et épurées se fait immédiatement au laboratoire après le prélèvement à l'aide d'un ph mètre électronique.



Figure 12 : Le pH-mètre pour la mesure de la conductivité de l'eau (brute et épurée) (Réaliser par nous-même)

3-3-Mesure de la turbidité

La turbidité représente la transparence ou opacité d'un liquide, elle est causée par la présence des matières en suspension fines, mesurée par la méthode photométrique.

- Entrer le numéro du programme PRGM 7 ;

- Taper 95 « enter » pour afficher FAU ;
- Placer le blanc puis l'échantillon, presser READ puis lire le résultat affiché sur l'écran

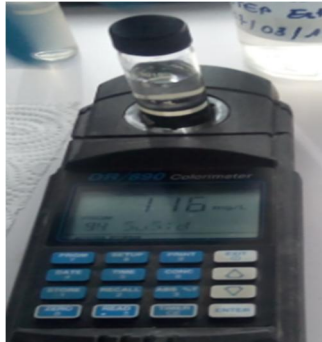


Figure 13 : Mesure de la turbidité (Réaliser par nous-même)

3-4-Mesure de la conductivité

Principe

La conductivité est la propriété qui possède une eau de favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Elle mesuré par l'introduction dans l'eau d'un électrode liée à un appareil

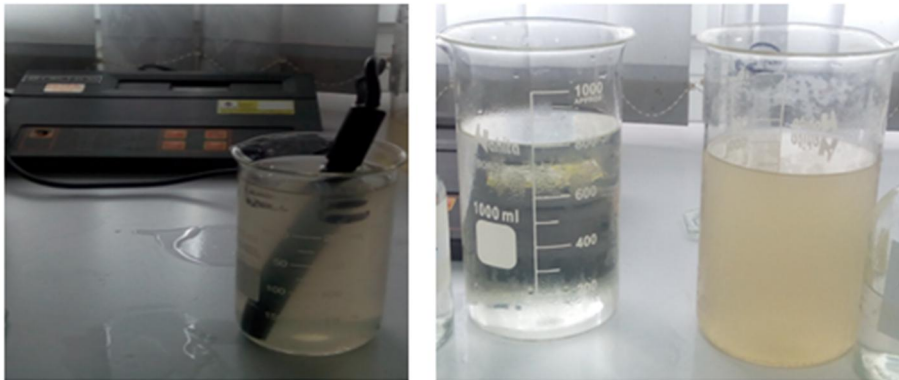


Figure 14 : Technique de Mesure de la conductivité (Réaliser par nous-même)

3-5-Mesure de la matière en suspension par la méthode photométrique : (0 à 75 mg/l) (Norme ISO 8006)

La méthode de photométrie de détermination de MES est une mesure directe, simple qui ne nécessite ni filtration, ni séchage, ni pesée

On homogénéise l'échantillon de l'eau brute et épurée, on verse ensuite 10ml dans le flacon colorimétrique, la lecture du résultat se fait suivant les étapes citées ci-dessous :

- Entrer le numéro du programme PRGM 7 ;
- Taper 94 et cliquer « Enter » afin de le remettre à 0 mg/l ;
- Verser le blanc (10ml eau distillée) et l'échantillon (10 ml eau brute, 10 ml eau épurée) dans les cuvettes du colorimètre
- Placer le blanc dans le puits de mesure ;
- Presser sur « zéro » pour afficher « SubSld » ;
- Agiter puis placer l'échantillon dans le puits du colorimètre
- remettre le capuchon de l'appareil et presser « read » et noter le résultat

La méthode photométrique : (0 à 75 mg/l) permet d'estimer la quantité de matière en suspension en mg/l présente dans les eaux usées et épurées. (Voir figure 15)

Filtration à l'aide d'une rampe de filtration on utilisant le filtre Whatman 50mm.

Placer l'échantillon dans colorimètre, puis noter le résultat



Figure 15 : Schéma représentatif de la technique de mesure des MES

(Norme ISO 8006). (Réaliser par nous-même)

4- Analyse complète (une fois par semaine)

4-1-Mesure de la matière décantables

Cette mesure nous permet d'estimer la qualité de la boue par sa vitesse de décantation, une meilleure sédimentation nous renseigne sur une bonne séparation des boues et de l'eau épurée, donc un rendement élevé en qualité d'abattement de la matière en suspension, la méthode de mesure est la suivante :

Prélever les boues après une demi-heure de fonctionnement de l'aérateur le plus loin possible de la recirculation et on notera au passage l'odeur dégagée.

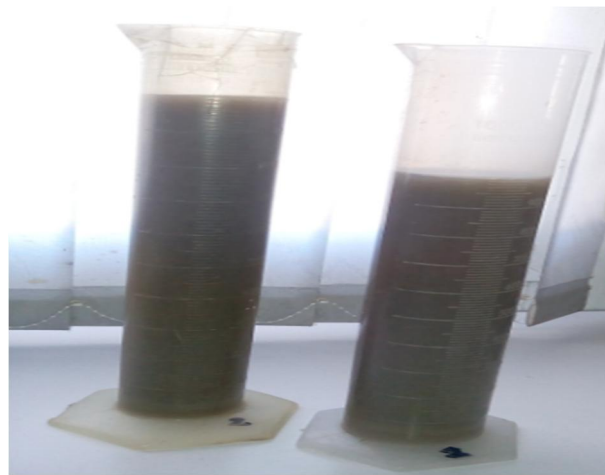


Figure16 : Décantation de la matière décantables (Réaliser par nous-même)

Au laboratoire remplir deux éprouvettes une avec 1000ml de boue et l'autre est diluée à (1 / 2) c'est-à-dire 500ml de boue pour laquelle on ajoute 500ml d'eau épurée)

- Mélanger en retournant les éprouvettes
- Disposer à l'ombre sur un support stable
- Laisser décanter l'éprouvette contenant la boue pendant 120min et l'éprouvette de boue diluée décanter pendant 30min.
- Noter les volumes mesurés à 30min de décantation

Lecture

Si le volume < 300 sa correspond à une bonne qualité de boues

Si Le volume 300 on procédera à une dilution de $\frac{1}{4}$ (250ml de boue +750ml de l'eau épurée).

4-2 -Mesure des matières sèche

Les méthodes gravimétriques reposent sur le calcul de la masse de matière sèche (en mg/l) obtenue après séparation de MES de l'eau par filtration sur filtre Whatman et déshydratation à l'étuve. la mesure d'effectue comme suite :

- Filtrer les eaux collectées dans bassin d'aération, l'épaississeur, le bassin de stabilisation et le bassin retour (boues de retour) à l'aide d'un papier filtre préalablement pesé ainsi que des coupelles seront remplit de l'eau du bassin d'aération et de stabilisation.
- Les filtres sont mis dans des boites en aluminium puis mis à l'étuve ainsi que les coupelles afin de séchées la matière en suspension.
- Les filtre seront mis au dessiccateur et les coupelles sont mis au four a moufle à 550°C afin d'obtenir la matière minérale.
- Les filtres seront pesés une autre fois à l'aide d'une balance électrique puis on fait la soustraction du poids du P_0 et P_1 afin d'estimer le poids de la matière en suspension.

La quantité des MES est déterminer comme suite :

$P_0 - P_1 = \text{MES}$ tel que : P_0 : poids du filtre vide ; P_1 : poids du filtre plein

On pèsera les coupelles sortie du four à moufle afin de déterminer la MVS.

La quantité des MVS est détermminer par l'équation suivante :

$MS = MVS + M_{\text{min}}$ tel que MS : matière sèche ; MVS : matière volatile en suspension ; M_{min} : matière minérale.

Taux de MVS = $\% \text{MVS} / \text{MS}$ ce paramètre nous renseigne sur le degré de la stabilité de la boue .

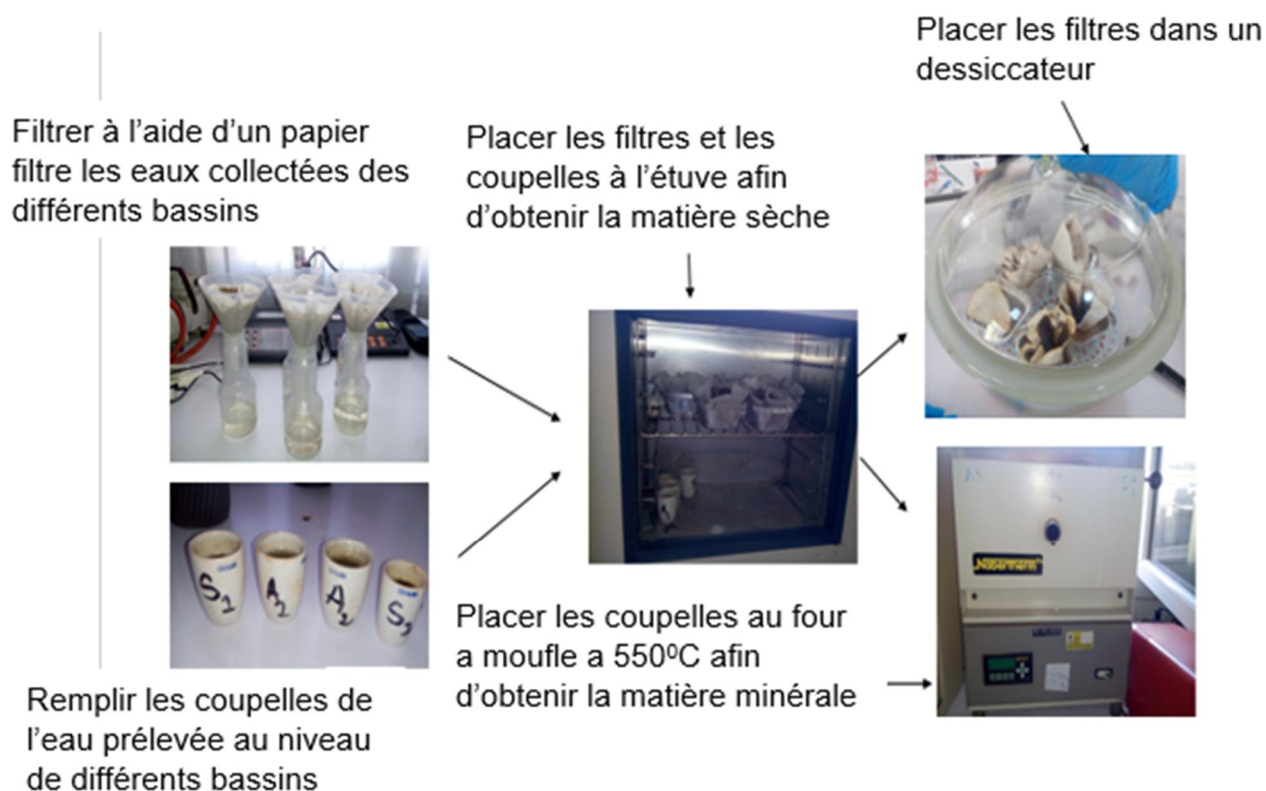


Figure 17 : Technique de mesure des MES par la méthode de filtration. (Réaliser par nous-même)

4-3-Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO) selon la Norme ISO 6060

Cette oxydation se réalise en milieu sulfurique (H_2SO_4), en présence de sulfate d'argent (Ag_2SO_4) et de sulfate de mercure ($HgSO_4$), à ébullition à reflux pendant 2heures dans un tube muni d'un réfrigérant. Le dichromate de potassium est un oxydant puissant et le sulfate d'argent est un catalyseur d'oxydation utile pour oxyder les chaînes des alcools et des acides gras. Les étapes de la mesure sont décrites ci-dessus.

- Remplir les fioles de l'appareil a reflux avec 5ml de dichromate de potassium ;
- Ajout de 10ml d'échantillon eau brute et épurée plus 15 ml d'acide sulfurique – sulfate d'argent ;
- Raccorder les fioles aux réfrigérants ;
- Amener à l'ébullition pendant 120min à 144°C puis le refroidir à 60°C ;
- Diluer le mélange réactionnel à environ 75ml ;
- Ajouter quelque goutte de l'indicateur féronie ;

- Titrer l'excès de dichromate avec la solution de sulfate fer et d'ammonium ;

La DCO est exprimé en mg/l, est donnée par la formule suivante :

$$8000 * C (V_1 - V_2) / V_0.$$

Où :

- C : concentration de la solution de sulfate de fer et d'ammonium ;
- V_1 : volume de la solution de sulfate et d'ammonium utilisé pour l'essai à blanc ;
- V_2 : volume de l'échantillon (de la solution de la solution de sulfate de fer et d'ammonium utilisé pour la détermination) ;
- 8000 : la masse molaire en mg /l de $\frac{1}{2}$ d'oxygène (O_2) ;

DCO = Matière organique biodégradable (DBO) + matière non biodégradable.

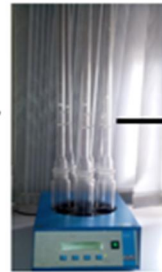
Ajout de 10ml d'échantillon eau brute et épurée plus de 15 ml d'acide sulfurique – d'argent et 5ml de dichromate de potassium



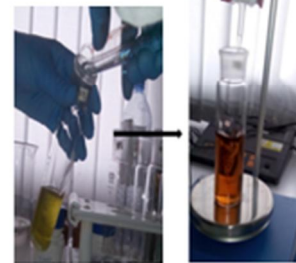
Amener à l'ébullition pendant 120min a 144°C puis le refroidir a 60°C



Raccorder les fioles aux réfrigérants



Titrer l'excès de dichromate avec la solution de sulfate fer et d'ammonium et l'indicateur féroïne.



Diluer le mélange réactionnel a environ 75ml

Figure 18 : Méthode de mesure de la DCO selon la Norme ISO 6060 (Réaliser par nous-même).

4-4- Détermination de la demande biochimique en oxygène (DBO₅) selon la Norme ISO 6060

Il repose sur la mesure de l'oxygène consommé dans un échantillon d'eau et de ses dilutions pour dégrader la pollution initiale par voie biochimique, par détermination de la concentration en oxygène dissous avant et après incubation.

- Mesurer un volume d'eau épuré (365ml) et eau brute (97ml) et le verser dans les bouteilles ;
- Ajouter un barreau magnétique et le port pastille ;
- Ajouter de 3 pastilles de NaOH ou KOH ;
- Placer le DBO mètre ;
- Mettre en fonctionnement le DBOmètre ;
- Conservation dans l'enceinte de la DBO à T 196°C à l'obscurité pendant 5jours.

La détermination de la DBO se fait par l'équation suivante :

$$DBO_5 = T_0 - T_1 = \text{mg (O}_2\text{)/l}$$

Tel que :

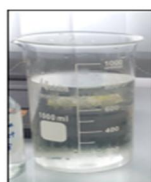
T₀ : quantité d'oxygène initiale.

T₁ : quantité d'oxygène finale.

L'eau brute 97 ml



L'eau épurée
365 ml



Ajout de trois pastilles
NaOH ou KOH



Placer le DBO
mètre



Conservation dans
l'enceinte de la DBO à
T= 196°C à l'obscurité
pendant 5jours

Ac
Ac

Figure 19 : Méthode de mesure de la DBO₅ selon la Norme ISO 6060 (Réaliser par nous-même)

4-5-Mesure des nitrates gamme basse (0 à 0.50 mg N-NO₃⁻/l) selon la Norme ISO 8192

La mesure de nitrate gamme basse se fait à l'entrée de la STEP à l'aide d'un spectrophotomètre du composé former suite à la réaction de nitrate avec le mélange de réactif Nitra ver 6 et Nitra ver3 (voir Figure 21).

Mesurer la quantité des nitrates à l'entrée de la station suivant les étapes décrites ci-dessous :

- Presser PRGM7 enter le numéro 55 pour faire apparaitre « mg (NO₃- N)/l.
- Remplir à l'aide d'une pipette graduée les deux cuvettes du colorimètre l'une avec 10ml l'eau distillée (blanc) et l'autre avec 10 ml de l'eau brute
- Ajouter pour chaque une des deux cuvettes le contenu d'un sachet de réactif Nitra Ver 6
- Mélanger à l'aide d'un agitateur (3min)
- Presser (timer) puis enter, le minuteur affiche « 2 :00 min timer 2 » (temps de réaction)
- Après que le minuteur du colorimètre sonne, Ajouter ensuite le contenu d'un sachet du réactif NitriVer3 et laisser 15 min de réaction ;
- Apparition d'une coloration rose en présence de nitrate ;
- Mettre le blanc pour remettre l'appareil à zéro ;
- Placer l'échantillon dans le colorimètre et le capot, presse read et noter le résultat.

4-6-Détermination des nitrates gamme haute (0 à 30 mg/l) selon la Norme ISO 10020

Cette mesure est préconisée uniquement pour la détermination des nitrates dans l'eau à la sortie de la station. Suivant les étapes citées ci-après : (voir Figure 21).

- Presser PRGM7 enter le numéro 51 (ou 57 selon l'appareil) ;
- Remplir à l'aide d'une pipette graduée les deux cuvettes du colorimètre l'une avec 10ml l'eau distillée (blanc) et l'autre avec 10 ml d'eau épurée ;
- Ajouter pour chaque une des deux cuvettes le contenu d'un sachet de réactif Nitra Ver 5 ;
- Mélanger à l'aide d'un agitateur (1min) ;
- Presser « timer » puis « enter », le minuteur affiche « 5 :00 min timer 2 » (temps de réaction) ;
- A la fin de la réaction le minuteur du colorimètre sonne (apparition d'une coloration verte en présence de nitrate) ;
- Mettre le blanc pour remettre l'appareil à zéro ;
- Placer l'échantillon dans le colorimètre et le capot, presse « read » et noter le résultat ;

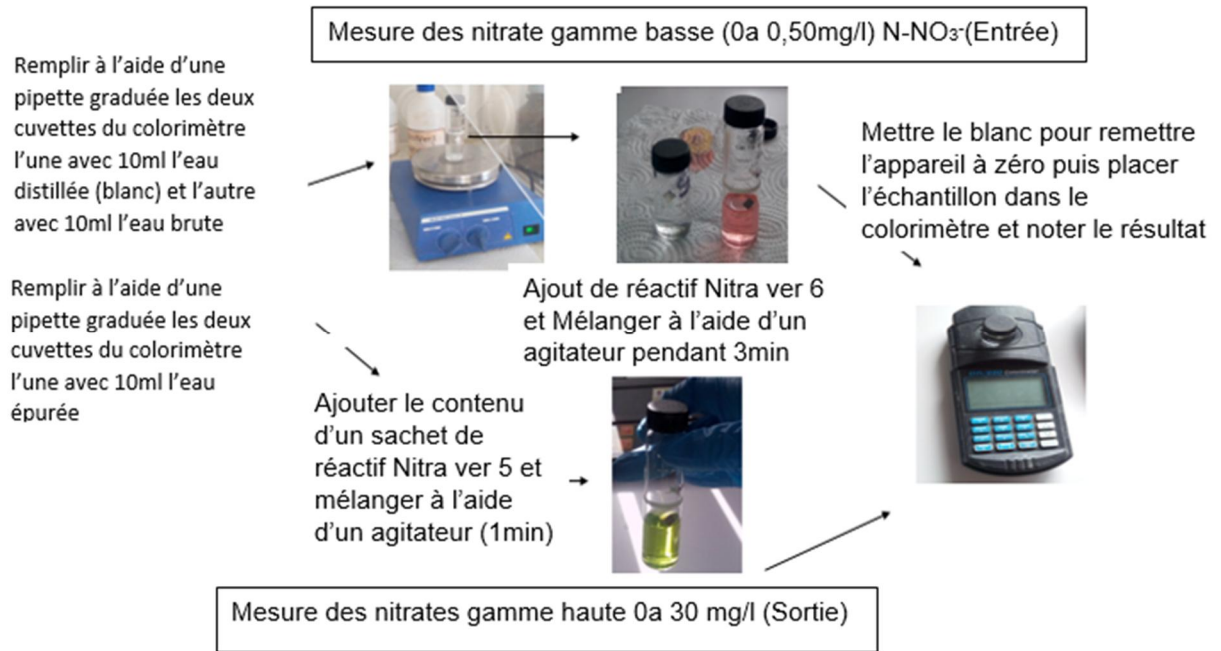


Figure 20 : Schéma représentatif de la méthode de mesure des nitrates

(ISO 8192 et ISO 10020) (Réaliser par nous-même)

4-7-Mesure des nitrites gamme basse (0 – 0.350 mg/l N-NO₂⁻) selon la Norme ISO 8507

La détermination des nitrites dans l'eau brute et l'eau épurée s'effectue comme suite :

- Presser « PRGM7 » enter le numéro 60 pour faire apparaitre mg/l -NO₂⁻N ;
- Remplir à l'aide d'une pipette graduée les deux cuvettes du colorimètre l'une avec 10ml l'eau distillée (blanc) et l'autre avec 10 ml d'eau brute et d'eau épurée ;
- Ajouter pour chaque'une des deux cuvettes le contenu d'un sachet de réactif Nitra Ver ;
- Mélanger à l'aide d'un agitateur ;
- presser timer puis enter, le minuteur affiche « 15 :00 min timer 2 » (temps de réaction) ;
- Après que le minuteur du colorimètre sonne, l'apparition d'une coloration rose pour l'eau brute et orange pour l'eau épurée en présence des nitrites ;
- Mettre le blanc pour remettre l'appareil à zéro ;
- Placer les échantillons dans le colorimètre et le capot, presse « read » et noter le résultat

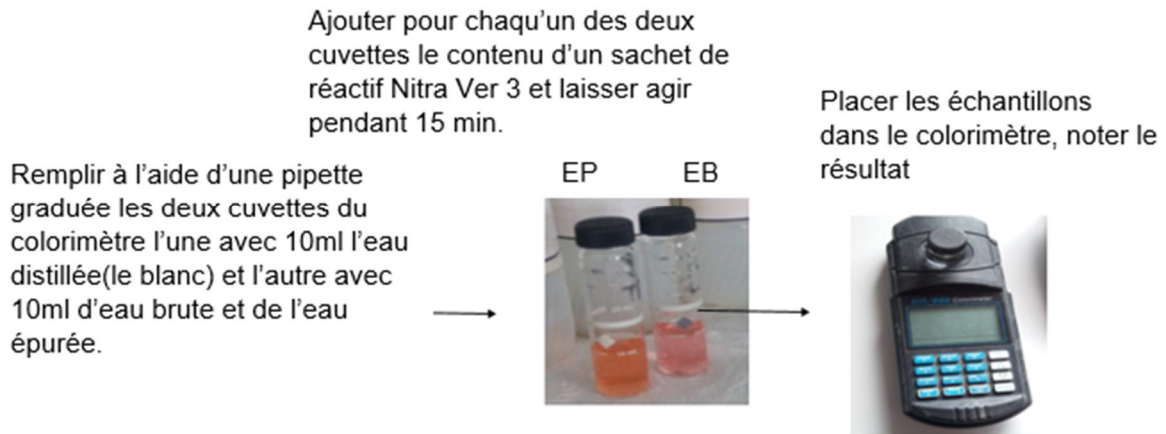


Figure 21 : Schéma représentatif de la méthode de mesure des nitrites (la Norme ISO 8507). (Réaliser par nous-même)

4-8-Mesurer du phosphate (Orthophosphate) (0 à 2.50 mg/l PO_4^{-3}) selon la Norme ISO 8048

La détermination du phosphate dans l'eau brute et l'eau épurée s'effectue comme suite :

- Presser PRGM7 « enter » puis taper le numéro 79 pour faire apparaître « mg/l PO_4^{-3} » ;
- Remplir à l'aide d'une pipette graduée les deux cuvettes du colorimètre l'une avec 10ml l'eau distillée (le blanc) et l'autre avec 10 ml d'eau brute et de l'eau épurée ;
- Ajouter pour chaque une des deux cuvettes le contenu d'un sachet de réactif **Nitra Ver 3** ;
- Mélanger à l'aide d'un agitateur ;
- Presser timer puis enter, le minuteur affiche « 2min timer 2 » (temps de réaction) ;
- Après que le minuteur du colorimètre sonne, l'apparition d'une coloration bleue pour l'eau brute et pour l'eau épurée en présence des phosphates ;
- Mettre le blanc pour remettre l'appareil à zéro ;
- Placer les échantillons dans le colorimètre et le capot, presse « read » et noter le résultat.

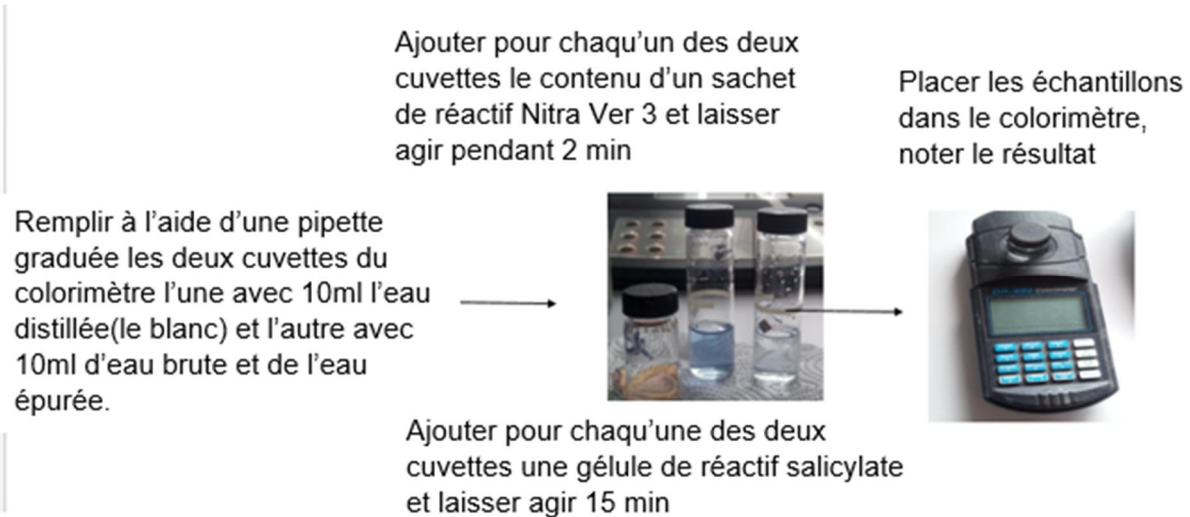


Figure 22 : Schéma représentatif de la méthode de mesure du phosphate (ISO 8048).

(Réaliser par nous-même)

4-9- Mesure d'azote ammoniacal (0 à 0.50 mg/l N-NH₃) ISO 8155.

La détermination de l'azote ammoniacal dans l'eau brute et l'eau épurée s'effectue comme suite

- Presser PRGM7 enter le numéro 64 pour faire apparaitre mg/l N-NH₃ ;
- Remplir à l'aide d'une pipette graduée les deux cuvettes du colorimètre l'une avec 10ml l'eau distillée (blanc) et l'autre avec 10 ml d'eau brute et d'eau épurée ;
- Ajouter pour chaque une des deux cuvettes une gélule de réactif salicylate ;
- Mélanger à l'aide d'un agitateur ;
- Presser timer puis « enter », le minuteur affiche « 3min timer 2 » (temps de réaction) ;
- Ajouter une gélule de Cyanurate alcalin et agiter ;
- Presser timer puis « enter », le minuteur affiche « 15min timer 2 » (temps de réaction) ;
- Après que le minuteur du colorimètre sonne (l'apparition d'une coloration verte pour l'eau brute et pour l'eau épurée en présence de l'azote ammoniacale)
- Placer le blanc pour remettre l'appareil à zéro
- Placer les échantillons dans le colorimètre et le capot, presse « read »

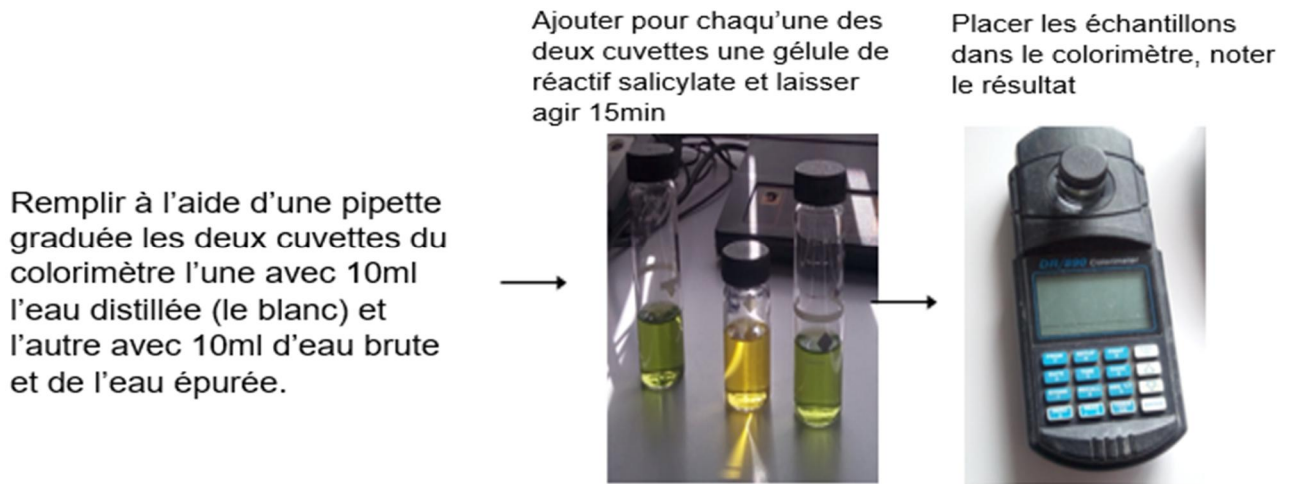


Figure 23 : Schéma représentatif de la méthode de mesure de l'azote ammoniacal (**ISO 8155**). (Réaliser par nous-même)

Objectif d'étude

En vue d'évaluer la qualité microbiologique des eaux brutes et épurées de la station d'épuration EST de Tizi-Ouzou (pont de bougie). Nous avons procédé à des analyses microbiologiques au sein du laboratoire de microbiologie au département d'agronomie, après avoir prélevé des échantillons d'eaux de la STEP du point de prélèvement des eaux brute et celui des eaux épurées. Cela est effectué en immergeant la bouteille dans l'eau et en le remontant en exécutant un mouvement en « U ». Cette eau est conditionnée dans des bouteilles en verre stérile, puis emporter dans une glacière et transporter au laboratoire de la faculté de biologie afin d'entamer les analyses.

1- Matériel

- Autoclave ;
- Bain-marie (wisebath) ;
- Agitateur magnétique avec plaque chauffante (Raypa) ;
- Incubateur ;
- Microscope optiques ;
- Spectrophotomètre ;
- Balance ;
- Compteur de colonies (Funke gerber) ;

2 - Méthode

Après prélèvement et transport des échantillons, on procède à l'analyse bactériologique qui doit être faite dans les 24 heures suivant l'échantillonnage.

Les analyses bactériologiques ont été effectuées selon les étapes suivantes :

- Isolement et dénombrement des germes des bactéries à partir des échantillons.
- Identification et l'antibiorésistance des bactéries.

Dans le cadre de notre étude, l'analyse bactériologique se restreint à la recherche, dénombrement et isolement des germes suivants :

- Les mésophiles aérobies totaux à 22°C et à 37°C ;
- Coliformes totaux (37°C) et coliformes fécaux (44°C). ;
- Streptocoques fécaux ;
- Les germes anaérobies sulfito-réductrices (*Clostridium*) ;
- Staphylocoques à coagulase positive ;
- Salmonelles ;
- *Pseudomonas* ;
- *Vibrio*.

3- Analyse bactériologique

• Principe de la méthode par filtration

L'échantillon d'eau à analyser est filtré à travers une membrane qui retient les microorganismes recherchés. La membrane est ensuite placée sur un milieu gélosé ou sur un tampon absorbant imprégné de bouillon de culture. Durant l'incubation, des colonies se forment à la surface de la membrane.

Cette technique permet de travailler sur des volumes importants d'échantillon et donc de concentrer les bactéries présentes en petit nombre sur un support de petite surface (filtre membrane 0.45µm).

3-1- Dénombrement des microorganismes revivifiants (la norme NF EN ISO 6622 juillet 1999)

• Le principe de la technique

Il s'agit d'une technique de numération de manière non spécifique du plus grand nombre de microorganismes après incorporation de volumes d'échantillon ou de ses dilutions dans un milieu gélosé.

Mode opératoire (voir figure : 24)

• Préparation de l'échantillon

- Agiter soigneusement et de façon prolongée le flacon d'échantillon, de manière à remettre les microorganismes en suspension homogène.

- Prélever ensuite, stérilement, 1 ml de l'échantillon et procéder aux dilutions adaptées à celui-ci.
- **Ensemencement**
- Placer un volume de prise d'essai de 1 ml de ses dilutions, de manière stérile, dans le fond d'une boîte de pétri.
- Utiliser une pipette stérile de 1 ml, en débutant par la dilution la plus forte jusqu'à la plus faible.
- Ajouter 15 à 20 ml de gélose fondue de PCA ou TGEA (maintenue en surfusion à 45°C) et mélanger avec précaution par rotation de la boîte de pétri, sans faire de bulles et sans mouiller les bords extérieurs, afin de répartir les bactéries de manière homogène sur la surface de la boîte. le temps entre l'addition de la prise d'essai (ou dilution) et l'addition du milieu fondu ne doit pas dépasser 15 minutes.
- Laisser le milieu solidifier sur une surface plane, horizontale et fraîche.
- Retourner les boîtes et incuber une série à 37°C pendant 24 h et l'autre série à 22°C pendant 24 h.
- Dénombrer les colonies apparente à l'aide du compteur de colonies.
- Puis calculer le nombre d'unités formant colonies (UFC) par millilitre d'échantillon à partir du nombre de colonies apparues sur le milieu de culture et en respectant le mode de calcul donné par la norme, selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum \text{Colonies}}{V_{\text{ml}} (n_1 + 0.1 n_2) \cdot d_1}$$

N : nombre d'UFC par gramme de produit initial ;

\sum Colonies : sommes des colonies des boites interprétable ;

V_{ml} : volume d'inoculum déposé par boîte (1ml) ;

n_1 : Nombre de boites considéré à la première dilution retenue ;

n_2 : Nombre de boites considéré à la seconde dilution retenue ;

d_1 : Facteur de la première dilution retenue.

Toutes ces étapes sont illustrées dans la figure 24 qui suit :

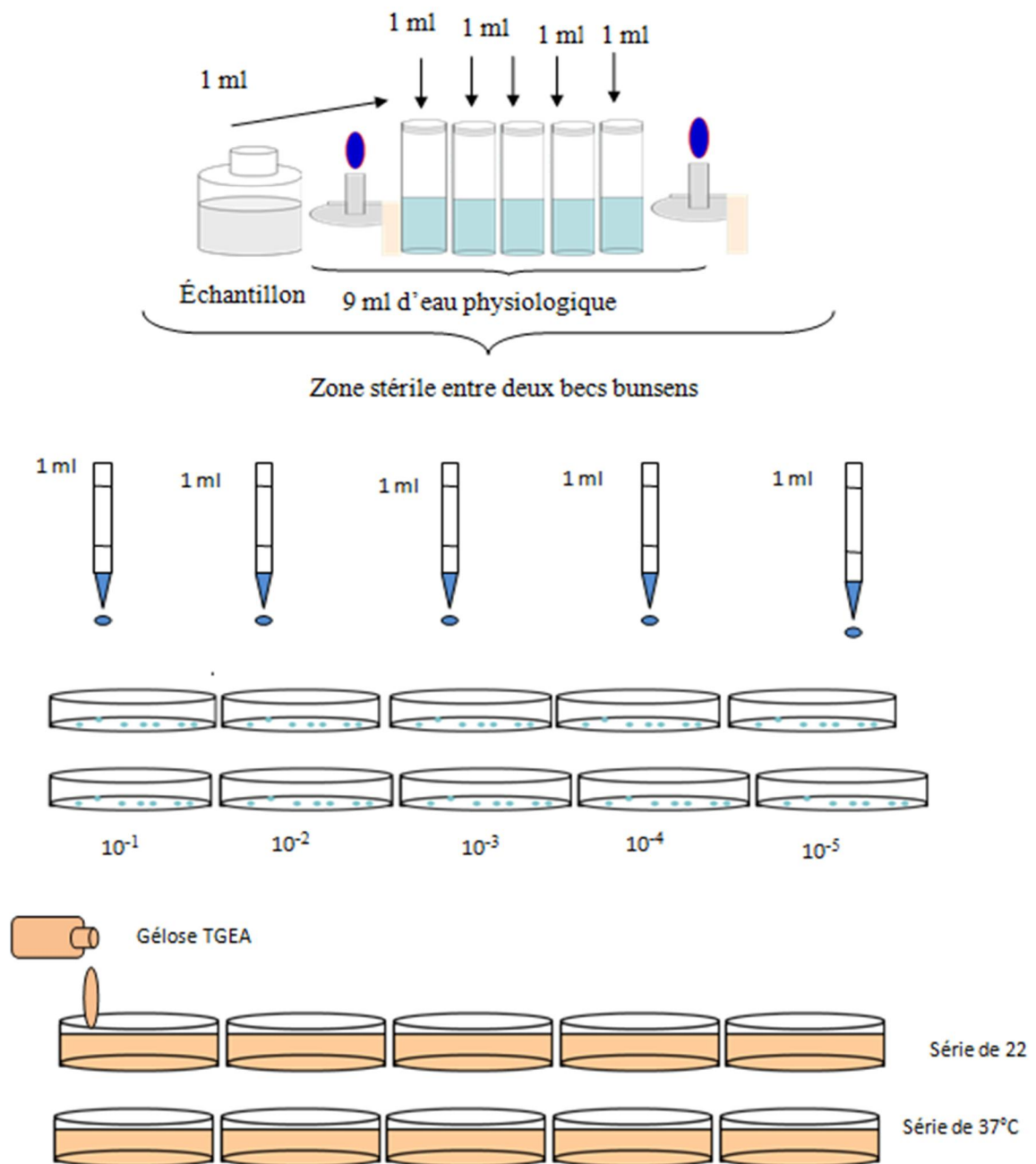


Figure 24 : Méthode de recherche des microorganismes revivifiables à 22 et à 37°C sur milieu TGEA (la norme NF EN ISO 6622 juillet 1999). (Réaliser par nous-même)

3-2 –Isolement des coliformes

- **Méthode par filtration sur membrane (la Norme ISO9308-1)**

Cette méthode consiste à rechercher et dénombrer des *Escherichia coli* et des coliformes qui sont présentes dans tous type d'eau.

En utilisant une rampe de filtration et des filtres de 0.45 µm.

Mode opératoire (voir figure : 25)

- Stériliser l'entonnoir gradué en verre ainsi que le filtre poreux en les faisant passer à travers la flamme du bec bunsen ;
- Refroidir avec de l'eau à analyser ou avec de l'eau distillée ;
- Flamber la pince et transférer dans des conditions d'asepsie la membrane poreuse de 0.45 µm et la mettre entre l'entonnoir et le filtre poreux ;
- Fixer ce dispositif avec la pince correspondante ;
- Verser ensuite aseptiquement entre deux becs bunsens les échantillons à analysés (eau brute et eau épurée) ;
- Actionner la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane ;
- Après avoir filtré toute la quantité d'eau (100 ml), arrêter la pompe et retirer l'entonnoir en verre ;
- Retirer la membrane à l'aide d'une pince stérile, et la transférer immédiatement sur la surface d'une plaque de gélose TTC préalablement préparée.

Incuber les boîtes de pétries couvercle en bas à Incuber à 37 °C ; pendant 24h (jusqu'à 48 h) pour les coliformes totaux, et incuber à 44°C pendant 24 heures afin d'avoir les coliformes fécaux.

- Après incubation, considérer les colonies lactose positif comme caractéristiques des coliformes, quelle que soit leur taille, si le milieu présente une coloration jaune sous la membrane.
- Repiquer, de préférence, toutes les colonies caractéristiques, ou un nombre représentatif (au moins dix), sur :
 - Une gélose non sélective comme la gélose Tryptone Caséine Soja ; incuber à 37°C pendant 24 h ;
 - Un bouillon au tryptophane, incubé à 44°C pendant 24 h.

- **Après incubation, réaliser**

- Le test oxydase sur les colonies isolées sur la gélose ;
- La recherche de la production d'indole sur le bouillon.

- **Lecture des résultats**

- Colonies ayant une réaction négative à l'oxydase sont considérées comme coliforme.
- Les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase mais positive à l'indole sont considérées comme *E. coli*.

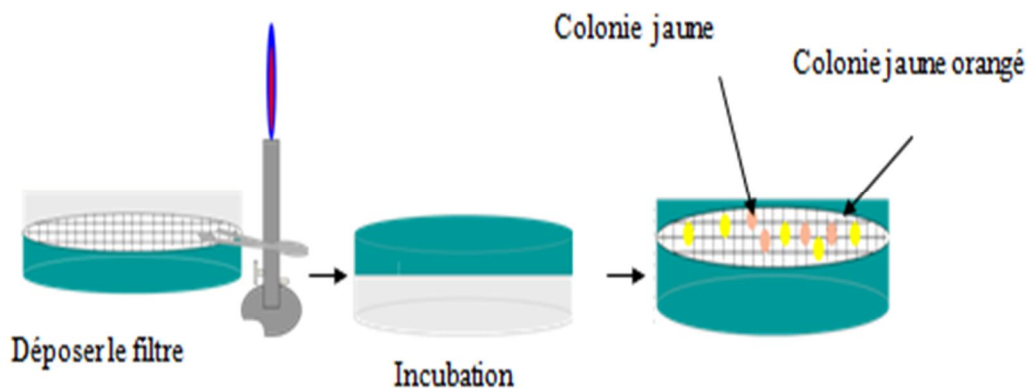


Figure 25 : Méthode pour la recherche des coliformes par filtration sur membrane (**la norme ISO9308-1**). (Réaliser par nous-même)

3-3-Recherche des entérocoques intestinaux

Méthode par filtration sur membrane (la Norme ISO 7899-2 NA 766).

Cette technique permet de dénombrer les entérocoques dans l'eau par filtration sur membrane, selon

Les entérocoques intestinaux sont des bactéries à Gram positive présente sous forme de cocci sphérique formant des chainettes, ne possédant pas de catalase, capable de se développer sur milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques qui réduit le TTC ainsi qu'elles hydrolysent l'esculine en 2 h à 44°C après avoir été repiqué sur la gélose biliée à l'esculine et à l'azoture (BEA).

Mode opératoire (voir figure : 26)

La recherche des entérocoques ou streptocoques du groupe « D » se déroule selon le même procédé utilisé pour la recherche des coliformes par la méthode de filtration sauf qu'ici la membrane est déposée sur la plaque de Slanetz et Bartley.

Après incubation durant 24 h à 37°C, on procède au dénombrement des colonies qui présentent une coloration rouge, marron ou rose, pouvant être limitée à leur centre ou à leur périphérie, et provenant de la réduction par les entérocoques du TTC.

La confirmation du genre *Enterococcus* se fera par transfert de la membrane à l'aide d'une pince stérile sur un milieu à l'esculine préalablement chauffé à 44°C et incubation de ce milieu à 44°C pendant 2 heures. Les colonies présentant une coloration foncée à noire sur cette gélose seront dénombrées comme des entérocoques. Cette coloration est due à l'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu.

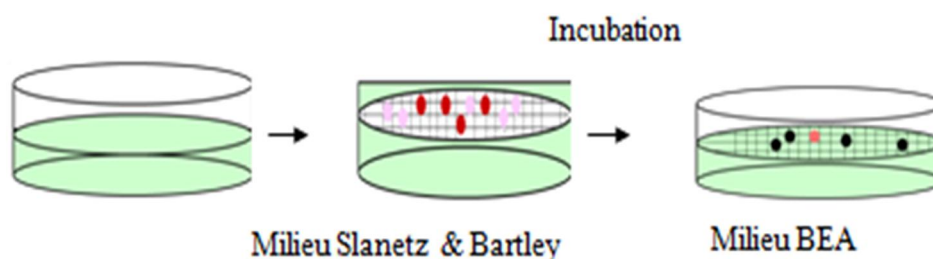


Figure 26 : Méthode pour la recherche des entérocoques par filtration sur membrane (**la Norme ISO 7899-2 NA 766**). (Réaliser par nous-même)

3-4-Isolement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de *Clostridium* sulfito-réducteurs (la Norme ISO 6461/2- 1986).

- **Méthode par filtration sur membrane**

Cette technique consiste en la recherche et le dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito –réductrices sur membrane.

On entend par bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ARS) des bactéries qui se présentent sous forme de bacille à Gram positif et qui en se développant à température de 37°C en 24 à 48

heures en gélose profonde de type gélose viande foie, donnent des colonies caractéristiques qui sont de couleur blanche entourées d'une auréole noire.

Cette dernière est le témoin de la réduction du sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu ; en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noir.

La présence de spores de bactéries ARS dans les eaux, constitue généralement un véritable indice de contamination fécale ancienne.

Mode opératoire (voir figure : 27)

- Sélection de la spore en détruisant toutes formes végétatives par chauffage de l'eau à analyser au bain marie à 75°C , pendant 15 minutes à partir du moment où cette température a été atteinte. Ensuite on réalise un choc thermique sous l'eau du robinet.
- Filtrer 100 ml de cette eau sur une membrane dont les pores suffisamment petits pour retenir les spores $0,45\ \mu\text{m}$.
- Après la filtration, placer la membrane, face supérieure tournée vers le bas, dans le fond d'une boîte de pétri de 90mm de diamètre, stérile et vide, en s'assurant qu'il ne reste pas de bulles d'air emprisonnées sous le filtre.
- Verser ensuite soigneusement 18 ml de milieu de culture liquéfié (gélose viande foie), préalablement refroidi à environ 45°C , sur la membrane en l'immobilisant avec des pinces stériles.
- Après solidification de la gélose, incuber en atmosphère anaérobie dans une jarre à anaérobiose à 37°C pendant 24 heures et 48 h.

Lecture

Compter toutes les colonies noires après incubation et donner le résultat en nombre de spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices en fonction du volume filtré.

La figure suivante illustre les étapes précédente :

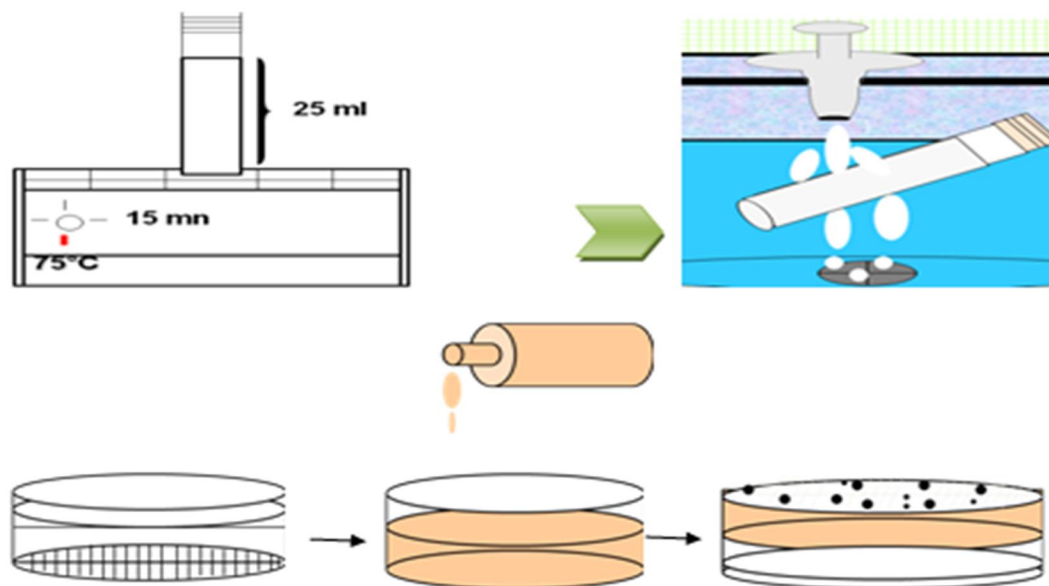


Figure 27 : Méthode pour la recherche des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices par filtration sur membrane (**la Norme ISO 6461/2- 1986**). (Réaliser par nous-même)

3-5- Recherche des Salmonelles (la Norme ISO 6340).

Cette méthode consiste à rechercher et identifier les *Salmonelles* présentes dans l'eau, par filtration sur membrane.

On entend par *Salmonella*, des bactéries à Gram négatif qui sont anaérobies facultatives, asporulés et oxydase négative, ces dernières sont en forme de bâtonnet, qui forme des petites colonies lisses à contours réguliers, pigmentées en vert ou en bleu vert à centre noir sur milieu Hektoen à température $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en 24 à 48 heures.

Mode opératoire (voir figure : 28)

- Filtration de 250ml d'eau sur une membrane de $0,45\mu\text{m}$.
- Placer le filtre dans 50 ml de l'eau peptonée tamponnée afin d'effectuer le pré-enrichissement et incuber à 37°C pendant 24 heures.
- Après incubation, transférer 1 ml du bouillon d'enrichissement dans 10 ml du milieu Rappaport Vassiliadis préalablement chauffé à 42°C , et incuber à 37°C pendant 18 à 24 h.

- Repiquer à l'aide d'une anse le milieu Hektoen afin d'effectuer un isolement et incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture

- Colonies ayant un contour régulier.
- Colonies ayant la couleur du milieu, parfois avec ou sans centre noir sur la gélose Hektoen.

La présence de colonies typique de salmonelles sur les milieux gélosés sélectifs n'est pas une preuve suffisante de la présence de cette bactérie. Il est donc nécessaire d'effectuer une identification biochimiques basée essentiellement sur : ONPG, UREE, TSI, indole, LDC.

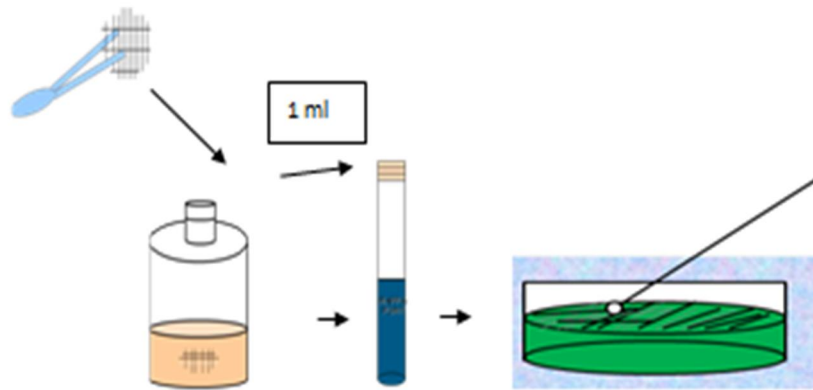


Figure 28 : Recherche des salmonella (la norme ISO 6340).

3-6- Isolement des staphylocoques à coagulase positive (Norme NF ISO 7218)

Cette méthode de référence, consiste à rechercher et dénombrer des Staphylocoques à coagulase positive dans des eaux, par filtration sur membrane.

On entend par Staphylocoques à coagulase positive, bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positif ; sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, possédant l'enzyme catalase et la coagulase. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37°C sur un milieu sélectif Chapman au mannitol ou Bird Parker.

L'espèce type du genre est *Staphylococcus aureus*, elle est pathogène et fortement redoutée.

Mode opératoire

La recherche de ces germes se déroule grâce à une filtration décrite précédemment toute, en transférant la membrane aseptiquement, à l'aide d'une pince stérile, sur la surface d'une plaque de gélose Chapman au mannitol préalablement préparée.

Cette dernière est incubée couvercle en bas à 37°C pendant 48 heures.

Lecture

Après l'incubation, les colonies spécifiques de staphylocoques sont représentées sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers, pigmentées soit en jaune

(Fermente le mannitol) ou blanc (ne fermente pas le mannitol).

Prendre quelques colonies et établir les deux tests complémentaires à l'identification de ses bactéries :

- Test de la catalase

En mettant en contact la colonie avec de l'eau oxygénée si elle est dotée de cette enzyme il y aura apparition des bulles.

- Test de coagulase

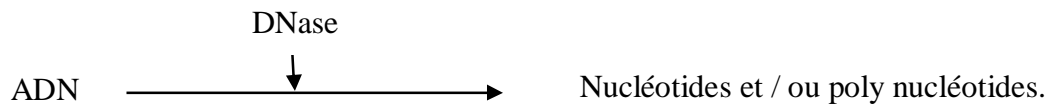
Prélever des colonies et les mettre dans le bouillon BHIB et incuber à 37°C pendant 24 h. Après incubation, ajouter stérilement 0,1 ml de cette culture à 0.3 ml de plasma de lapin ou plasma humain le taux de prothrombine (TP) est à 100% contenue dans un tube stérile puis incuber de nouveau à 37°C pendant 2 à 6 heures.

Examiner la coagulation du plasma sinon ré-incuber et examiner de nouveau après à 24 h.

Considérer que la réaction de coagulase est positive s'il y a formation d'un coagulum.

- Test d'une désoxyribonucléase (DNase)

Certaines bactéries élaborent une exo-enzyme capables hydrolyser l'acide désoxyribonucléique (ADN) qui est dite la désoxyribonucléase (DNase).



La mise en évidence de la DNase consiste à cultiver la souche en présence d'ADN et à détecter l'hydrolyse éventuelle de l'ADN grâce au bleu de toluidine qui a la propriété de se colore en rose en présence des produits d'hydrolyse de l'ADN.

Technique (voir figure :29)

Ensemencer la gélose à l'ADN par une strie de 1 à 2 cm au milieu de la boîte avec une pipette pasteur stérile.

- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures en position retournée.
- Recouvrir la gélose de bleu de toluidine. attendre 5 à 10 min.

Lecture

- Halo rose autour de la culture : cette couleur montre l'absence d'ADN qui a été hydrolysé par la DNase, donc la souche est DNase (+).
- Absence de l'halo rose autour de la culture, le milieu est restée bleu autour de la strie centrale, cela indique l'absence de la dégradation d'ADN, donc la souche est dite DNase (-).

La figure 29 suivante illustre les étapes citées :

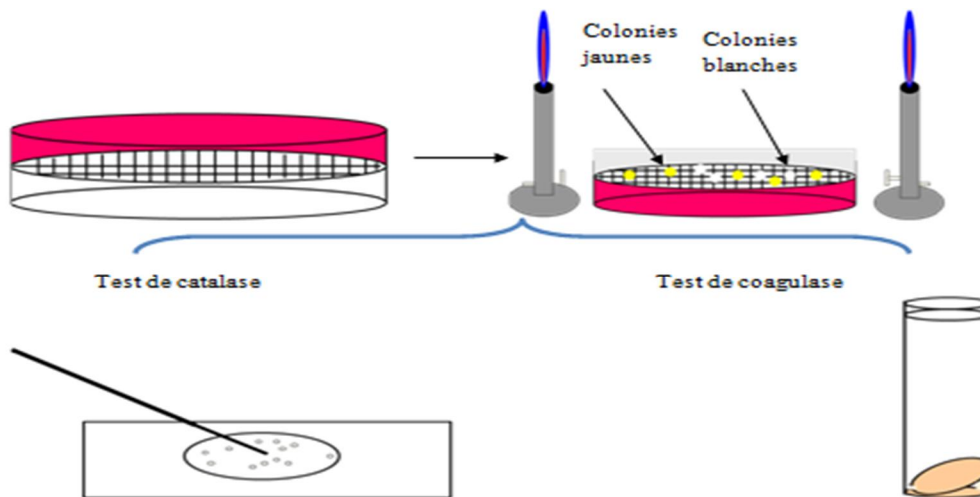


Figure 29 : Recherche des staphylocoques à coagulase positive par filtration sur membrane (Norme NF ISO 7218). (Réaliser par nous-même)

3-7-Isolement des *Pseudomonas* (Norme NF EN 12780)

• Méthode par filtration

Cette technique consiste à rechercher de *Pseudomonas aeruginosa* dans des eaux destinées à la consommation humaine, par filtration sur membrane.

On entend par *Pseudomonas aeruginosa* ; une bactérie qui est présente sous forme de bacille Gram négatif et dite bacille pyocyanique, possédant l'enzyme de l'oxydase et capable de produire de l'ammoniac à partir de l'acétamide. Cette dernière est hautement pathogène et résistante à plusieurs antibiotiques et impliquer dans divers pathologies.

Mode opératoire (voir figure : 30)

La recherche de cette bactérie se fait par la méthode de filtration sur membrane, en transférant aseptiquement à l'aide d'une pince stérile la membrane et déposer sur une plaque de gélose cétrimide préalablement préparée. Cette dernière est incubée couvercle vers le bas à 37°C pendant 48 h.

Lecture

Après l'incubation :

- Les colonies pigmentées en bleu vert donc productrices de pyocyanine sont considérées comme des colonies de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Les colonies qui présentent une fluorescence sous UV (colonies non pigmentée), nécessitent une confirmation basée essentiellement sur leur repiquage sur une gélose nutritive inclinée puis sur un bouillon d'acétamide, incubé à 37°C pendant 24h.
- après incubation, l'ajout de quelques gouttes du réactif nessler afin de mettre en évidence de la production de l'ammoniac à partir de l'acétamide qui se présente par une décoloration du bouillon du marron au jaune. Ces colonies sont considérées comme des colonies de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Les colonies présentant une pigmentation brun rougeâtre sans fluorescence, nécessitent une confirmation basée sur le repiquage sur une gélose nutritive plus un bouillon à l'acétamide. Même procédé utilisés pour les colonies non pigmentés ainsi qu'il faut établir le test d'oxydase et le repiquage sur la gélose inclinée King B et soumettre au UV. Les colonies qui produisent de l'ammoniac ainsi que celles présentant une fluorescence sous UV et une réaction positive d'oxydase, celles – ci sont considérées comme des colonies de *Pseudomonas aeruginosa*.

La figure 30 suivante illustre les étapes précédentes :

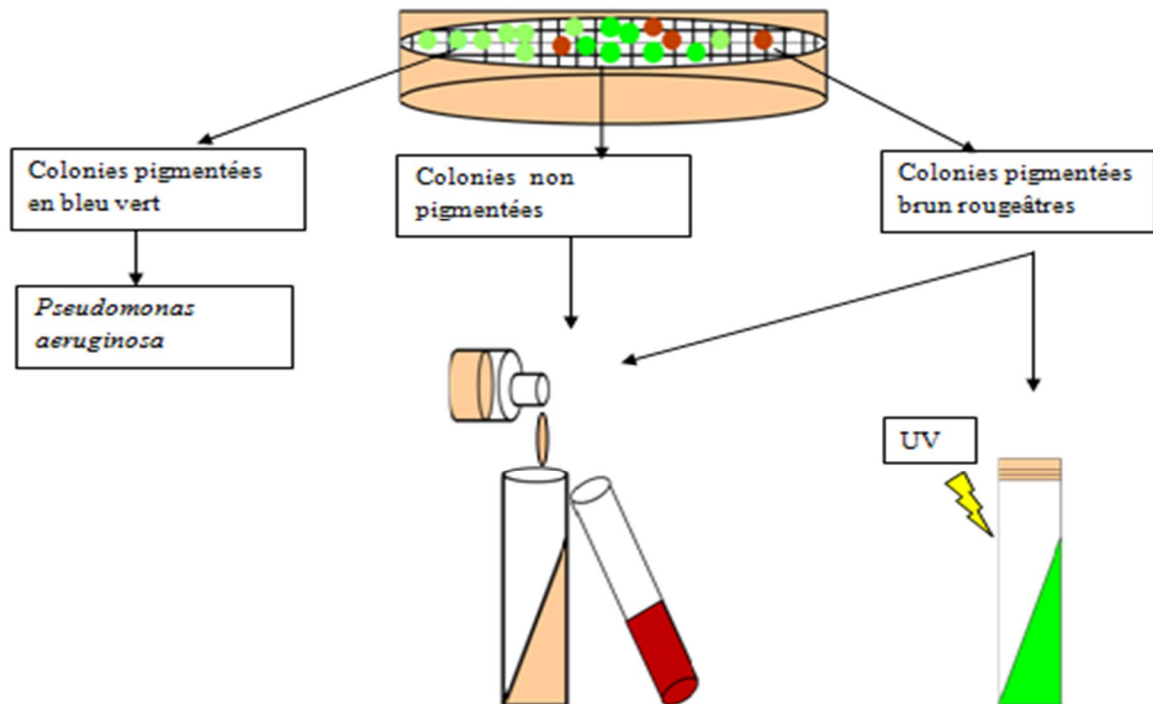


Figure 30 : Recherche des *Pseudomonas aeruginosa* par méthode de filtration sur membrane (Norme NF EN 12780). (Réaliser par nous-même)

3-8- Isolement du vibriion cholérique (Norme ISO / TS 21872-1)

Cette technique consiste à rechercher de *Vibrio cholera* dans des eaux usées, par filtration sur membrane.

On entend de *Vibrio cholera*, une bactérie qui est présente sous forme de bacille incurvé à Gram négatif.

- **Mode opératoire** (voir figure : 31)

- Verser 450ml dans un flacon d'eau peptonée alcaline dans le but d'effectuer un pré-enrichissement puis incubé à 24h à 37C.
- Après incubation, transférer 1 ml du bouillon d'enrichissement dans 10 ml d'eau peptonée alcaline (enrichissement).
- Après incubation, on ensemence une plaque de gélose GNAB à partir du bouillon d'enrichissement, incubé à 37°C pendant 24h.

Lecture

Apparition de colonies plates et transparentes. La présence de colonies typique de *Vibrio* sur les milieux gélosés sélectifs n'est pas une preuve suffisante de la présence de cette bactérie, il faut établir l'identification morphologique (état frais, coloration de Gram) et une mini galerie biochimique (test d'oxydase, LDC, ODC et ADH) ainsi qu'un repiquage sur le milieu KIA et une GN inclinée en stries et incubé à 37°C pendant 24h.

La confirmation de la présence de ce germe nécessite l'établissement d'un test d'agglutination avec de l'eau physiologique et le sérum polyvalent

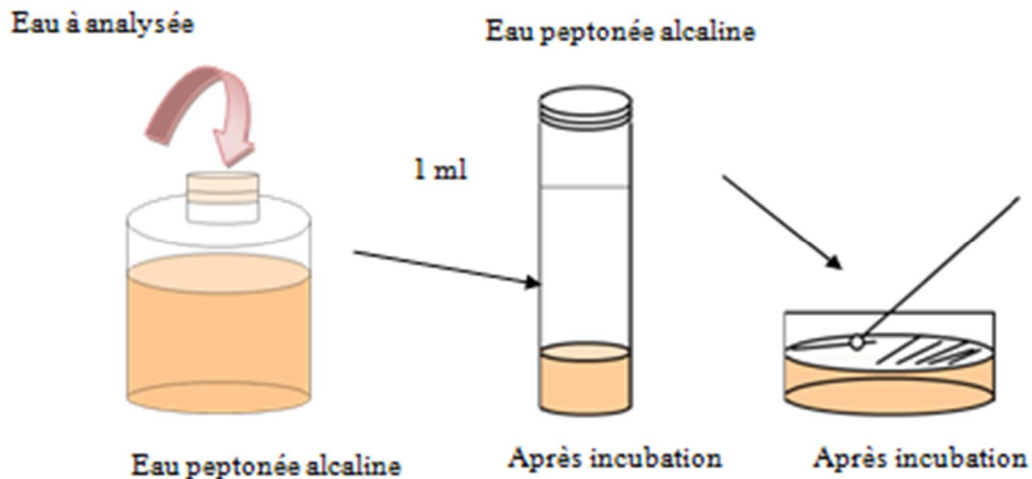


Figure 31: Recherche des *Vibrio* par méthode de filtration sur membrane (Norme ISO / TS 21872-1).

4- Isolement des bactéries

4- 1- Identification des isolats

L'identification est basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques :

- Etude macroscopique.
- Etude microscopique.
- Etude biochimique.

4-1-1- Etude macroscopique

Cette technique consiste à effectuer une observation à l'œil nu des colonies des souches bactériennes isolées afin de déterminer les caractères suivants :

- Forme ;
- Relief ;
- Contour ;
- Consistance ;
- Surface ;
- Opacité ;
- La couleur ;

- Centre ;

4-1-2- Etude microscopique

Dans notre étude, seule la coloration de Gram a été réalisée, elle est associée à l'analyse de la forme et l'arrangement spécifique des bactéries et la composition pariétale de ces dernières. Pour cela on procède à l'établissement d'un frotti bactérien comme suite :

Si la souche bactérienne est :

* en milieu liquide : le prélèvement est déposé directement sur la lame de verre préalablement dégraissée.

* sur milieu solide : on dépose d'abords une goutte d'eau puis le prélèvement est délayé dans cette goutte d'eau.

- On étale la souche bactérienne en une couche mince et homogène.
- Le frottis est séché par passage au-dessous de la flamme.
- Le frotti est fixé par la chaleur par passage de 4 ou 5 fois dans la flamme.

Principe de la coloration de Gram :

Elle repose sur une différence fondamentale de composition et de structure de la paroi.

Elle consiste à traiter un frottis bactérien fixé à la chaleur par une solution de violet de Gentiane par une solution iodo-iodurée (Lugol) : un complexe de colorant teint les cellules. Celle-ci sont soumises ensuite à l'action d'un solvant organique, l'éthanol.

Les cellules réagissent de deux façons et forment deux groupes :

- Les une dites à Gram négatif se décolorent rapidement : les lipides de la paroi bactérienne se dissolvent et rendent celle-ci poreuse, provoquant ainsi la décoloration du cytoplasme.
- Les autre conservent leur coloration violette et sont dits à Gram positif : l'éthanol ne décolore pas la cellule car à paroi est de composition en majorité protéinique.

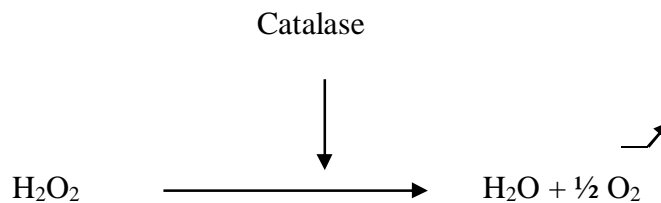
Mode opératoire

- Recouvrir le frottis avec le colorant primaire : le violet de gentiane et laissé agir 1mn.
- Rejeter le colorant sans laver, recouvrir avec le Lugol (fixateur), laissé agir 45 secondes.
- Rejeter le Lugo, et recouvrir une seconde fois avec le Lugo : laisser agir 45 secondes ;
- Décolorer à l'alcool pendant 30 secondes ;
- Rincer à l'eau courante afin de neutraliser l'action de l'alcool ;
- Recouvrir le frottis avec la Fuschsine et laisser agir 1mn ;
- Laver à l'eau courante jusqu'à ce que les eaux de rinçage ressortent claires ;
- Sécher la lame, et observer à l'immersion (G-1000) ;

4-1-3- Etude biochimique

a-Test de la catalase

La catalase est enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes, aéro-anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) formé au cours des réactions d'oxydation. Cette enzyme catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui se dégage selon l réaction (Singleton ,2005).



Technique

- Sur une lame propre, déposer une colonie prélevée à l'anse
- Ajouté une goutte d'eau oxygénée. Observer immédiatement le résultat.

Résultats

- Apparition de bulles d'oxygène, l' H_2O_2 est donc dégradé en H_2O et O_2 . La bactérie possède une catalase, elle est dite catalase (+).
- Pas d'apparition de bulles d'oxygène, H_2O_2 n'est donc pas dégradé en H_2O et O_2 : la bactérie ne possède pas de catalase, elle est dite catalase (-).

b-Test de l'oxydase

Le cytochrome oxydase ou oxydase est une enzyme qui permet à la bactérie d'utiliser pour sa croissance l'oxygène ambiant. Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore le N-diméthyle-paraphénylène diamine (PDA) en un dérivé rose violacé. Ce test est essentiel pour continuer l'identification des bacilles à Gram négatif. (Singleton ,2005).

Technique

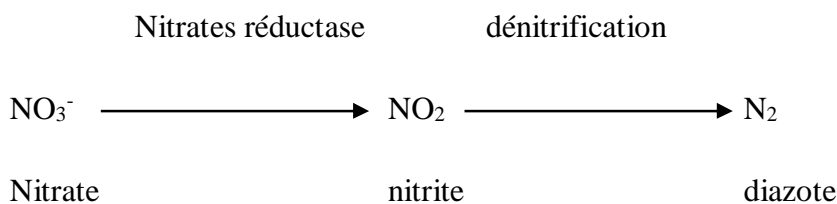
- Utilisation d'un disque imprégné par le réactif dans un tube contenant la suspension bactérienne dans de l'eau physiologique.
- Observer immédiatement le résultat.

Résultat

- Apparition d'une coloration rose violacée : oxydation du réactif, souche oxydase (+).
- Absence de coloration rose violette : absence d'oxydation de réactif, souche oxydase (-).

c- Test de nitrate réductase

En l'absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie. Ces bactéries peuvent utiliser un accepteur d'électrons autre que l'oxygène, le nitrate est l'accepteur le plus utilisé. Cette respiration anaérobie est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne. La réaction de réduction des nitrates en nitrites est catalysée par la nitrate réductase (Singleton ,2005). Parfois, certaines bactéries peuvent poursuivre cette réduction jusqu'à une dénitrification selon :



Technique

- Après une incubation de 24h à 37°C d'un tube de bouillon nitraté ensemencé, la mise en évidence des nitrites dans le milieu se fait grâce à l'utilisation du réactif de Griess. Il est composé de deux réactifs :
 - Réactif 1 : acide sulfanilique
 - Réactif 2 : α -Naphthylamine
- Ajouter à la surface du milieu 3 gouttes du réactif 1, puis 3 gouttes du réactif 2. Mélanger puis observer.

Résultats

- Coloration rouge, le réactif de Griess à réagit avec le nitrite. La bactérie a donc réduit les nitrates en nitrite, elle possède donc la nitrate réductase, elle est dite NR (+)
- Pas de coloration : absence de nitrite mais ne signifie pas obligatoirement que la bactérie traitée ne possède pas de nitrate réductase très active qui est capable de réduire les nitrates jusqu'au stade di-azote N_2 .

En l'absence de nitrite, on va chercher la disparition des nitrates par addition de poudre de zinc qui réduit les nitrates en nitrites.

- Coloration rouge : transformation des nitrates en nitrites par le zinc, donc présence des ions nitrites dans le milieu : la bactérie ne possède pas de nitrate réductase, elle est dite NR (-).
- Pas de coloration rouge : il n'y a plus de d'ions nitrates dans le milieu pour réagir avec le zinc, les nitrates ont été transformé par la bactérie au-delà des nitrites, donc la bactérie possède une nitrate-réductase très active qui a consommé tous les ions nitrates, elle est dite NR (+).

d- Test de la voie d'attaque des glucides (MEVAG)

Les bactéries utilisent les glucides suivant deux voies métaboliques :

- Une voie oxydative : en présence d'oxygène, le glucide est oxydé en CO_2 , par le dioxygène (ou un autre oxydant minéral)
- Une voie fermentative : en absence d'oxygène ou en faible tension d'oxygène, le glucide est transformé en acides, alcools qui sont libérés dans le milieu qu'ils acidifient sensiblement.

Pour déterminer la voie d'attaque dans le milieu des glucides (glucose en particulier) par les bactéries à Gram négatif, on utilise le milieu MEVAG (Milieu d'Etude de la voie d'Attaque des glucides) contenant un indicateur de pH (rouge phénol) (Singleton ,2005).

Technique

- Ensemencer par piqure central deux tubes de milieu MEVAG ;
 - Recouvrir l'un des deux tubes d'une couche d'environ 1-1.5 cm d'épaisseur de vaseline stérile pour mettre en évidence le rôle de l'oxygène.
 - Incubé à 37°C pendant 18 à 24h.

Résultats

- Virage au jaune dans les deux tubes, acidification dans les deux tubes : la bactérie utilise la voie oxydative, fermentative.
- Virage au jaune donc acidification que dans le tube sans vaseline : la bactérie utilise la voie oxydative

e- Test de Mannitol-mobilité

Le Mannitol est un polyalcool. Sa dégradation conduit à la formation du fructose qui est lui-même dégradé en acides à chaînes courtes. Le milieu Mannitol-mobilité permet de rechercher simultanément la mobilité et l'utilisation du Mannitol :

- La fermentation du Mannitol : les bactéries mannitol (+) acidifient le milieu qui vire au jaune (virage d'un indicateur coloré, le rouge phénol).
- La mobilité : du fait de la faible teneur en agar du milieu (gélose molle), les bactéries mobiles peuvent s'y déplacer (Singleton ,2005).

Technique

- Ensemencer le milieu par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit).
- Incubation à 37°C durant 18 heures

Résultats

- Fermentation du mannitol
 - Coloration jaune, virage du rouge de phénol, acidification du milieu : utilisation du mannitol souche Mannitol (+).
 - Milieu rouge, pas de virage du rouge phénol au jaune, pas d'acidification : souche Mannitol (-).
- Caractères mobilité :
 - Répartitions des colonies dans toute la gélose : les bactéries sont mobiles.
 - Développement uniquement dans la piqûre centrale : les bactéries sont immobiles.

f- Dégradation des sucres milieu Triple Sugar Iron (TSI)

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des Entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production du sulfure d'hydrogène. Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune l'indicateur pH (rouge de phénol) (Singleton ,2005).

Technique

- La pente du milieu TSI estensemencée par strie serrées et le culot par piqure centrale, puis incubation à 37°C pendant à 24 h, capsules desserrées de manière à favoriser les échanges gazeux.

Résultats

- Fermentation de glucose
- Culot jaune : glucose fermenté, glucose (+).
- Pas de virage de couleur : lactose et saccharose non fermentés, lactose et saccharose (-)
- Production d'H₂S : formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

g- Test d'OrthoNitroPhényl Galactopyranoside (ONPG)

Ce test particulièrement important pour les Entérobactéries, consiste à rechercher la présence d'une enzyme du métabolisme du lactose, la β -galactosidase. Le lactose est source de carbone

d'énergie pour les bactéries. La dégradation du lactose par les micro-organismes passe par sa transformation en glucose (Singleton ,2005). Cette dernière n'est possible que si ces microorganismes possèdent :

- Le lactose perméase qui permet la pénétration du lactose au travers de la membrane plasmique ;
- Une β -galactosidase qui catalyse son hydrolyse en glucose et galactose.

La β -galactosidase peut être mise en évidence facilement car elle est capable d'hydrolyser toute molécule analogue du lactose telle que l'ONPG (OrthoNitroPhényl Galactopyranoside). L'ONPG permet, lorsque la bactérie est lactose (-) de trouver s'il y a présence d'une β -galactosidase que l'on reconnaît grâce à la coloration en jaune du milieu.

Technique

- Réaliser une suspension épaisse de bactéries prélevées obligatoirement sur milieu lactose solide, dans de l'eau physiologique ou de l'eau distillé.
- Ajouter avec une pince flambée puis refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- Incubé à 37°C.

Résultats

- Apparition d'une coloration jaune : la bactérie possède donc β -galactosidase, elle est dite ONPG (+), β -galactosidase (+).
- Pas d'apparition d'une coloration jaune : la bactérie ne possède pas la β -galactosidase, elle est ONPG (-), β -galactosidase (-).

h- test du Citrate de Sodium

Certains Entérobactéries sont capables d'assimiler le citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie et la recherche de cette propriété se fait avec le milieu de Simmons au Citrate de Sodium. Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone ; le citrate. Les bactéries possédant l'enzyme citratase sont capables de se développer sur ce milieu. La bactérie qui utilise le citrate, alcalinise le milieu, ce qui fait virer l'indicateur de pH de couleur verte au bleu en milieu basique (bleu de bromothymol) (Singleton ,2005).

Technique

- Ensemencer le milieu qui se présente sous forme de gélose incliné en strie longitudinale à partir d'une suspension de culture solide en eau distillée stérile.
- Incuber à 37°C pendant 24h.
- Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu, la souche est citrate (+).
- Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas eu alcalinisation (le milieu ne présente pas de culture) la souche est citrate (-).

I - Tests de rouge méthyle et Voges- Proskauer (RM et VP)

Le milieu Clarck et Lubs permet de rechercher les voies fermentaires des Entérobactéries et de différencier la fermentation par la voie des acides mixtes et la fermentation par la voie du butylène glycol

Mise en évidence de l'utilisation de la voie butylène glycol pour fermenter le glucose (fermentation butanediolique) :

La réaction de Voges-Proskauer (VP) permet de mettre en évidence la production d'acétoïne (ou 3-hydroxy-butanone) au cours de la fermentation butylène glycolique. En présence d'une base forte (soude ou potasse) et d' α -naphtol, l'acétoïne donne une coloration rouge (Singleton ,2005).

Technique

- Ensemencer un milieu Clarck et Lubs avec quelques gouttes de suspension bactérienne.
- Incuber 24 à 48h à 37°C.
- Après vérification de la culture (trouble du milieu), transférer une partie de la culture dans un autre tube : l'un des deux tubes servira au test RM et l'autre au test VP.
- Test RM : ajouter 2 gouttes de solution de rouge de méthyle à 2.5% dans de l'éthanol.
- Test VP : ajouter à 1 ou 2 ml de bouillon, environ 0.5 ml de solution d' α -naphtol et 1 ml de solution soude (ou potasse) diluée (16%).

Résultats

- Test RM : immédiatement après avoir rajouté le RM
- Coloration rouge, milieu acide, fermentation du glucose par la voie des acides mixtes (production d'acides forts) : souche (RM+).
- Coloration jaune, milieu alcalin pas de fermentation du glucose par la voie des acides mixtes : souche RM (-).
- Test VP : agiter et incliner le tube pour favoriser l'oxygénation du milieu
- Coloration rouge (en surface), présence d'acétoïne, fermentation du glucose par la voie butylène glycolique avec production d'acétoïne : souche VP (+)
- Pas de coloration rouge, absence d'acétoïne, pas de fermentation du glucose par la voie butylène glycolique (pas de production d'acétoïne) : souche VP (-).

j- Recherche des décarboxylases LDC et ODC et la dihydrolase ADH

Les décarboxylases bactériennes sont des enzymes qui dégradent les acides aminés. Trois de ces enzymes ont un intérêt pour l'identification bactérienne (différenciation des Entérobactéries et autre bacilles à Gram négatif) ; la lysine décarboxylase : LDC, l'ornithine, décarboxylase : ODC, l'arginine dihydrolase : ADH. Cette dégradation aboutit à la fermentation de produits basique ; l'alcalinisation du milieu est révélée par un virage de l'indicateur de pH à sa teinte basique (violette) (Singleton ,2005).

La recherche de ces trois enzymes se fait sur le milieu de Moeller. Il existe quatre milieux de Moeller :

- Milieu de Moeller+ Lysine
- Milieu de Moeller + Omithine
- Milieu de Moeller + Arginine
- Milieu de Moeller témoin sans acide aminé

Technique

- Ensemencer chaque milieu contenant l'acide aminé dont on veut étudier la décarboxylation et un indicateur de pH (BCP, pourpre de bromocrésol) ainsi que le milieu de Moeller témoin avec quelques gouttes de suspension de la culture à étudier. Agiter et si le tube n'est pas plein, le recouvrir par de la vaseline stérile afin de placer le milieu en anaérobie. Incuber à 37°C pendant 24h.

Résultats

- Virage au jaune, acidification du milieu liée à l'utilisation du glucose. Le substrat (arginine ; lysine ou ornithine) n'a donc pas été dégradé : la bactérie ne possède pas LDC ou l'ODC ou l'ADH, elle est dite LDC(-) ou ADH (-) ou ODC (-).
- Virage au violet, acidification du milieu liée à la fermentation du glucose puis il y eu ré-alcalinisation du milieu liée à la dégradation du substrat (arginine ; lysine ou ornithine) par la bactérie : la bactérie possède la LDC ou l'ODC ou la ADH, elle est dite LDC (+) ADH (+) ou ODC (+).
-

k- Recherche de l'Uréase, de l'Indole et de la tryptophanase désaminase (TDA)

Il existe des acides aminés qui peuvent être décomposés selon des réactions métaboliques particulières, comme le cas du tryptophane. Ces trois testes biochimiques permettent l'identification de germes, particulièrement les entérobactéries sur le milieu Urée tryptophane ou milieu urée indole.

- Recherche de l'Uréase : les Entérobactéries peuvent dégrader l'urée grâce à une Uréase en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique.
- Recherche de la TDA : certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à l'enzyme tryptophane désaminase (TDA) et cette dernière conduit à la désamination de cette acide aminé en produisant l'ammoniac et l'acide indole pyruvique. Ce dernier est révélé par l'apparition d'une couleur marron foncé en présence d'un réactif, le perchlorure de fer.
- Recherche de l'Indole : certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant de l'indole, de l'acide pyruvique et de l'ammoniac. Après addition du réactif de Kovacs, le diméthyl-amino-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu.

La recherche d'indole se fera dans un tube à part contenant le milieu eau peptonée exempte d'indole (Singleton ,2005).

Technique

- Faire une suspension bactérienne en milieu urée –indole. Incuber 24h à 37°C

Résultats

- Coloration rouge : urée (+)
- Pas de coloration (milieu rouge) : urée (-)
- Coloration marron foncée : TDA (+)
- Pas de coloration TDA (-)
- Formation d'un anneau rouge : indole (+)
- Pas de coloration rouge : indole (-)

5- Réalisation de l'Antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques, il sert également :

- A la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne
- A l'identification par la mise en évidence de résistances naturelles

Des disques imprégnés des antibiotiques à tester sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (milieu de Mueller-Hinton) préalablementensemencé avec une dilution calibrée de la souche. Ensuite, observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci (CACFM, 2018).

• Technique standardisée (voir figure : 32)

- Repiquage à partir du milieu sélectif de différentes souches sur milieu BHI (Brain heart infusion) et les incuber à 37 °c pendant 18heures afin d'obtenir des souches jeunes.
- Après 18 heures, réaliser une suspension bactérienne, en prélevant à l'aide d'une pipette pasteur stérile une colonie à partir du milieu BHI, puis l'introduire dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile.
- Ajuster l'inoculum à environ 10^7 UFC par ml correspondant à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 (l'absorbance à 625 nm) Ajuster si nécessaire la DO par prise d'une nouvelle colonie pour concentrer l'inoculum ou par ajout d'un volume d'eau physiologique pour diluer, jusqu'à obtention de la DO voulue.

- Ensemencement des boîtes de 90mm par écouvillonnage, on plongeant l'écouvillon stérile dans la suspension ajustée, ensemercer la boîte en frottant l'écouvillon sur toute la surface de la gélose et en tournant la boîte trois fois afin d'obtenir un tapis de colonies jointives
- Déposer les disques fermement à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide, puis incubé à 37°C pendant 24h (incuber en anaérobiose si nécessaire) (CACFM, 2018).

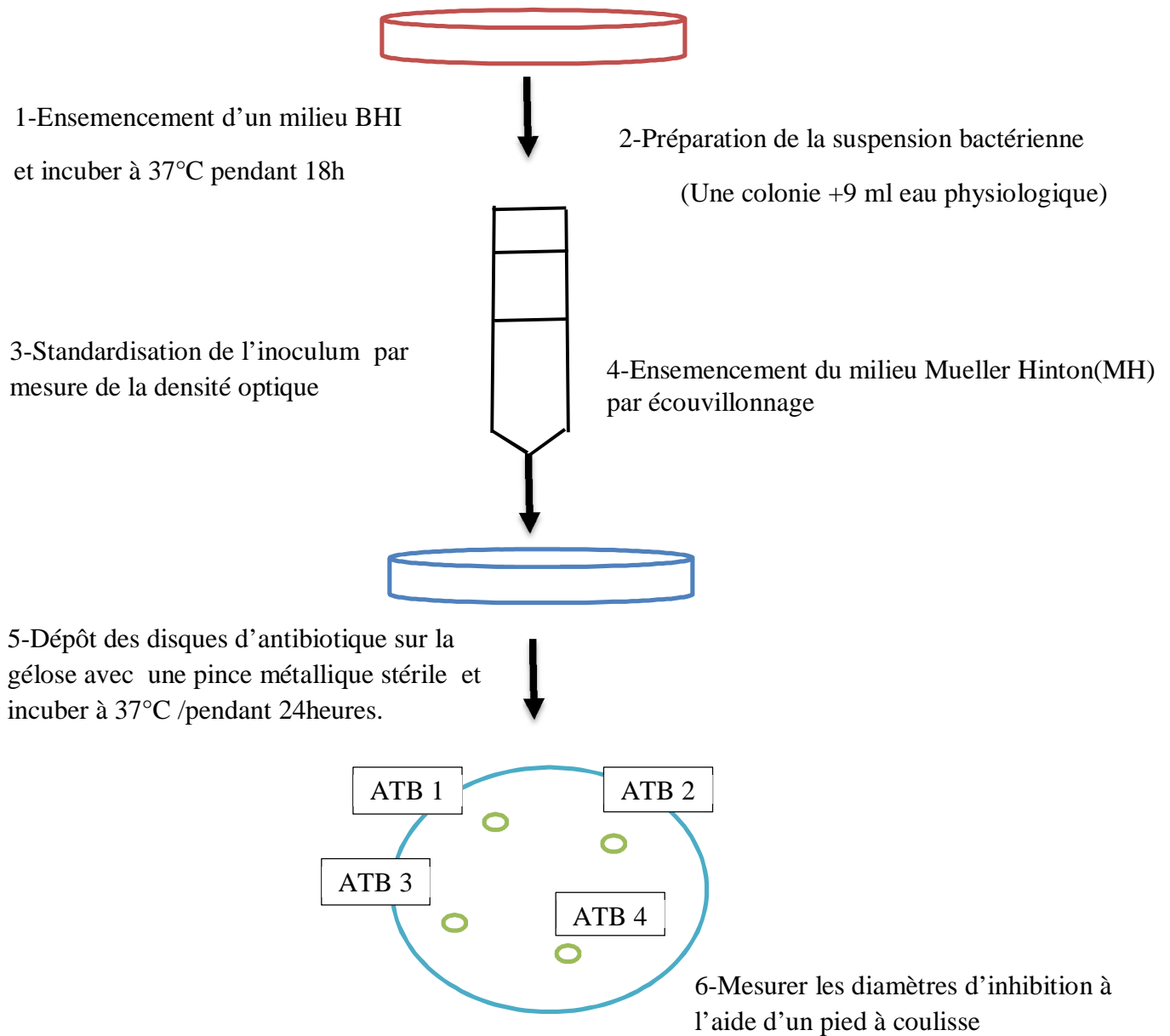


Figure 32 : Schéma représentatif des étapes cruciales pour la réalisation de l'antibiogramme (CACFM, 2018). D'après les tableaux cités ci-dessous, on remarque que le diamètre d'inhibition varie selon l'antibiotique testé et la souche isolée. (Réaliser par nous-même)

Le diamètre d'inhibition obtenu autour du disque d'antibiotique est comparé à deux diamètres critiques correspondant aux concentrations critiques, ces derniers sont proposés par le Comité de l'Antibiogramme de la société française de Microbiologie (CA-SFM), en fonction des données bactériologique, pharmacocinétiques et cliniques disponibles.

Les bactéries sont ainsi définies comme résistantes, sensibles ou intermédiaires (si le diamètre est compris entre les deux valeurs critiques).

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro :

1. Souches sensibles (S)

Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie générale ou orale.

2. Souches résistantes (R)

Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.

3. la catégorie intermédiaire (I)

Les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le diamètre est supérieur au diamètre critique bas et inférieur ou égale au diamètre critique haut.

Le diamètre d'inhibition obtenu autour du disque d'antibiotique est comparé à deux diamètres critiques correspondant aux concentrations critiques, ces derniers sont proposés par le Comité de l'Antibiogramme de la société française de Microbiologie (CA-SFM), en fonction des données bactériologique, pharmacocinétiques et cliniques disponibles.

Les antibiotiques utilisés sont cités dans le tableau ci-dessous (voir tableau XII)

Cette liste d'antibiotique est triée selon leurs disponibilités, nous avons aussi sélectionné un ou plusieurs antibiotiques par famille.

Tableau XII : liste d'antibiotiques utilisés et leurs abréviations

Familles	Antibiotiques	Abréviation	Charge
Glycopeptides	Vancomycine	VA	30mcg
Aminosides	Gentamicine Kanamycine	HLG K	120mcg
Macrolides	Erythromycine	E	15mcg
Phénicolés	chloramphénicol	C	30mcg
Quinolones	Levofloxacin	LE	5mcg
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30mcg
Polypeptides	Colistine	CL	25mcg
sulfamides	Co-trimoxazole	COT	25mcg
Rifamycine	Rifampicine	RIF	30mcg
β-lactamines	Amoxicilline	AX	25 mcg
β-lactamines	Pénicilline G	P	10 IU
β-lactamines	Céfotaxime	CTX	30 μ g
β-lactamines	Ampicilline	AM	30 μ g

6- Analyse parasitologique

L'analyse parasitologique des eaux usées déversées a été réalisé selon deux techniques simples : Examen microscopique sans coloration et avec coloration (état frais et l'état coloré)
L'examen microscopique permet de dépister les œufs et larves d'helminthes, les kystes, formes végétatives d'amibes et flagelles

• Prélèvement

le prélèvement a été réaliser au niveau du site de point de prélèvement de l'eau épurée c'est –à-dire à la sortie de la station d'épuration : un échantillon de volume 1l a été recueillis dans une bouteille en verre préalablement stérilisée et transporter au frais au laboratoire dans une glacière

- **Examen microscopique**

- **Préparation de l'état frais** selon (Zouag et *al.* , 2017)

A l'état frais sans Lugol, toutes les formes de parasites sont observées, pour mener à bien l'observation nous avons procédé comme suite :

Nous avons procédé au préalable à une concentration de l'échantillon à analyser par une centrifugation de 20 ml d'eau prélevée, à une vitesse de 5000 tours /minutes à 4°C pendant 5 minutes.

Déposer la goutte de culot de concentration, pour laquelle on ajoute une goutte de Lugol et recouvrir ensuite avec une lamelle (éviter la formation de bulles d'air), et examiner au microscope photonique au grossissement faible ($\times 10$), puis moyen ($\times 40$). En faisant des mouvements en zig zag.

- **Préparation de l'état coloré**

La préparation de la lame s'effectue de la même façon que celle décrite ci-dessus. Seulement, cette fois-ci, une goutte de l'eau à laquelle on rajoute une goutte de Lugol, puis on recouvre d'une lamelle.

Tableau XXIII : Représentatif des résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir de l'eau brute (première analyse)

TEST	B13	B19	B7	B6	B2	B23	B25	B21
CAT	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
NIT	(+)	(+)	(+)(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
MAN	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
MEVAG	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
MOB	imb	mob	mob	mob	mob	imb	imb	mob
GLUC	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
LAC/SAC	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
GAZ	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
H2S	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
ONPG	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
CIT	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
RM	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
VP	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
ODC	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
LDC	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
ADH	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
T	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(+)	NE
UREE	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
INDOL	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
TDA	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
Oxydase	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	NE	(-)	(-)
ADNase	NE	NE	NE	NE	(-)	NE	NE	NE
Esculine	(+)	NE	NE	NE	(-)	(+)	NE	NE
Souches	Enterococcus sp.	B.cereus	V. cholera	Vibrio sp.	S.delphenii	Enterococcus sp.	K. pneumonie	P. mirabilis

Souches (*Enterococcus* sp., *Bacillus cereus* ; *Vibrio cholera* ; *Vibrio* sp. ; *Staphylococcus delphinii* ; *Enterococcus* sp. ; *Klebsiella pneumoniae* ; *Proteus mirabilis*) ; Mob : mobile
 Imb : immobile ; AA : aéro-anaérobie ; CAT : catalase ; Nit : Nitrate, MAN :mannitol ; MEVAG : étude voie d'attaque des glucide ; Gluc : glucose ; LAC : lactose ; Sac : saccharose ;
 H2S : sulfure d'hydrogène ; ONPG :Ornitrophényl-β-galactosidase .CIT : Citrate ; RM : Rouge méthyl ;TDA :tryptophane désaminase

Tableau XXIV : Représentatif des résultats de la galerie biochimique des souches isolées de l'eau épurée de la première analyse.

Test	E1	E2	E4	E3	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
CAT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
NIT	+	NE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NE	+
MEVAG	AA	AA	AA		AA	A	AA	AA	AA	NE	ANS	AA	AA
MAN	+	+	-		+	+	-	+	NE	NE	NE	+	-
MOB	IMOB	NE	MOB	IMOB	mob	MOB	MOB	IMOB	NE	NE	IMOB	MOB	MOB
GLU	+	NE	+		+	-	+	+	+	NE	+		+
LAC/SAC	NE	NE	-		+	-	-	-	+	NE	+		-
GAZ	NE	NE	-		-	+	+	-	+	NE	+	+	+
H2S	NE	NE	+	+	-	-	+	+	-	NE	+		+
ONPG	NE	-	-		+	-	-	-	+	NE	-		-
CIT	NE	NE	+		+	+	-	-	+	NE	NE	-	+
RM	NE	+	+		+	+	+	+	+	+	NE	-	+
VP	NE	-	-		-	-	-	-	-	-	NE	+	-
ODC	NE	NE	NE			NE	NE	NE	NE	NE	NE		NE
					NE								
LDC	NE	NE	NE		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE		NE
					NE								
ADH	NE	NE	NE		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	NE
					NE								
T	NE	NE	NE		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	NE
					NE								
UREE	NE	+	+	+	-	-	-	-	-	-	NE		+
INDOL	NE	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-		-
ADNase	NE	-						NE	NE	NE	NE	+	NE
			NE		NE		NE						
TDA	NE	+	+		NE	NE	+	NE	NE	-	-		+
					NE								
COAGULASE	NE	+				+		-	NE	NE	NE	+	NE
			NE		NE		NE						
OXYDASE	-	-	+	+	+	NE	-	NE	-	-	NE	-	NE
ESCULINE										+			
									NE				
Souche identifié	<i>C. diphtheriae</i>	<i>S. delphinii</i>	<i>B.cereus</i>	<i>B .melitensis</i>	<i>Vibrio</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>S. Typhi</i>	<i>S. sonneii</i>	<i>C. koseri</i>	<i>Enterococcus</i> sp	<i>C. perfringens</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. mirabilis</i>

Mob : mobile Imb : immobile ; AA : aéro-anaérobie ; CAT : catalase ; Nit : Nitrate, MAN : mannitol ; MEVAG : étude voie d'attaque des glucide ; Gluc : glucose ; LAC : lactose ; Sac : saccharose ; H2S : sulfure d'hydrogène ; ONPG :Ornitrophényl-β-galactosidase .CIT : Citrate ; RM : Rouge méthyl ;TDA :tryptophane désaminase

Corynebacterium diphtheriae ; *Staphylococcus delphinii* ; *Brucella melitensis*; *Bacillus cereus*; *Vibrio sp.*; *Pseudomonas sp*; *Salmonella Typhi* ; *Shigella sonnei* ; *Citrobacter koseri* ;
Enterococcus sp ; *Clostridium perfringens* ; *Staphylococcus aureus* ; *Proteus mirabilis*

1- Résultats

L'analyse de la qualité des eaux usées brutes et épurées est effectuée selon un suivi des paramètres physico-chimiques.

Le travail expérimental a été réalisé sur une période d'un mois allant du 02 mars jusqu'au 16 avril de l'année courante 2018, cela afin d'évaluer les performances de la station d'épuration Est de la ville de Tizi-Ouzou en matière d'abattement de la pollution de l'eau.

Les échantillons d'eaux usées ont été prélevés à l'entrée (point de prélèvement d'eau brute) et à la sortie (point de prélèvement d'eau épurée) puis conservés selon le guide générale pour la conservation et la manipulation des échantillons (ISO 1994) et le guide de bonne pratique (ISO 6060).

L'objectif de ce travail est de caractériser les eaux brutes et les eaux épurées de la station par l'analyse de certains paramètres physiques et chimiques quotidiens (Température, pH, turbidité, conductivité et MES) et hebdomadaires (DBO, DCO, NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- et PO_4^{3-}) afin de quantifier les taux de participation en phosphore et azote de l'effluent traitée de la station d'épuration on les comparant aux normes de rejet crée par l'OMS (2012).

Les résultats obtenus sont représentés sous forme d'un tableau XIII et d'histogrammes (figure 34 et 34) et dont lesquels les variables quantitatives ont été exprimées par la moyenne, comme suite :

Tableau XIII : paramètres physicochimique des eaux usées brute et traitées.

				Normes
Durée	02 /03/2018 – 16/04/2018			
Lieu de prélèvement	Entrée	Sortie	Unité	
MES	184,5 ± 81.64	7,3 ± 2,45	mg/l	30
pH	7,21 ±0.21	7,17± 0,07		6.5-8.5
Température	14,83 ±0.98	15,5 ± 0,71	°C	30°C
DCO	341,67± 72.67	43,2 ± 21,24	mg (O ₂)/l	90
DBO ₅	306 ± 58,92	10,8 ± 5,37	mg (O ₂)/l.	30
DCO/ DBO ₅	1,265 ± 0,13			
Ammoniaque	14,44 ±16,97	2,21 ± 2,35	mg /l	Azote total
Nitrates	0,29 ± 0,15	6,22 ±21,12	mg /l	50
Nitrites	0,58± 0,45	0,76±0,66	mg /l	
Turbidité	235,7± 78,84	8,7 ± 3,62	FTU	0 - 40
Phosphore	11,85 ± 6,81	4,88 ± 5,61	mg/l	2
Conductivité	840,4± 124,40	680,9± 155,11	Us/m	3

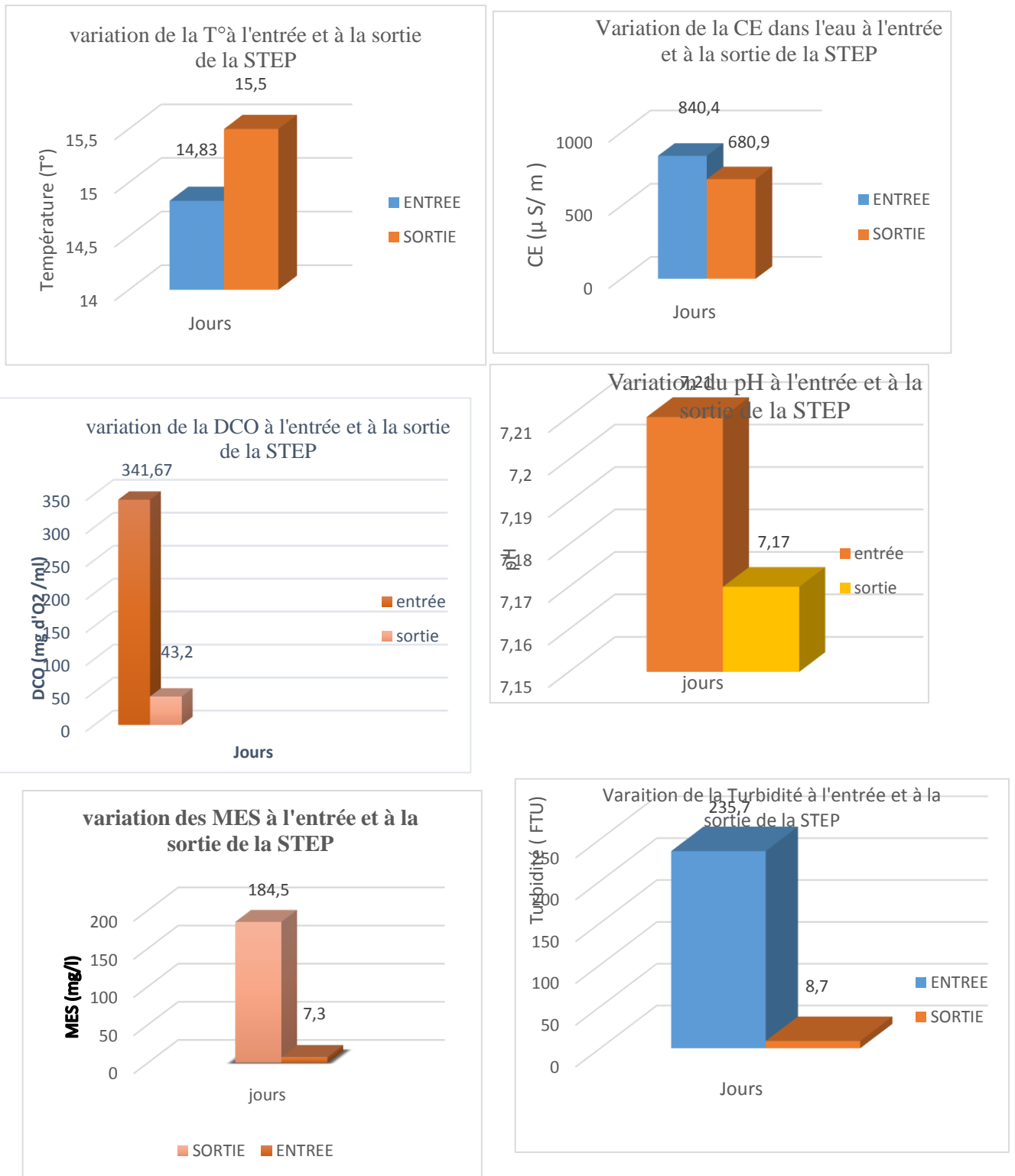


Figure 33: Résultats d'analyse physico-chimique

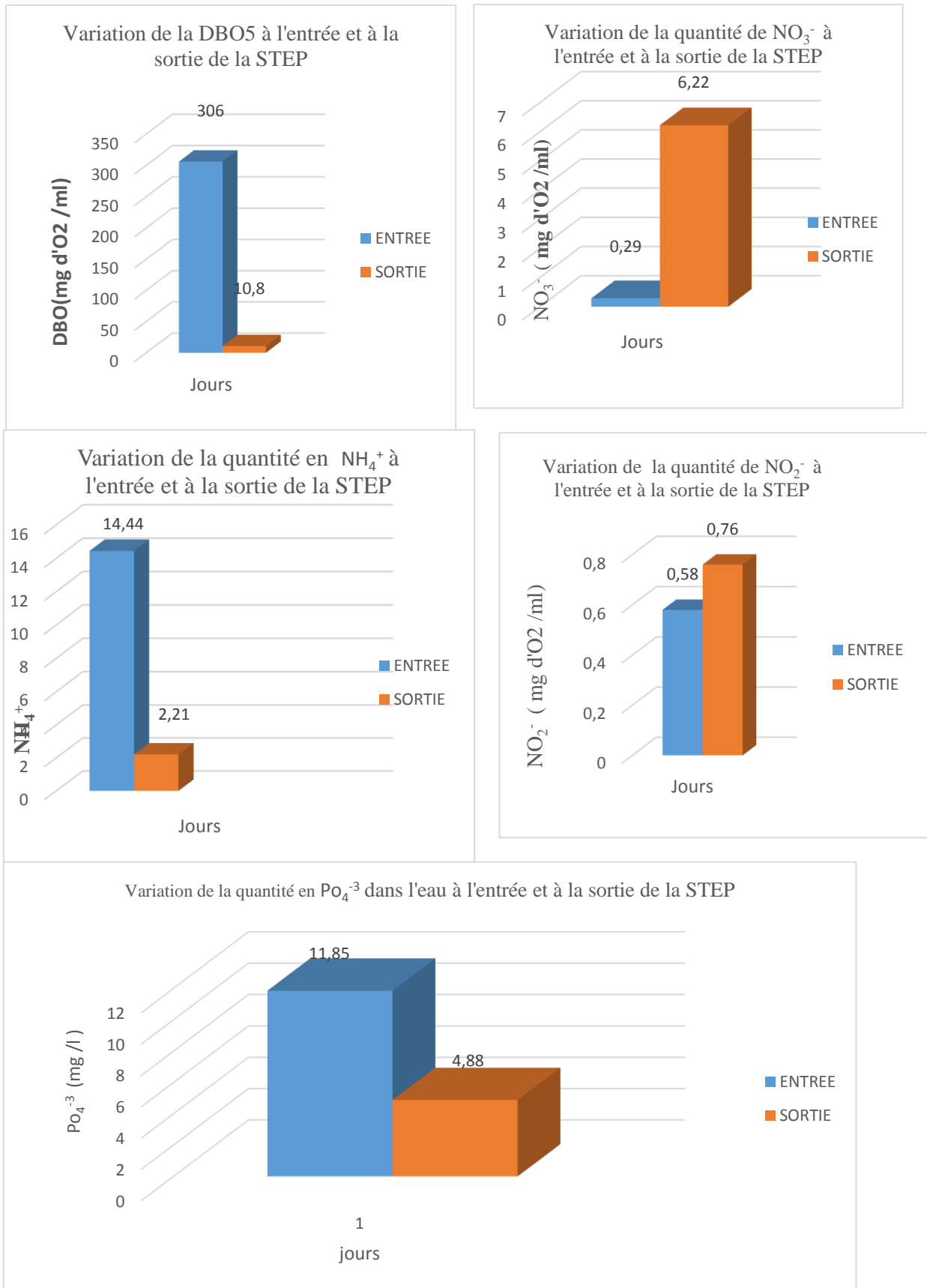


Figure34 : Résultats d'analyse physico-chimique

2- Interprétation des résultats physico-chimique

- **Température**

On a enregistré pour les eaux brute et traitée une température allant de 14.83 à 15.5°C qui est ne dépasse pas le seuil généralement indiqué pour les rejets des eaux résiduaires qui est de 30°C (journal officiel de la république algérienne, 2006) (OMS, 2003), donc elle respect la réglementation dictée par la République Algérienne. Ces résultats correspondent à ceux trouvé sur des effluents de la STEP Est pont de Bougie par (Meneceur et *al.*, 2013) et par (Achat et *al.*, 2002).

Ces résultats sont loin de ceux reportés par (Metahri ,2012) et qui semblent influencer significativement le phénomène de nitrification et dénitrification qui est optimale uniquement pour des température variant de 28°C à 32°C, par contre elle est fortement diminuée pour des température de 12 °C à 15°C et s'arrête pour des températures inférieure à 5°C(Metahri,2012).

Pour maintenir un bon traitement biologique : un équilibre entre la diminution de l'activité microbienne et la dégradation de la matière organique ; une recirculation de boues est nécessaire.

- **Potentielle hydrogène**

Le pH moyen noté pour les eaux épurées est de 7,12 qui est incluse dans l'intervalle préconisé par le journal officiel de la République Algérienne et les normes de l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 2003) qui est comprise entre (6,5- 8,4). Ces résultats sont conformes à ceux rapporté par (Metahri ,2012).

Cette valeur de pH joue un rôle important dans l'épuration d'un effluent, en effet la nitrification est optimale qu'a des pH compris entre 7,5 et 9.

En outre ce pH enregistré est favorable à la croissance et à la survie des microorganismes notamment les bactéries pathogènes et le dépérissement rapide des virus (OMS, 2012).

Selon l'OMS, l'épandage des eaux traitées alcalines sur des sols présentent des alcalinités appropriées, l'équilibre acide/base du sol n'est pas perturbé ; une valeur faible du pH influent sur la mobilité des métaux lourds dans le sol. Certaines cultures exigent des plages de pH spécifiques pour croitre de manière optimale.

- **Turbidité**

On enregistre des valeurs montrant la diminution significative de turbidité initiale qui est de 235,7 FTU jusqu'à une valeur finale qui est 8,7 FTU.

On enregistre pour les eaux épurées une turbidité de 8,7 FTU qui est nettement inférieur aux exigences fixées pour les eaux de rejet à une valeur de 20 FTU (JO, 2012), cela corrèle avec la diminution notable de la matière en suspension (MES).

Selon l'équipe technique dictée par le réseau Francophone sur l'eau et l'assainissement, une turbidité située entre 5 – 30 FTU correspond à une eau légèrement trouble.

Ces valeurs enregistrées sont loin de celles trouvées par (Laouini et *al.*, 2011) au niveau de la station d'épuration d'oued Souf (Ouargla).

Des valeurs réduites de turbidité à la sortie fait reflète le déroulement d'un bon traitement physico-chimique et biologique au niveau de la Station d'épuration des eaux usées de Tizi-Ouzou.

- **Conductivité**

Les valeurs de la conductivité à la sortie (0,00 68 DS/m) et à l'entrée (680,9Ds/m) varie légèrement et sont considérée basse par rapport aux valeurs préconisé par le journal officiel de la République Algérienne qui varie entre 0,7 – 3,0 DS/m. Cela témoigne d'une minéralisation faible de la matière organique. Ce résultat ne correspond à aucun degré de restriction à l'usage car elle n'entraîne pas des problèmes organoleptiques et sanitaires et diminue le risque de contamination des eaux de surfaces et les eaux souterraines.

- **La demande biochimique en oxygène (DCO)**

Les concentrations de la DCO à l'entrée et à la sortie de la STEP varie d'une manière significative allant de 341,67 mg/l jusqu'à 43,2mg/l respectivement.

La valeur enregistrée pour les eaux usées traitée est de 43,2 mg/l qui sont nettement inférieur à la limite (90 mg/l) dictée par le journal officiel de la République Algérienne(JO.2012).

Ces valeurs de la DCO trouvées sont nettement inférieures à celles obtenues l'issue d'une étude similaire réalisée par Metahri, (2012).

Ces valeurs enregistrées à l'entrée témoignent le déroulement d'un bon processus épuratoire (oxydation de la matière organique par voie chimique).

- **La demande biologique en oxygène (DBO₅)**

On enregistre une valeur de 10.8 mg/l qui est inférieure à la limite (30 mg/l) préconisée par le JO. (2012). Les valeurs de la DBO₅ enregistrées sont inférieures à celles obtenues à l'issue d'une étude

similaire réalisée par Metahri. (2012).

La valeur du rapport DCO/ DBO₅ indique le coefficient de biodégradabilité (K) d'un effluent, il permet aussi de définir son origine.

Le rapport DCO/DBO₅ ($k = 1,3$) qui est compris entre ($1,5 < k < 2,5$) ce qui indique des eaux usées épurées caractérisées par une pollution organique, donc notre effluent est d'origine domestique.

- **Les matières en suspension (MES)**

La représentation graphique montre une diminution significative de la quantité des MES : la concentration à l'entrée de la station est de l'ordre de 184,5 mg/l. Ces valeurs peuvent s'expliquer par la présence des pluies (ruissellement) qui enrichit les eaux usées en matière polluante. En amont de la STEP, la concentration des MES est nettement inférieure (7,3mg/l) à la valeur limite de la norme des rejets qui est fixée à 30 mg/l (OMS, 2003). Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par une étude similaire menée par (Meneceur et al., 2013) au niveau de la Station d'épuration des eaux usées de Tizi- Ouzou

On constate que la STEP présente un bon traitement en matière d'abattement de la pollution. Les matières en suspension ont un intérêt pour l'irrigation des cultures mais à des concentrations qui ne dépassent pas les normes de rejet, cependant une eau chargée en MES est susceptible d'induire le colmatage des sols et porter atteinte au fonctionnement d'un écosystème aquatique tout en réduisant la luminosité et augmentant la turbidité ; entraînant ainsi une chute en oxygène dissout et freinant le phénomène photosynthétique.

- **Variation des nitrates, nitrites et l'azote ammoniacal**

Les valeurs enregistrées pour l'azote total sont corrélées. A l'entrée de la station d'épuration, la concentration de l'azote ammoniacale est élevée, elle est de l'ordre de 14,44 mg/l contrairement à la concentration des nitrates qui est faible (0,29 mg/l), on note aussi une concentration de 0,58 mg/l de nitrites.

A la sortie, on remarque que les concentrations on azote ammoniacale diminue d'une manière significative (2,21mg/l) par rapport aux concentrations des nitrates qui cette fois-ci augmente jusqu'à l'atteinte d'une valeur de 6,22 mg/l, quant aux concentrations des nitrites qui reste proportionnellement constante aux valeurs initiales (0,76mg/l).

La valeur de l'azote total est inférieur à la limite préconisée (30 à 50 mg/l) par le journal officiel de la République Algérienne (JO, 2012) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2003), ces résultats trouvés sont conformes à ceux trouvés par (Achat et al., 2002) et (Meneceur et al., 2013)

L'élimination de l'azote est, le plus souvent, obtenue grâce à des traitements biologiques, de "nitrification-dénitrification" ou par échange d'ions. L'azote subit différentes transformations au cours d'un traitement biologique : passage de la forme nitreuse puis nitrique et de retour à la forme gazeuse. Chacun des composés formés au cours de ces différentes étapes à un poids moléculaire différent.

- **Phosphore**

Les concentrations enregistrées à l'entrée et à la sortie de la STEP varie significativement de 11,85 jusqu'à 4,88 mg/l respectivement.

Ces valeurs sont supérieures à la limite préconisée par l'OMS (2 mg/l), cela signifie que la valeur de rejet du phosphore est non conforme aux normes.

L'élimination du phosphore, ou "déphosphatation", peut être réalisée par des voies Physico-chimiques ou biologiques. La déphosphatation biologique consiste à provoquer l'accumulation du phosphore dans les cultures bactériennes des boues. Les mécanismes de la déphosphatation biologique sont relativement complexes, et leur rendement variable (en fonction notamment de la pollution carbonée et des nitrates présents dans les eaux usées). Dans les grosses installations d'épuration, ce procédé est souvent couplé à une déphosphatation physico-chimique, pour atteindre les niveaux de rejets requis.

Tableau XXVII : Représentatif des diamètres d'inhibition (mm ± écart type) des souches isolées dans l'eau brute pour la première analyse.

ATBs	Enterococcus	<i>B. cereus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>Vibrio sp.</i>	<i>S. delpheni</i>	Enterococcus	<i>K;</i> <i>pneumoniae</i>	<i>P, mirabilis</i>
RIF	75,00±0,00	24±0,00	21±0,00	13±0,00	10±0,00	28±0,56	11±0,00	15±0,00
va	33,00±0,00	8±0,00	13±0,00	9±0,00	2±0,00	17,5±0,07	2±0,00	5±0,07
AMP	2±0,00	2±0,00	10±0,00	2±0,00	6±0,00	47±0,07	15±0,00	24,5±0,21
CL	2±0,00	19±0,00	16±0,00	20±0,00	14±0,00	2±0,00	14±0,00	2±0,00
HLG	23±0,00	32±0,00	31±0,00	31±0,00	10±0,00	17±0,14	10±0,00	24±0,84
AX	9±0,00	2±0,00	8±0,00	2±0,00	2±0,00	14±0,28	2±0,00	20,5±0,63
P	20±0,00	2±0,00	4±0,00	2±0,00	2±0,00	15±0,70	2±0,00	14,5±0,07
E	2±0,00	5±0,00	2±0,00	2±0,00	2±0,00	2±0,00	2±0,00	10±0,00
LE	6±0,00	40±0,00	42±0,00	47±0,00	17±0,00	16,5±0,007	17±0,00	41,5±0,07
K	8±0,00	22±0,00	29±0,00	27±0,00	16±0,00	2±0,00	16±0,00	25±0,70
C	19±0,00	17±0,00	39±0,00	30±0,00	15±0,00	4,5±0,21	15±0,00	15±0,00
TE	2±0,00	30±0,00	28±0,00	22±0,00	2±0,00	3,5±0,00	2±0,00	2±0,00
CTX	2±0,00	41±0,00	42±0,00	49±0,00	25±0,00	17±0,84	25±0,00	35±0,00
	2±0,00	42±0,00	40±0,00	45±0,00	24±0,00	10±1,27	24±0,00	34,5±0,21

Souches (*Enterococcus sp.*, *Bacillus cereus*; *Vibrio cholera*; *Vibrio sp.*; *Staphylococcus delphinii*; *Enterococcus sp.*; *Klebsiella pneumoniae*; *Proteus mirabilis*)

RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

Tableau XXIII : Représentatif des diamètres d'inhibition (mm ± écart type) des souches isolées dans l'eau épurée pour la première analyse.

antibiotiques	K. pneumonie	Providencia sp.	P. mirabilis	S. sonneii	S.epidermidis	C. perfringens	S. delphinii	E.coli	P. aeruginosa	S. lutrae	Enterococcus. sp	Yersinia enterocolitica
RIF 30	10±0.28	20±0.00	14±0.00	19±0.14	25.5±0.21	14.5±0.49	51±0.00	23±0.00	16±0.00	46±0.00	27±0.00	42±0.00
VA 30	2±0.00	6.5±0.07	2±0.00	3.5±0.07	16.5±0.07	16.5±0.35	27±0.00	4±0.00	2±0.00	40±0.00	42±0.00	18±0.00
AMP 10	2±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	21.5±0.07	5.5±0.21	42±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	15±0.00
CL 25	10±0.00	13.5±0.07	2±0.00	12±0.85	8.5±0.21	11±0.14	18±0.00	20±0.00	23±0.00	50±0.00	2±0.00	28±0.00
HLG 120	22±0.14	37±0.99	25±0.14	30±0.00	9.5±0.35	21±0.42	44±0.00	35±0.00	35±0.00	44±0.00	31±0.00	45±0.00
AX 25	2±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	6±0.57	9.5±0.07	42±0.00	2±0.00	2±0.00	29±0.00	10±0.00	23±0.00
P 10	2±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	22±0.00	7±0.00	37±0.00	2±0.00	2±0.00	45±0.00	24±0.00	11±0.00
E 15	2±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	23.5±0.49	25±0.28	37±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	37±0.00	10±0.00
LE 5	22.5±0.07	25±0.14	39±0.14	38±0.28	21±0.14	13.5±1.63	34±0.00	32±0.00	38±0.00	42±0.00	5±0.00	44±0.00
K 30	25±1.55	7±0.14	20±0.00	23.5±0.07	23.5±0.49	19±0.42	40±0.00	33±0.00	10±0.00	46±0.00	4±0.00	2±0.00
C 30	21±0.14	5±0.14	15±0.07	30±0.00	21±0.14	23±0.14	36±0.00	34±0.00	10±0.00	39±0.00	30±0.00	42±0.00
TE 30	18±0.00	9±0.14	2±0.00	2±0.00	24.5±0.07	13.5±1.63	47±0.00	30±0.00	21±0.00	40±0.00	18±0.00	58±0.00
CTX 30	24.5±0.21	4±0.00	29±0.14	33±0.00	13±0.42	2±0.00	23±0.00	46±0.00	10±0.00	21±0.00	12±0.00	26±0.00
COT 25	27±0.14	4.5±0.35	28.5±0.07	2±0.00	17±0.99	14.5±0.21	36±0.00	44±0.00	6±0.00	42±0.00	13±0.00	45±0.00
témoin	positif	positif	positif	positif	positif	positif	positive	positive	positive	positive	positive	positive

Corynebacterium diphtheriae ; Staphylococcus delphinii ; Brucella melitensis; Bacillus cereus; Vibrio sp.; Pseudomonas sp.; Salmonella Typhi ; Shigella sonneii ; Citrobacter koseri ; Enterococcus sp. ; Clostridium perfringens ; Staphylococcus aureus ; Proteus mirabilis

RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

1- Résultats des analyses bactériologiques

1.1 Dénombrement de la flore mésophiles totale FMAT

Ce sont les microorganismes capables de proliférer sur des géloses ordinaire à des températures avoisinons 20 à 37 °C. Ces dernières sont considérées comme un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre UFC (unité formant colonie) présente dans un échantillon donné.

Les résultats obtenus du dénombrement de la flore mésophiles à 22°C et de la flore mésophile à 37°C, sur gélose TGEA et PCA, sont illustrés dans les figures et le tableau suivant :

Tableau XIV : Résultats du dénombrement de la flore mésophile.

Flore	Analyse I		Analyse II	
	Eau brute UFC/ml	Eau épurée UFC/ml	Eau brute UFC/ml	Eau épurée UFC/ml
Flore mésophiles banaux et saprophytes à 22°C	Indénombrable	$7,6.10^4$	$2,2.10^5$	$3,1.10^5$
Flore mésophiles pathogènes à 37°C	$2,8.10^5$	$1,8.10^5$	$2,0.10^4$	$3,8.10^5$

On remarque au niveau de l'analyse primaire effectuer des nombres de germes banaux et pathogènes élevés à l'entrée de la station (indénombrable, $2,8.10^5$ UFC /ml respectivement contrairement à ceux trouver à la sortie ($7,6.10^4$ UFC/ml, $1,8.10^5$ UFC/ml) de la STEP.

Ce pendant dans la deuxième analyse, on enregistre des nombres de germes banaux élevé à l'entrée et à la sortie de la STEP contrairement aux nombres de germes pathogènes où on obtient un nombre de germes élevé à la sortie qu' à l'entrée de la STEP, cela peut s'expliqué par un une mauvaise décantation de la boues qui est a l'origine de la présence d'une concentration élevé en bactérie dans l'eau de sortie.

Une étude est faite par **Mokracka. (2011)** sur « Entérobactéries multi résistantes avec des integrons de classe 1 et 2 dans une station municipale », qui sont de $3,1 \cdot 10^6$ à $1,9 \cdot 10^7$ CFU/ml dans l'eau brute et de $3,5 \cdot 10^4$ à $3,3 \cdot 10^6$ CFU/ml dans l'effluent final.

1.2- Identification des bactéries isolées à partir de la station d'épuration

L'identification des bactérienne retrouvées dans les échantillons des eaux de la station d'épuration de pont de bougie de Tizi-Ouzou a été réaliser selon des caractères phénotypiques ainsi que par des caractères biochimique.

1.2.1- résultats de l'identification

- **Critères macroscopiques**

Cette étude repose sur l'aspect des colonies sur milieu gélosé qui varie d'une souche a une autre, ces critères sont les suivants : forme, taille, opacité, consistance, contour, centre, la surface des colonies.

Les figures 34 à 44 et les tableaux XV au tableau XIX suivant illustrent les résultats obtenus à partir des cultures faites sur les milieux suivants :

- Milieu TGEA pour la flore mésophile totales 22°C et 37°C ;
- Milieu gélosé lactosée au TTC et au tergitol 7 pour les coliformes totaux à 37°C et les coliformes à 44°C ;
- Milieu Slanetz et bartley pour les streptocoques à 44°C ;
- Milieu viande foie (VF) pour les bactéries anaérobies sulfito-réductrices à 37°C ;
- Milieu hektoen pour les salmonelles à 37°C ;
- Milieu chapman pour les Staphylococcus à 37°C ;
- Milieu cétrimide pour les Pseudomonas à 37°C ;
- Milieu GNAB (gélose nutritive alcaline bilié) pour les Vibrio à 37°C.



Figure 35 : Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des coliformes totaux 37°C pour l'eau brute et eau épurée.

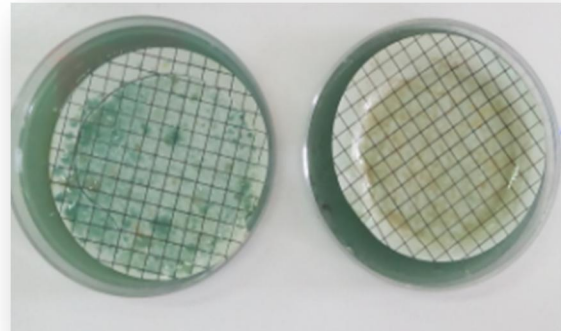


Figure 36: Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des coliformes fécaux 44°C pour l'eau brute et eau épurée.

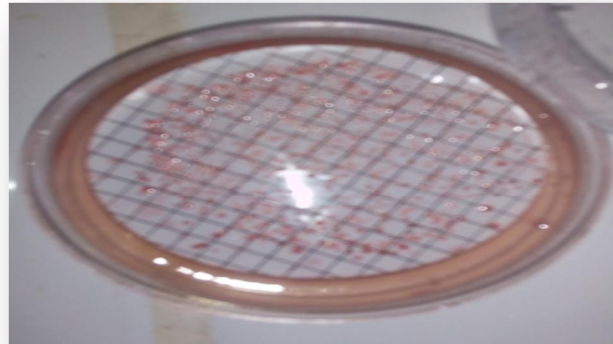
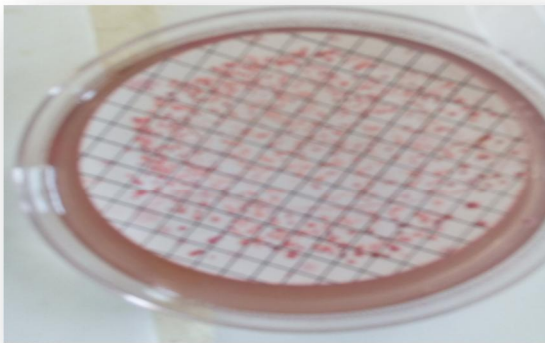


Figure 37 : Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des streptocoques 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur le milieu Slanetz et Bartley.

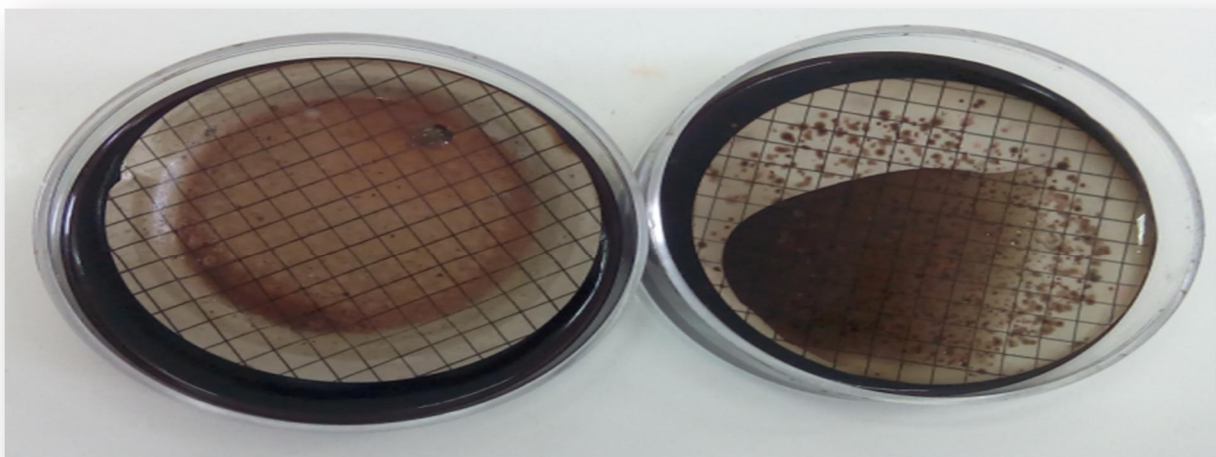


Figure 38 : Les boîtes de pétries correspondant à la recherche des streptocoques 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu BEA.



Figure 39: Les boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Staphylococcus* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu Chapman.

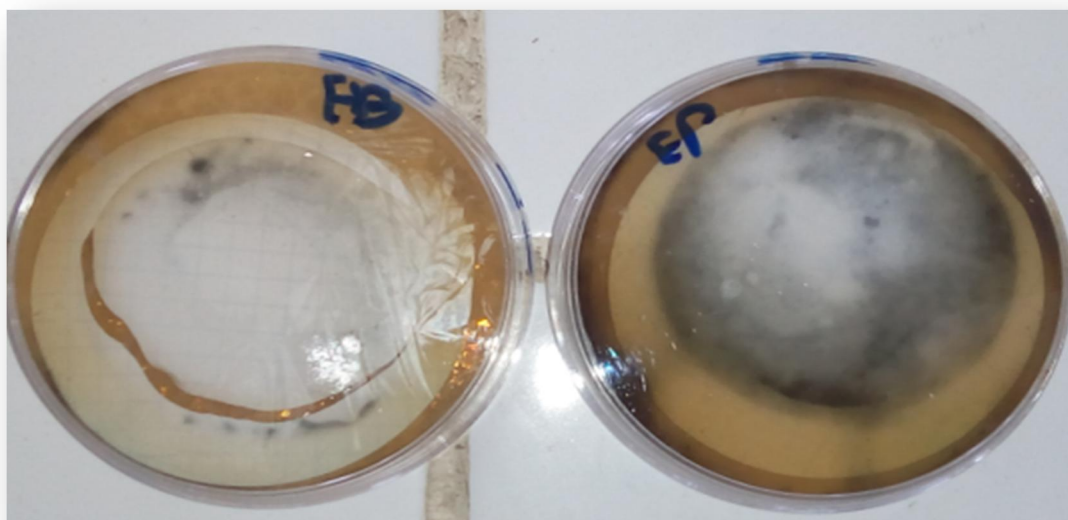


Figure 40: Les boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Clostridium* à 37°C en anaérobiose pour l'eau brute et eau épurée sur milieu VF.

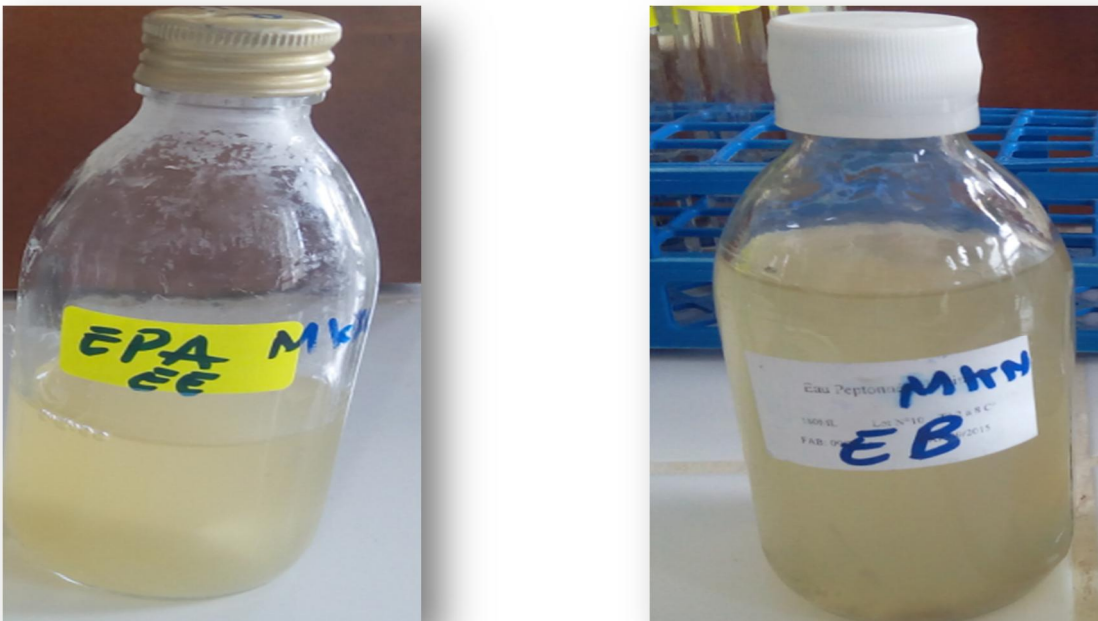


Figure 41: l'enrichissement primaire correspondant à la recherche des *Vibrio* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée dans de l'eau peptonée alcaline.

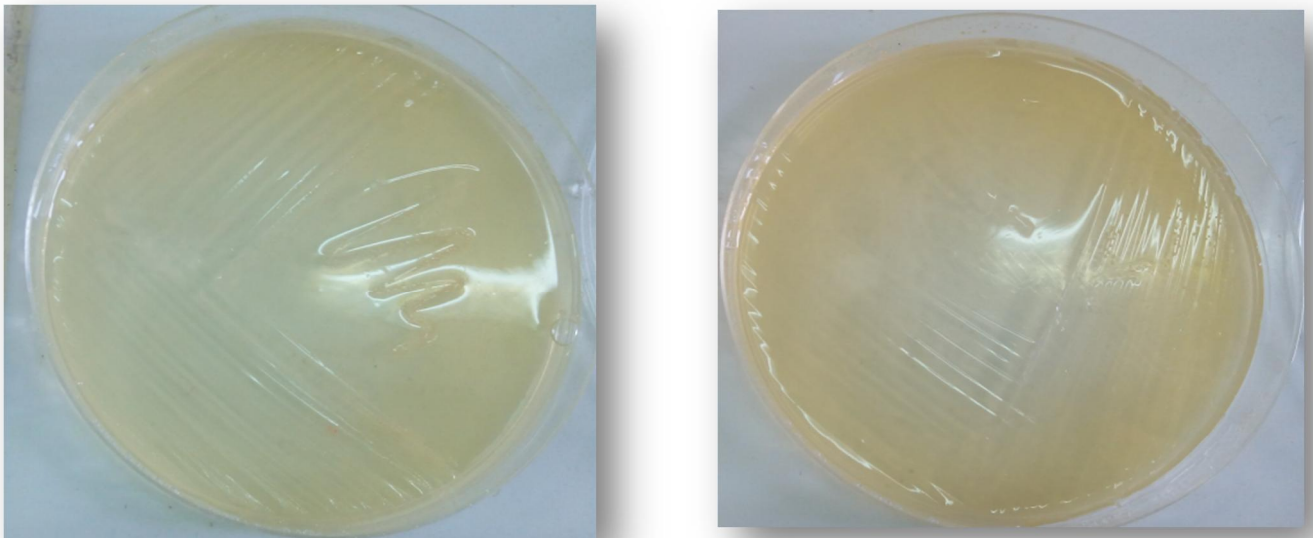


Figure 42: boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Vibrio* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur GNAB.



Figure 43: l'enrichissement primaire et secondaire correspondant à la recherche des *Salmonelles* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée dans de l'eau peptonée tamponnée et Rappaport Vassiliadis.

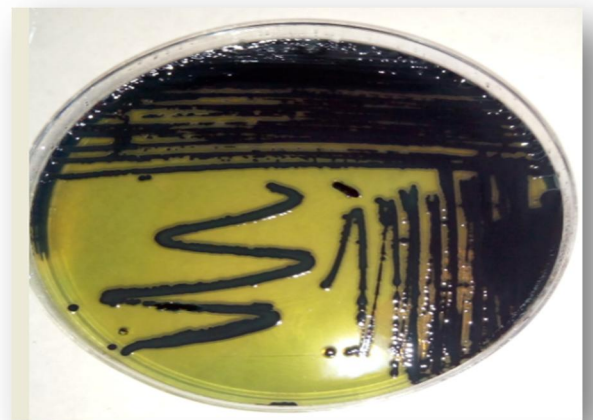
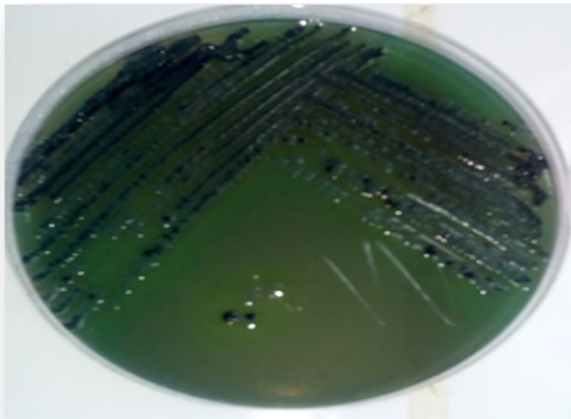


Figure 43: boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Salmonelles* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu Hektoen.

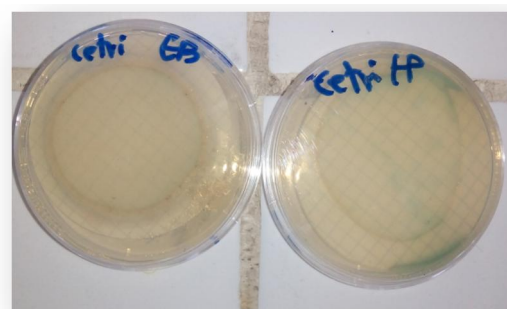
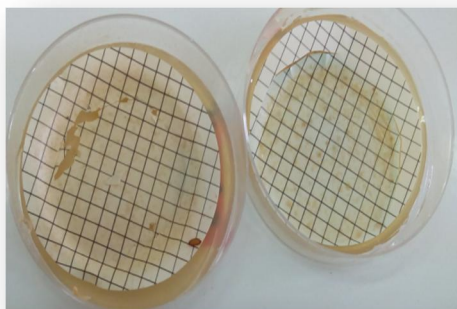


Figure 44 : boîtes de pétries correspondant à la recherche des *Pseudomonas* à 37°C pour l'eau brute et eau épurée sur milieu Cétrimide

Tableau XV : Représentant les résultats de l'observation macroscopiques des souches isolées de l'eau brute (première analyse)

Souche EB1	B13	B19	B7	B6	B2	B23	B25	B21
Allure des contours	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Irrégulier
Relief	Surface bombée	Surface plate	Surface bombée	Surface bombée	Surface plate	Surface plate	Surface légèrement bombée	Surface plate
Centre	Bombé	Légèrement bombé	plat	Elevé	Ombiliqué	Bombé	Légèrement bombé	Plat
Taille	Moyenne	Petite	Grande	Moyenne	Moyenne	Petite	Grande	Grande
Opacité	Opaque	Opaque	opaque	Opaque	opaque	Opaque	Opaque	Translucide
Consistance	Sèche	Crémeuse	Sèche	Crémeuse	Sèche	Sèche	Muqueuse	Crémeuse
Couleur	Noir	Verte	Jaune rosée	Incolore	Orange	Noir	Jaune	Jaune
Surface	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse
Forme	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Pousse en vague

Tableau XVI : Représentant les résultats de l'observation macroscopiques des souches isolées de l'eau épurée (première analyse)

surface	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
Allure des contours	Régulier	Régulière	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Irrégulier	Régulier
Relief	Surface plate	Surface bombée	Surface plate	Surface légèrement bombée	Surface Légèrement bombée	Surface plate	Surface plate	Surface Légèrement bombée	Surface légèrement bombée	Surface plate	Surface bombé	Surface plate	Surface bombée
Centre	Plat	Bombé	Plat	Demi-bombé	Légèrement bombé	Plat	Plat	Légèrement bombée	Légèrement bombé	Plat	Bombé	Plat	Bombé
Taille	Petite	Petite	Petite	Moyenne	Petite	Petite	Grande	Petite	Petite	Petite	Petite	Envahissante	Petite
Opacité	Translucide	Opaque	Translucide	Opaque	Translucide	Translucide	Opaque	Translucide	Translucide	Opaque	Translucide	Opaque	Opaque
Consistance	Sèche	Crémeuse	Crémeuse	Muqueuse	Sèche	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse	Sèche	Crémeuse	Sèche	Crémeuse
Couleur	Jaune	Blanche	Verte	Blanche	Blanche	Crème	Verte à centre noir	Verte	Verte	Noir	Blanche	Blanche	Rose
Surface	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	lisse	Lisse
forme	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Irrégulière	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Irrégulière	Forme irrégulière

Examen microscopique

L'examen microscopique est réalisé des milieux sélectifs utilisés dans notre étude.

L'observation est faite à l'aide d'un microscope photonique au G×1000 à l'huile d'immersion des souches pures isolées après avoir effectué une coloration de Gram.

On a pu isoler 41 souches durant les deux analyses effectuée et les résultats sont illustrés dans les tableaux suivants :

Tableau XIX : Aspect microscopique des souches isolées de l'eau brute de la première analyse.

Bactéries	Milieux de culture	Gram	Forme
B13	BEA	+	cocci, courte chainettes
B19	VF	+	bacille
B7	Hektoen	-	bacille incurvé
B6	GNAB	-	bacille incurvé
B2	Chapman	+	cocci regroupé en amas
B23	BEA	+	cocci, courte chainettes
B25	ENDO	-	coccobacille
B21	Hektoen	-	bacille

Tableau XX : Aspect microscopique des souches isolées de l'eau épurée de la première analyse.

La souche	Milieux	Gram	La forme
E1	Hektoen	-	Cocci regroupé en amas
E2	Chapman	+	Cocci regroupé en amas
E3	Hektoen	-	bacille
E4	Chapman	+	bacille
E5	GNAB	-	bacille
E6	Cétrimide	-	bacille
E7	Hektoen	-	coccobacille
E8	Hektoen	-	coccobacille
E9	Hektoen	-	bacille
E10	BEA	+	Cocci, diplocoque, chainette
E11	VF	+	bacille
E12	Chapman	+	Cocci regroupé en amas
E13	Hektoen	-	coccobacille

Tableau XVII : Représentant les caractères microscopiques des souches isolées de l'eau brute (deuxième analyse)

Souche1	B17	B5	B3	B1	B14	B11	B10	B18
EB2								
Allure des contours	Irrégulier	Régulier	Régulier	Régulier	Régulier	Irrégulier	Régulier	Irrégulier
Relief	Surface plate	Surface plate	Surface plate	Surface demi-bombée	Surface plate	Surface plate	Surface bombée	Surface plate
Centre	Bombé	Elevé	Ombiliqué	Elevé	Plat	Plat	Bombé	Plat
Taille	Grande	Petite	Moyenne	Petite	Petite	Envahissante	Grande	Grande
Opacité	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque	opaque	Opaque	opaque	Translucide
Consistance	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse	Muqueuse	Muqueuse	Sèche	Muqueuse	Sèche
Couleur	Verte	Incolore	Verte	Rose	Jaune	Jaune doré	Rose	Jaune
Surface	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Granuleuse
Forme	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde	Irrégulière	Régulière	Forme irrégulière

Tableau XVII: Représentant les caractères microscopiques des souches isolées de l'eau épurée (deuxième analyse)

Souches	EP2	E14	E15	E16	E17	E18	E19	E20	E21	E22	E23	E24
Allure des contours	Régulier	Irrégulier	Régulier		Régulier	Irrégulier	Irrégulier	Régulier	Régulier	Irrégulier	régulier	Régulier
Relief	Surface bombée	Surface plat	Surface légèrement bombée		Surface plate	Surface plate	Surface plate	Surface bombée	Surface Légèrement bombée	Surface plate	Surface bombée	Surface plate
Centre	Bombé	Plat	Légèrement bombé		Plat	Plat	Plat	Bombé	Plat	plat	Demi-bombé	Plat
Taille	Petite	Moyenne	Moyenne			Envahissante	Grande	Petite	Petite	Moyenne	Moyenne	Petite
Opacité	Opaque	Translucide	Translucide		Translucide	Opaque	Translucide	Opaque	Translucide	Translucide	Opaque	Opaque
Consistance	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse		Crémeuse	Sèche	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse	Muqueuse	Sèche
Couleur	Rose	Marron	Verte		Blanche	Blanche	Blanche	Jaune	Crème	Crème	Blanche	Noir
Surface	Lisse	Lisse	Lisse		Lisse	lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse
forme	Forme irrégulière	Forme irrégulière	Ronde		Ronde	Irrégulière	Forme irrégulière	Ronde	Ronde	Forme irrégulière	Ronde	Ronde

Tableau 16 : Résultats microscopique de la deuxième analyse pour l'eau brute

Bactéries	Mileu de culture	Gram	Forme
B17	ENDO	-	cocobacille
B5	GNAB	-	cocobacille
B3	Chapman	+	cocci regroupe en amas
B14	Hektoen	-	bacille
B1'	Chapman	+	cocci regroupe en amas
B10	ENDO	-	bacille
B18	Chapman	+	cocci regroupe en amas
B1	Chapman	+	cocci regroupe en amas

Tableau : Aspect microscopique des souches isolées de l'eau épurée de la deuxième analyse.

L a souche	Milieus de culture	Gram	La forme
E14	ENDO	-	coccobacille
E15	Hektoen	-	bacille
E16	Hektoen	-	coccobacille
E17	Chapman	-	coccobacille
E18	Chapman	+	Cocci regroupé en amas
E19	VF	+	Bacille
E20	Chapman	+	Cocci regroupé en amas
E21	Hektoen	-	coccobacille
E22	Cétrimide	-	coccobacille
E23	Chapman	+	Cocci regroupé en amas
E24	BEA	+	Cocci, diplocoque, chaînette
E25	Hektoen	-	Coccobacille

Tableau XXV : représente les résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir de l'eau brute (deuxième analyse)

TEST	B17	B5	B3	B1	B14	B10	B11	B18
CAT	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
NIT	(+)(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	
MEVAG	AA		AA	AA	AA	AA	AA	AA
MAN	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
MOB	imb	imb		imb	imb	mob	imb	NE
GLUC	(+)	(+)	NE	(-)	(+)	(-)	(-)	NE
LAC/SAC	(+)	(-)		(+)	(+)	(+)	(+)	NE
GAZ	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
H2S	(-)	(-)		(-)	(+)	(-)	(-)	NE
ONPG	(+)	(-)	NE	NE	(+)	(-)	NE	NE
CIT	(+)	(+)		NE	(+)	(-)	NE	
RM	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
VP	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
ODC	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
LDC	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
ADH	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
T	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
UREE	(+)	(-)	NE	(+)	(-)	(+)	(+)	NE
INDOL	(-)	(+)	NE	(-)	(-)	(-)	(-)	NE
TDA	(+)	(+)	NE	(-)	(-)	(+)	(-)	NE
OXYDASE	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
ESCULINE	NE	NE	(-)	(-)	NE	NE	(-)	(-)
ADN ase	NE	NE	(+)	NE	NE	NE	NE	NE
Souches	<i>K.oxytoca</i>	<i>Providencia sp.</i>	<i>S.lutrae</i>	<i>S.delphenii</i>	<i>C.freundi</i>	<i>Brucella sp.</i>	<i>S.auricularis</i>	<i>S.pulvei</i>

Klebsiella oxytoca ; *Providencia sp.* ; *Staphylococcus lutrae* ; *Citrobacter freundii* ; *Brucella sp.* ; *Staphylococcus auricularis* ; *staphylococcus pulvei*, NE : teste non effectué ; Mob : mobile Imb : immobile ; AA : aéro-anaérobie ; CAT : catalase ; Nit : Nitrate, MAN : mannitol ; MEVAG : étude voie d'attaque des glucides ; Gluc : glucose ; LAC : lactose ; Sac : saccharose ; H2S : sulfure d'hydrogène ; ONPG : Ornitrophényl-β-galactosidase .CIT : Citrate ; RM : Rouge méthyl ; TDA : tryptophane désaminase

Tableau XXVI : Représentatif des résultats de la galerie biochimique des souches isolées de l'eau épurée de la deuxième analyse

Test	E23	E18	E20	E25	E21	E22	E14	E17	E15	E24	E19	E16
CAT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
NIT	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+
MEVAG	AA	AA	AA	AA	AA	A	AA	AA	AA	NE	ANS	AA
MAN	+	-	+	+	+	+	+	+	NE	NE	NE	-
MOB	MOB	IMOB	NE	MOB	MOB	MOB	MOB	IMOB	NE	NE	IMOB	MOB
GLU	-	+	NE	+	+	-	+	+	-	NE	+	+
LAC/SAC	+	+	NE	+	+	-	+	-	-	NE	+	-
GAZ	-	+	NE	+	+	+	+	-	+	NE	+	+
H2S	-	+	NE	-	-	-	-	+	-	NE	+	+
ONPG	-	+	-	+	+	-	+	-	-	NE	-	-
CIT		-	NE	-	-	+	+	-	+	NE	NE	+
RM	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	NE	+
VP	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	NE	-
/ODC	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
LDC	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	NE	NE	NE	NE	NE
ADH	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
T	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
UREE	+	NE	+	+	-	-	+	-	-	-	NE	+
INDOL	-	NE	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
TDA	+	NE	-	NE	NE		NE	NE	NE	NE	NE	NE
COAGULASE	+	-	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-	+
OXYDASE	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	NE	NE
DNASE	NE	NE	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
ESCULINE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	NE	NE
Souche identifié	<i>S. lutrae</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S. delphinii</i>	<i>Y enterocolitica</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. sonneii</i>	<i>Providencia sp.</i>	<i>Enterococcus sp</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>P. mirabilis</i>

Mob : mobile Imb : immobile ; AA : aéro-anaérobie ; CAT : catalase ; Nit : Nitrate, MAN : mannitol ; MEVAG : étude voie d'attaque des glucide ; Gluc : glucose ; LAC : lactose ; Sac : saccharose ; H2S : sulfure d'hydrogène ; ONPG :Ornitrophényl-β-galactosidase .CIT : Citrate ; RM : Rouge méthyl ;TDA :tryptophane désaminase .

Proteus mirabilis ; *Providencia sp.* ; *Klebseilla pneumoniae* ; *Staphylococcus lutrae* ; *Staphylococcus epidermidis* ; *Staphylococcus delphinii* ; *Yersinia enterocolitica* ; *Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Enterococcus sp.* ; *Clostridium perfringens* ; *Shigella sonneii*.

Tableau XXIX : Représentatif des diamètres d'inhibition (mm ± écart type) des souches isolées dans l'eau brute pour la deuxième analyse.

ATBs	<i>Klebsiella</i> sp.	<i>Providencia</i> sp.	<i>S-lutrae</i>	<i>S-delphenii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>S-auricularis</i>	<i>brucella</i> sp.	<i>S-pulvei</i>
RIF	20±0,00	20±0,00	33±0,00	17±0,00	24±0,00	10±0,00	12±0,00	44±0,00
va	11±0,00	4±0,00	17±0,00	10±0,00	20±0,00	4±0,00	2±0,00	25±0,00
AMP	2±0,00	2±0,00	27±0,00	2±0,00	2±0,00	2±0,00	2±0,00	2±0,00
CL	20±0,00	20±0,00	20±0,00	4±0,00	2±0,00	12±0,00	17±0,00	26±0,00
HLG	10±0,00	30±0,00	30±0,00	16±0,00	32±0,00	10±0,00	30±0,00	49±0,00
AX	2±0,00	2±0,00	12±0,00	10±0,00	2±0,00	8±0,00	2±0,00	12±0,00
P	2±0,00	2±0,00	27±0,00	4±0,00	12±0,00	35±0,00	2±0,00	37±0,00
E	2±0,00	20±0,00	12±0,00	8±0,00	2±0,00	6±0,00	2±0,00	13±0,00
LE	37±0,00	38±0,00	16±0,00	20±0,00	40±0,00	45±0,00	39±0,00	24±0,00
K	4±0,00	29±0,00	20±0,00	10±0,00	20±0,00	30±0,00	26±0,00	34±0,00
C	2±0,00	2±0,00	30±0,00	21±0,00	30±0,00	10±0,00	31±0,00	36±0,00
TE	16±0,00	41±0,00	19±0,00	11±0,00	2±0,00	39±0,00	28±0,00	15±0,00
CTX	15±0,00	13±0,00	15±0,00	21±0,00	40±0,00	22±0,00	46±0,00	34±0,00
COT	16±0,00	27±0,00	26±0,00	21±0,00	36±0,00	36±0,00	36±0,00	36±0,00

Klebsiella oxytoca ; *Providencia* sp. ; *Staphylococcus lutrae* ; *Citrobacter freundii* ; *Brucella* sp. ; *Staphylococcus auricularis* ; *staphylococcus pulvei*

RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

Tableau XXX : Représentatif des diamètres d'inhibition (mm ± écart type) des souches isolées dans l'eau épurée pour la première analyse.

Antibiotiques	<i>C. diphtheriae</i>	<i>S. delphini</i>	<i>B. melitensis</i>	<i>B.cereus</i>	<i>Vibrio sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>S. Typhi</i>	<i>S. sonneii</i>	<i>C. koseri</i>	<i>Enterococcus sp.</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. mirabilis</i>
RIF	20±0.00	24±0.00	10±0.00	8±0.00	8±0.00	8±0.00	8±0.00	10±0.00	10±0.00	8±0.00	17±0.42	23.5±0.21	15±0.14
VA	2±0.00	9±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	8±0.00	3±0.00	18±0.00	2±0.00	10±0.00	2±0.00	14±0.14	2±0.00
AMP	8±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	12±0.00	2±0.00	2±0.00	10±0.00	2±0.00	13±0.00	10±0.00	27±0.07	2±0.00
CL	8±0.00	8±0.00	2±0.00	11±0.00	4±0.00	8±0.00	6±0.00	4±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	14±0.57	2±0.00
HLG	30±0.00	14±0.00	6±0.00	29±0.00	10±0.00	24±0.00	8±0.00	19±0.00	10±0.00	8±0.00	25.5±0.21	29±0.28	21±0.14
AX	3±0.00	15±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	6±0.00	2±0.00	2±0.00	6.5±0.35	17.5±0.49	2±0.00
P	2±0.00	18±0.00	2±0.00	2±0.00	12±0.00	2±0.00	2±0.00	6±0.00	2±0.00	10±0.00	6±0.00	22.5±0.07	2±0.00
E	28±0.00	2±0.00	2±0.00	6±0.00	2±0.00	22±0.00	27±0.00	14±0.00	2±0.00	16±0.00	2±0.00	24.5±0.49	2±0.00
LE	14±0.00	14±0.00	12±0.00	41±0.00	8±0.00	12±0.00	18±0.00	22±0.00	27±0.00	30±0.00	28±0.28	24±0.42	31.5±1.20
K	11±0.00	12±0.00	2±0.00	21±0.00	12±0.00	12±0.00	13±0.00	15±0.00	10±0.00	4±0.00	20.5±0.07	26±0.57	10±0.42
C	23±0.00	17±0.00	4±0.00	5±0.00	8±0.00	10±0.00	4±0.00	22±0.00	4±0.00	16±0.00	17±0.00	22±0.00	18±0.57
TE	20±0.00	22±0.00	2±0.00	22±0.00	2±0.00	12±0.00	14±0.00	20±0.00	2±0.00	13±0.00	2±0.00	28±0.28	2±0.00
CTX	16±0.00	18±0.00	21±0.00	48±0.00	38±0.00	2±0.00	17±0.00	12±0.00	23±0.00	2±0.00	25.5±0.35	23.5±0.92	34.5±0.07
COT	29±0.00	17±0.00	2±0.00	2±0.00	2±0.00	10±0.00	20±0.00	22±0.00	2±0.00	2±0.00	26.5±0.07	28±0.00	30±0.57
témoin	positive	positive	positive	positive	positive	positive	positive	positive	POSITIVE	positive	positif	positif	positif

Proteus mirabilis ; *Providencia sp.* ; *Klebseilla pneumoniae* ; *Staphylococcus lutrae* ; *Staphylococcus epidermidis* ; *Staphylococcus delphini* ; *Yersinia enterocolitica* ; *Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Enterococcus sp.* ; *Clostridium perfringens* ; *Shigella sonneii*.

RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

Echantillon I :

Eau brute

Tableau XXXI : Détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du canal de l'eau brute (EB) à l'entrée de la STEP, selon les normes du comité français de l'antibiogramme.

Famille ATBs	Rifamicine	Glycopepti des	beta - lactamine				Tétracycline	Macrolid e	Polymyxin e	Sulfamide	quinolon e	Aminoside	Phénicoles	
	RIF	VA	P	AX	AM P	CTX	TE	E	CL	COT	LE	K	HLG	C
Enterococcus	S	S	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	I
B.cereus	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R
Vibrio cholera	S	R	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S
Vibrio sp.	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S.delphinii	R	R	R	R	R	I	R	S	R	S	I	I	S	R
Enterococcus sp.	S	I	R	R	S	R	S	R	R	S	S	R	S	S
K .pneumoniae	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	I	I	R	R
P. mirabilis	I	R	R	I	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R

I : intermédiaire

R : résistante

S : sensible

RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

Eau épurée

Tableau XXXII : Détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du canal de l'eau épurée (EP) à la sortie de la STEP, selon les normes du comité français de l'antibiogramme.

Famille	Rifamicine	Glycopepti des	beta - lactamine				Tétracycline	Macrolid e	Polymyxin e	Sulfamide	quinolon e	Aminoside	Phénicoles	
	RIF	VA	P	AX	AM P	CTX	TE	E	CL	COT	LE	K	HLG	C
Enterococcus	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
C.diphtheriae	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S
S.delphinii	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R
B.melitensis	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
B.cereus	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R
Vibrio sp.	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
Pseudomonas sp.	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
S. Typhi	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R
S.sonnei	R	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S
C.koseri	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
C.perfringens	S	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R
S.aureus	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
P. mirabilis	S	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R		R

I : intermédiaire

R : résistante

S : sensible RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ;

AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ;

K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

A partir de l'eau brute et l'eau épurée, nous avons isolés 21 souches résistantes aux antibiotiques testés. Les phénotypes de multi résistance des souches isolées se répartissent comme suit (Voir tableau).

Tableau XXXIII : Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau brute aux antibiotiques testés.

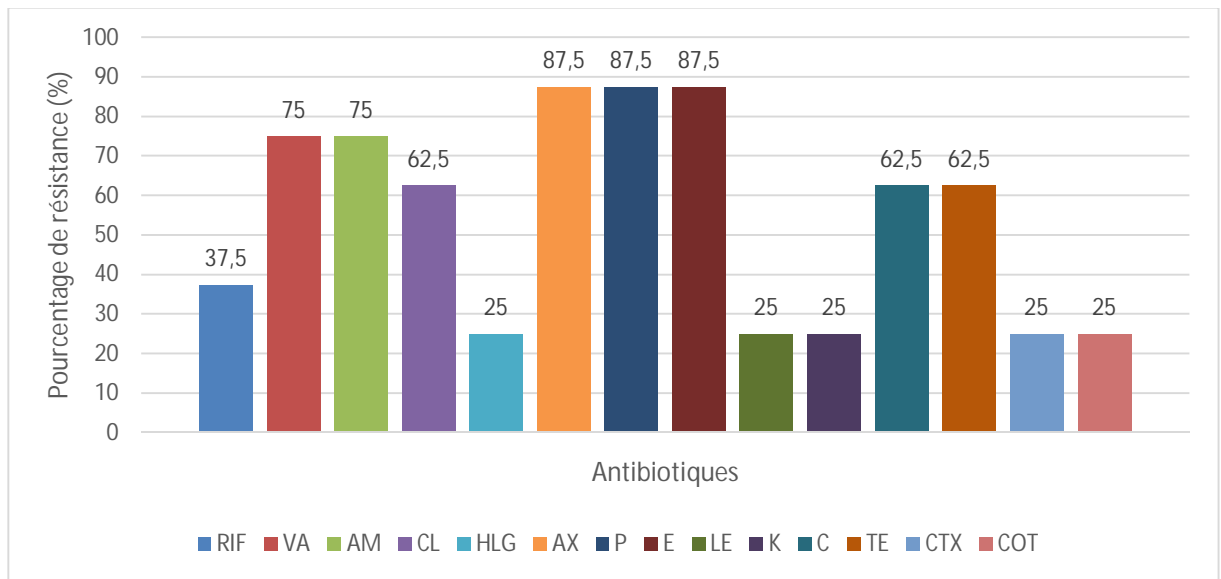
Bactéries	Antibiotiques
<i>Enterococcus sp.</i>	AM, CL, AX, R, LE, K, TE, CTX, COT
<i>Bacillus cereus</i>	VA, AM, AX, P, E, C
<i>Vibrio cholera</i>	VA, AM, AX, P
<i>Vibrio sp.</i>	RIF, VA, AM, AX, P, E
<i>Staphylococcus delphini</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, P, E, C, TE
<i>Enterococcus sp.</i>	CL, AX, P, E, LE, K, C, TE, CTX, COT
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, P, E, C, TE
<i>Proteus mirabilis</i>	VA, CL, P, E, C, TE

RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

Tableau XXXIV : Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau épurée aux antibiotiques testés.

Bactéries	Antibiotiques
<i>Enterococcus sp.</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, P, E, K, C, TE, CTX, COT
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	VA, AM, CL, AX, P, LE, K, CTX
<i>Staphylococcus delphini</i>	VA, AM, CL, AX, P, E, LE, K, C, CTX
<i>Brucella melitensis</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, P, E, LE, K, C, TE, CTX, COT
<i>Bacillus cereus</i>	RIF, VA, AM, CL, AX, P, E, C, COT
<i>Vibrio sp.</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, P, E, LE, K, C, TE, COT
<i>Pseudomonas sp.</i>	RIF, VA, AM, CL, AX, P, LE, K, C, TE, CTX, COT
<i>Salmonella Typhi</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, P, K, C, TE, CTX
<i>Shigella sonnei</i>	RIF, AM, CL, AX, P, E, K, CTX
<i>Citrobacter koseri</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, P, E, K, C, TE, CTX, COT
<i>Clostridium perfringens</i>	VA, AM, CL, AX, P, E, C, TE
<i>Staphylococcus aureus</i>	VA, CL
<i>Proteus mirabilis</i>	VA, AM, CL, AX, P, E, K, C, TE

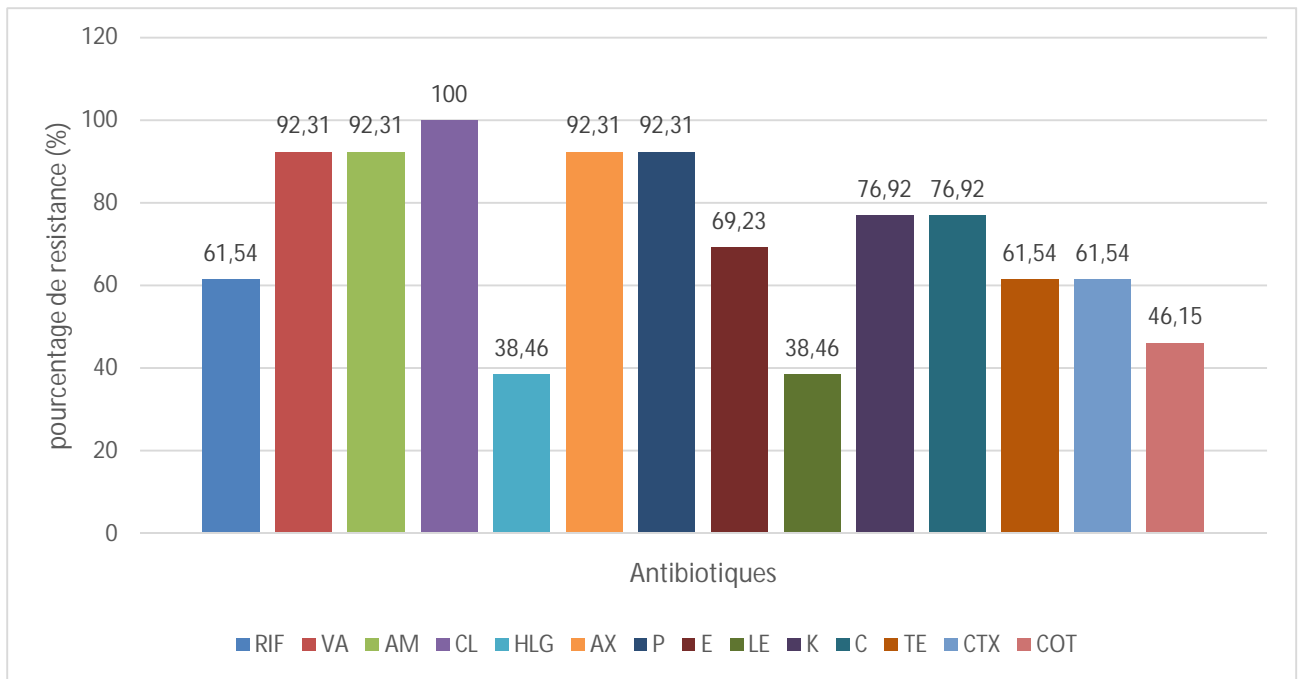
RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.



RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : céfotaxime ; COT : co-trimoxazole.

Figure 45 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l'eau brute à divers antibiotiques testés.

Comme nous montre la figure (45), une forte proportion des souches bactériennes isolées à partir du canal de l'eau brute (EB) résistantes aux beta-lactamines, avec un taux de 87,5% pour l'amoxicilline (AX) et à la pénicilline (P), et 75% l'Ampicilline (AMP) et avec un taux de 62,5% pour la Céfotaxime (CTX) le même taux est enregistré pour la famille des tétracycline (TE) ; aux macrolides, avec un taux de 87,5% pour l'Erythromycine (E), et aux Glycopeptides avec un taux de 75% pour Vancomycine (VA). À la polymyxine, avec un taux de 62,5% pour la colistine (CL) et aux sulfamides, avec un taux de 25% pour le Co-trimoxazole (COT). Une petite portion des souches seulement se sont montrées résistantes aux quinolones (LE) et aminosides (HLG, K) et aux phénicoles (C), avec un taux de 25% et à l'antibiotiques rifampicine (RIF) de la famille desrifamicine avec un pourcentage de 37,5% de résistance.



RIF : Rifampicine ; VA : Vancomycine ; AM : Ampicilline ; CL : Colistine ; HLG : Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : céfotaxime ; COT : co-trimoxazole.

Figure 46 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l’eau épurée à divers antibiotiques testés.

Comme nous montre la figure 46 , une forte proportion des souches bactériennes isolées à partir du canal de l’eau épurée (EP) résistantes aux beta-lactamines, avec un taux de 92,31% pour l’amoxicilline (AX) ,la pénicilline (P), et l’Ampicilline (AMP) et avec un taux de 61,54% pour la Céfotaxime (CTX) le même taux est enregistré pour la famille des tétracycline (TE) ; aux macrolides, avec un taux de 69,23% pour l’Erythromycine (E) , et aux Glycopeptides avec un taux de 92,31% pour Vancomycine (VA). À la polymyxine, avec un taux de 100% pour la colistine (CL) et aux sulfamides, avec un taux de 46,15% pour le Co-trimoxazole (COT). On enregistre un taux de 76,92% pour la famille des phénicoles (C) et aminosides (K). Ce qui concerne la famille des quinolones (LE) et aminosides (HLG) nous avons enregistré un taux de 38,46% de résistance et un taux de 61,54% pour rifampicine (RIF) appartenant à la famille des réfamicine.

La multi-résistance des bactéries isolées à partir de l'eau brute et de l'eau traitée aux antibiotiques testés

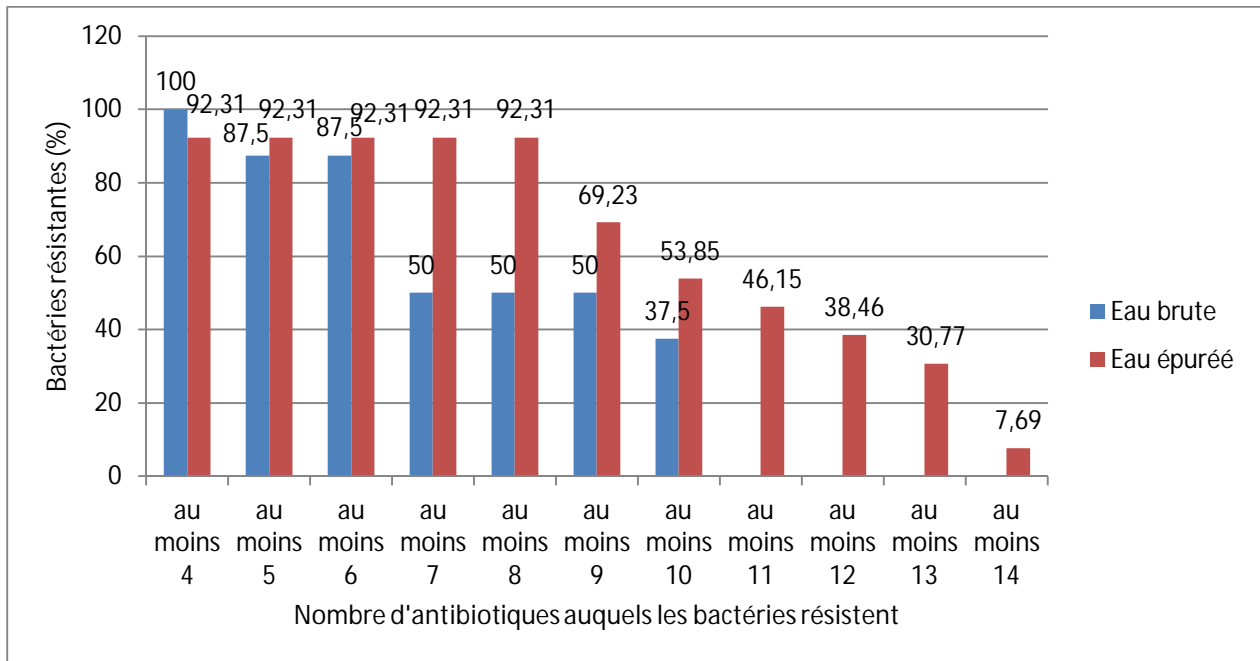


Figure 47 : Pourcentage des souches bactériennes résistantes à aux moins 4 antibiotiques, cinq antibiotiques, six antibiotiques, sept et huit antibiotiques dans la station d'étude.

La figure 47 présente les taux de bactéries résistantes en fonction du nombre d'antibiotiques auxquels elles résistent, pour les bactéries isolées à partir de l'eau brute et de l'eau épurée.

Dans l'eau épurée, on remarque que le taux de souches résistantes varie en fonction de nombre d'antibiotiques auxquels elles résistent, en effet, on observe une diminution progressive à partir d'un taux élevé et constant de 92,31% de bactéries résistantes à au moins quatre, cinq, six, sept et huit antibiotiques et commence à diminuer progressivement jusqu'à atteindre un taux de 7,69% de souches résistantes à au moins quatorze antibiotiques .

Quant à l'eau brute, on observe un taux élevé de 100% de bactéries résistante à au moins quatre antibiotiques et diminue progressivement jusqu'à un taux de 37,5% de souches résistantes à au moins dix antibiotiques. Au-delà de onze, on observe l'absence totale de souches résistantes.

D'après ces résultats, on constate que les taux de bactéries résistantes au niveau de l'eau traitée à au moins onze, douze, treize et quatorze antibiotiques sont élevés par rapport à l'eau brute où on observe l'absence de souches multi- résistantes (plus de onze antibiotiques).

A partir de l'eau brute et l'eau épurée, nous avons isolés 20 souches résistantes aux antibiotiques testés. Les phénotypes de multi résistance des souches isolées se répartissent comme suit (Voir tableau)

Tableau XXXVII : Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau brute aux antibiotiques testés.

Bactéries	Antibiotiques
<i>Klebseilla pneumonie</i>	VA, AM, HLG, AX ; P, E, K, C, TE, CTX
<i>Providencia sp.</i>	VA, AM, AX, P, C, CTX
<i>Staphylococcus lutrae</i>	AX, E, LE, CTX
<i>Staphylococcus delphinii</i>	VA, AM, CL, AX, P, E, TE
<i>Citrobacter sp.</i>	AM, CL, AX, P, E, TE
<i>Staphylococcus auricularias</i>	RIF, VA, AM, CL, HLG, AX, E, C
<i>brucella sp.</i>	RIF, VA, AM, AX, P, E, LE
<i>Staphylococcus pulvei</i>	AM, AX, E, TE

Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole

Tableau XXXVIII : Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau épurée aux antibiotiques testés

Bactéries	Antibiotiques
<i>Staphylococcus delphinii</i>	CTX
<i>Escherichia .coli</i>	VA, AM, CL, AX, P, E
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	RIF, VA, AM, AX, P, E, K, C, CTX, COT
<i>Staphylococcus lutrae</i>	AM, E
<i>Enterococcus sp.</i>	RIF, VA, AM, CL, AX, LE, K, CTX, COT
<i>Yesinia enterocolitica</i>	AM, P, E, K, TE, CTX, COT
<i>Klebseilla ppneumonie</i>	RIF, VA, AM, CL, AX, P, E
<i>Providencia sp.</i>	VA, AM, CL, AX, P, E, K, C, TE, CTX, COT
<i>Proteus mirabilis</i>	RIF, VA, AM, CL, AX, P, E, C, TE

<i>Shigella sonneii</i>	VA, AM, CL, AX, P, E, TE, COT
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	VA, CL, HLG, AX, CTX
<i>Clostridium perfringens</i>	VA, AM, CL, AX, P, LE, TE, CTX

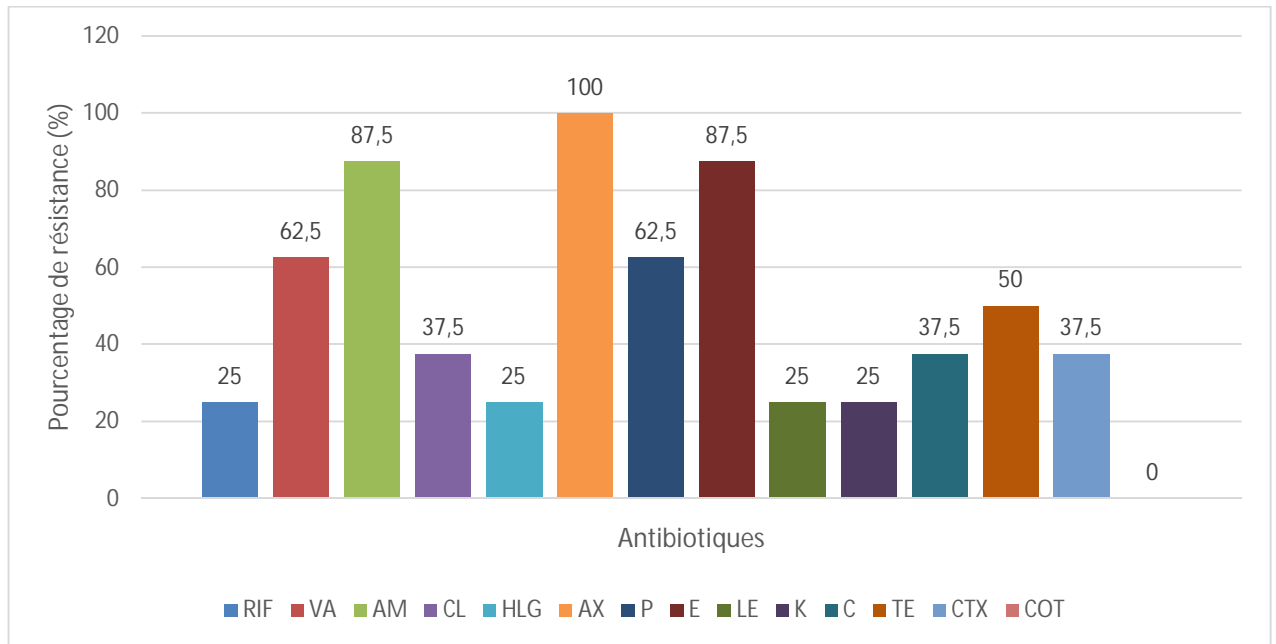


Figure 48 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l’eau brute à divers antibiotiques testés.

Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

Comme nous montre la figure 48 , une forte proportion des souches bactériennes isolées à partir du canal de l’eau brute (EB) résistantes aux beta-lactamines, avec un taux de 100 % pour l’amoxicilline (AX) et de 62,5% à la pénicilline (P), et 87,5% l’Ampicilline (AMP) et avec un taux de 37.5% pour la Céfotaxime (CTX) de même pour la colistine (CL) de la famille des polymyxine et chloramphénicol de la famille des phénicoles(C) .On enregistré pour la famille des tétracycline (TE) un taux de 50% ; aux macrolides, avec un taux de 87.5% pour l’Erythromycine (E) , et aux Glycopeptides avec un taux de 62,2 % pour Vancomycine (VA),et aux sulfamides, avec un taux de 0% pour le Co-trimoxazole (COT). Une petite portion

des souches seulement se sont montrées peu résistantes aux quinolones (LE) et aminosides (HLG, K) et rifampicine (RIF), avec un taux de 25%.

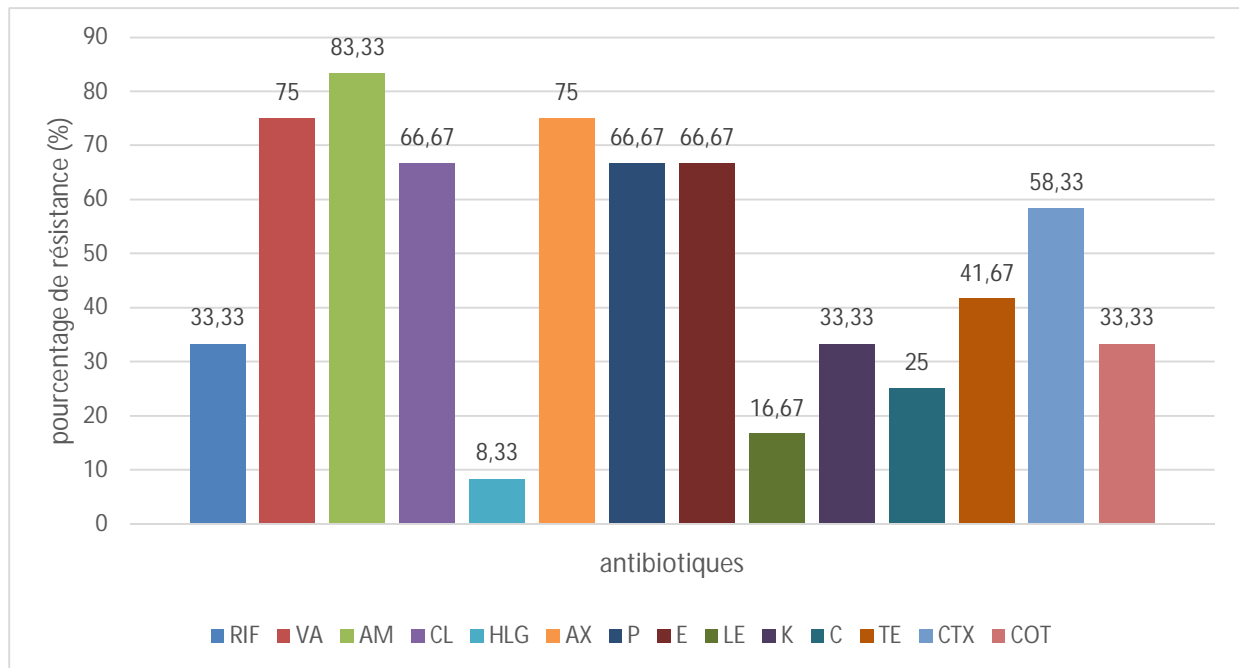


Figure 49 : Pourcentage des bactéries résistantes isolées à partir de l'eau épurée à divers antibiotiques testés.

Gentamicine ; AX : Amoxicilline ; P : Pénicilline ; E : Erythromycine ; LE : lévofloxacine ; K : Kanamycine ; C : Chloramphénicol ; TE : Tétracycline ; CTX : Céfotaxime ; COT : Co-trimoxazole.

Comme nous montre la figure 49 , une forte proportion des souches bactériennes isolées à partir du canal de l'eau épurée (EP) résistantes aux bêta-lactamines, avec un taux de 83,33% pour l'Ampicilline (AMP) et de 75% pour l'amoxicilline (AX) et de 66,67 pour la pénicilline (P), et avec un taux de 58,33% pour la Céfotaxime (CTX). On enregistré pour la famille des tétracyclines (TE) un taux de 41,67% ; aux macrolides, avec un taux de 66,67% pour l'Erythromycine (E) et la colistine (CL) de la famille des polymyxine, et aux Glycopeptides avec un taux de 75% pour Vancomycine (VA), et un taux de 33,33% pour la

famille de la rifampicine de la famille des rifamicine (RIF) et de même pour la famille des sulfamides (COT) et celles des aminoside pour la Kanamycine (K) .

Une petite portion des souches seulement se sont montrées peu résistantes aux phénicoles (C), aminosides (HLG) et aux quinolones (LE) avec des taux qui varient de 33,33% à 16,67% et 8.33% respectivement.

La multi-résistance des bactéries isolées à partir de l’eau brute et de l’eau traitée aux antibiotiques testés

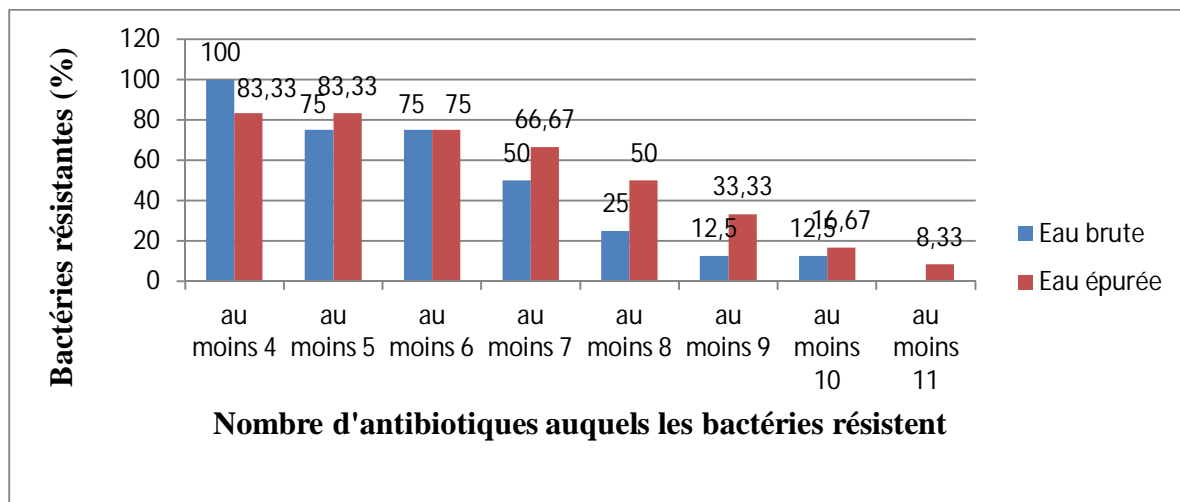
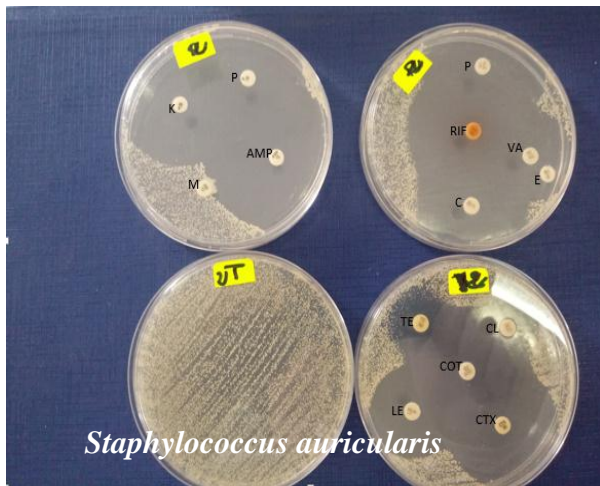


Figure 50 : Présente les taux de bactéries résistantes en fonction du nombre d’antibiotiques auxquels elles résistent, pour les bactéries isolées à partir de l’eau brute et de l’eau épurée.

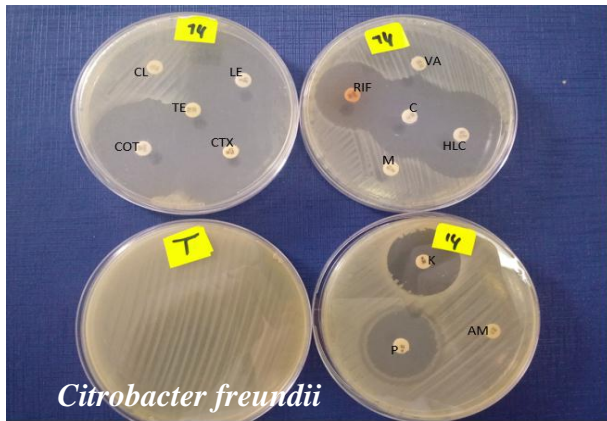
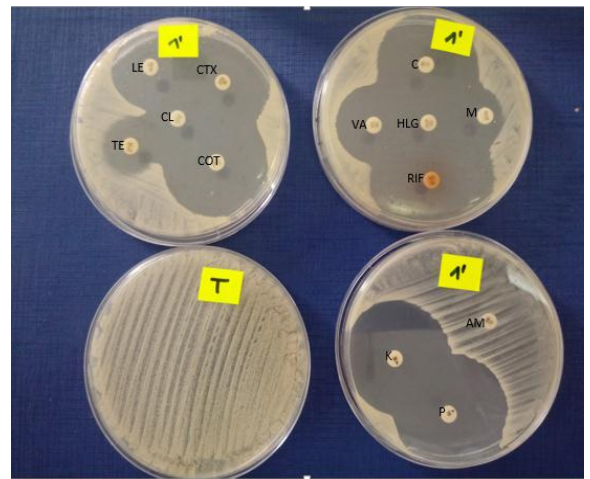
Dans l’eau épurée, on remarque que le taux de souches résistantes varie en fonction de nombre d’antibiotiques auxquels elles résistent, en effet, on observe une diminution progressive à partir d’un taux élevé et constant de 83.33% de bactéries résistantes à au moins quatre, cinq antibiotiques et commence à diminuer progressivement jusqu’à atteindre un taux de 8.33% de souches résistantes à au moins onze antibiotiques. Au-delà de onze, on observe l’absence de souches résistantes.

Quant à l’eau brute, on observe un taux élevé de 100% de bactéries résistante à au moins quatre antibiotiques et diminue progressivement jusqu’à un taux de 12.5% de souches résistantes à au moins dix antibiotiques. Au-delà de onze, on observe l’absence totale de souches résistantes.

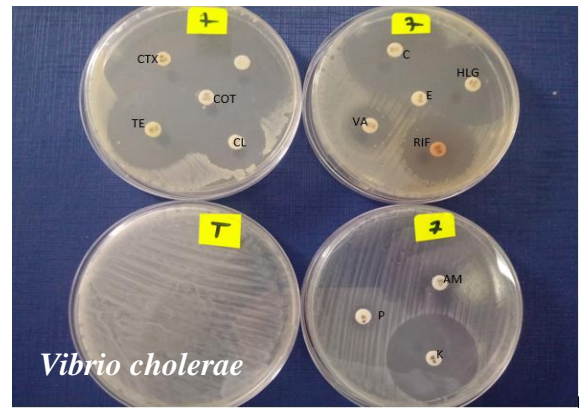
D'après ces résultats, on constate que les taux de bactéries résistantes au niveau de l'eau traitée à au moins onze antibiotiques sont élevés par rapport à l'eau brute où on observe l'absence de souches multi- résistant (plus de dix antibiotiques).



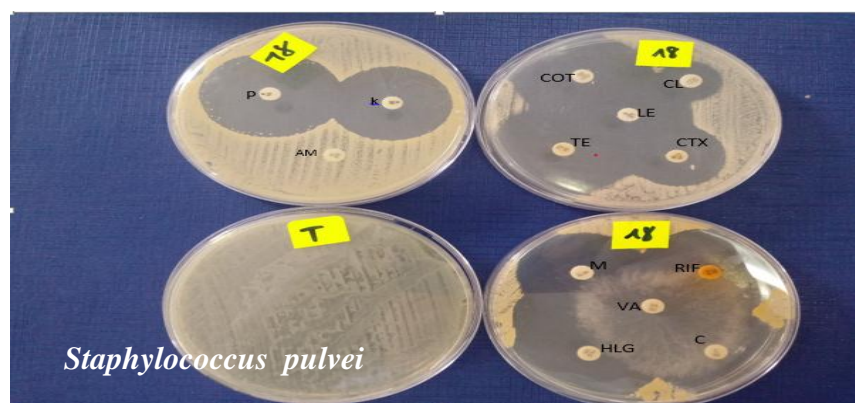
Staphylococcus auricularis



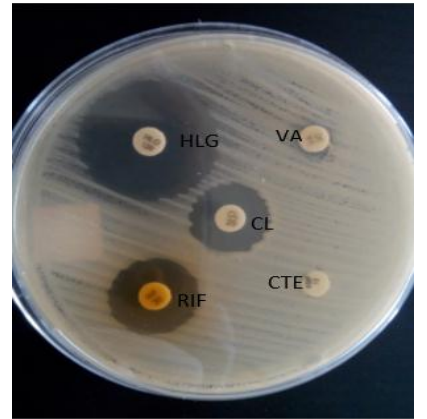
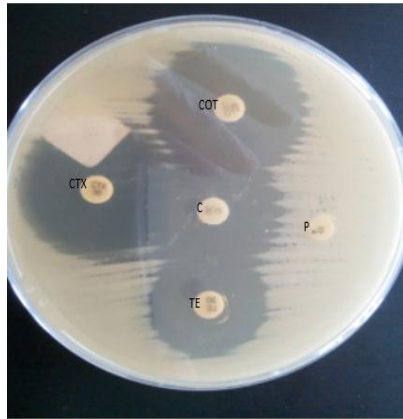
Citrobacter freundii



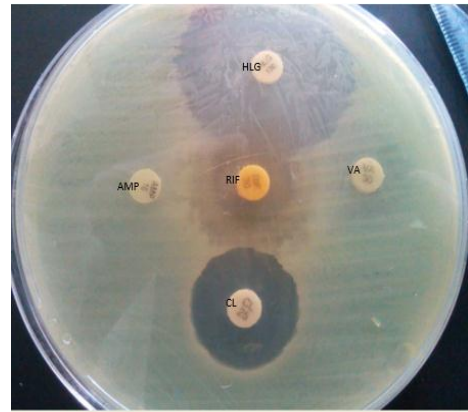
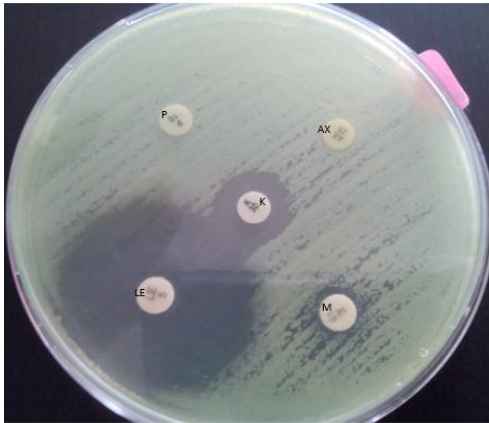
Vibrio cholerae



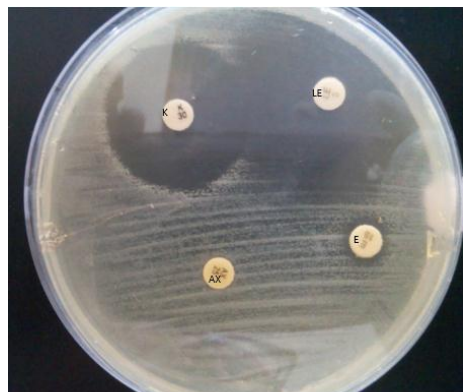
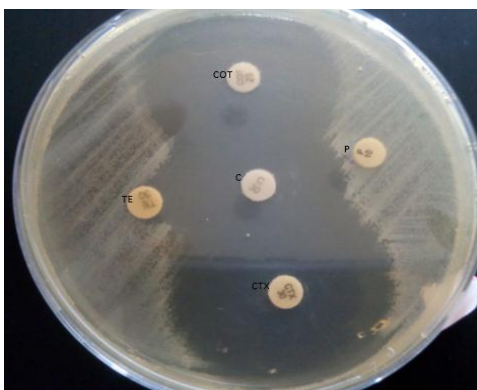
Staphylococcus pulvei



Klebsiella pneumoniae



Pseudomonas aeruginosa



Proteus mirabilis

Echantillon II / eau brute

Tableau XXXIII : Profil de résistance des bactéries isolées à partir de l'eau brute aux antibiotiques testés

Famille	Rifamicin e	Glycopeptide s	bêta - lactamine				Tétracyclin e	Macrolide	Polymyxine	Sulfamide	quino lone	Aminoside		Phénicol es
ATBs	RIF	VA	P	AX	A MP	CTX	TE	E	CL	COT	LE	K	HLG	C
<i>K.pneumoniae</i>	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>Providencia sp.</i>	S	R	R	R	R	R	S	I	S	S	S	S	S	R
<i>S.lutrae</i>	S	S	I	R	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S
<i>S.delphinii</i>	I	R	R	R	R	I	R	R	R	S	S	R	I	I
<i>Citrobacter sp.</i>	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
<i>S.auricularis</i>	R	R	S	R	R	I	S	R	R	S	S	S	R	R
<i>Brucella sp.</i>	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S
<i>S. pulvei</i>	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S

Eau épurée

Tableau XXXII : Détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du canal de l'eau épurée (EP) à la sortie de la STEP, selon les normes du comité français de l'antibiogramme

Famille	Rifamicine	Glycopepti des	beta - lactamine				Tétracycline	Macrolid e	Polymyxin e	Sulfamide	quinolon e	Aminoside		Phénicoles
ATBs	RIF	VA	P	AX	AM P	CTX	TE	E	CL	COT	LE	K	HLG	C
<i>S.delphinii</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>E.coli</i>	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S
<i>P.aeruginosa</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	R
<i>S.lutrae</i>	S	S	S	S	R	I	S	R	S	I	S	S	S	S
<i>Enterococcus sp.</i>	R	R	I	R	R	R	I	S	R	I	R	R	S	S
<i>Y.enterocolitica</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S
<i>K.pneumoniae</i>	R	R	R	R	R	I	I	R	R	S	S	S	S	I
<i>Providencia sp.</i>	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R
<i>P.mirabilis</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R
<i>S.sonnei</i>	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S
<i>S.epidermidis</i>	S	R	I	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	I
<i>C.perfringens</i>	I	R	R	R	R	R	R	S	R	I	R	S	S	S

Interprétation des résultats de L'antibiogramme

Résistance des souches aux β -lactamines

D'après nos résultats, 75% des souches bactériennes isolées de l'eau brute de l'analyse primaire et 92,31% souches isolées de l'eau épurée sont résistante à l'amoxicilline ainsi qu'on a enregistré pour l'analyse secondaire des taux de résistance allons de 87,5% pour l'eau brute à 83,33% pour l'eau épurée, les entérocoques, *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus* résistent à l'amoxicilline contrairement aux *Staphylococcus delphinii* qui lui est sensible.

Les travaux de (Xia *et al.*, 2012) sur la diversité de 2 intégrons responsable de l'antibiorésistance chez les bactéries à Gram négatif isolées des eaux usées en Chine, ont montré la présence des bactéries résistante aux β -lactamines (amoxicilline) dans les eaux usées : *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli* cela concorde avec nos résultat trouvés. L'origine de cette résistance est due à la présence d'intégrons au sein du génome bactérien.

Selon le travail de (Korzeniewski *et al.*, 2012) sur β -lactamase des Enterobacteriaceae isolées chez dans les effluents hospitaliers, ont trouvé un taux de résistance aux beta-lactamines de 95% à la Céfotaxime.

Résistance des souches aux tétracyclines

Dans nos études, 62,5% des souches résistantes à la tétracycline isolée de l'eau brute et 50% de souches a partir de l'eau épurée. Parmi les souches isolées durant les deux analyses effectuées pour l'eau brute et l'eau épurée, sont des Gram positif (*Enterococcus* sp.) et des Gram négatif (*Brucella melitensis*, *Yersinia enterocolitica*).

Selon l'étude de (Roland *et al.*, 2013), réalisée sur la modification des populations des (*Enterococcus* sp.) lié à l'antibiorésistance le long du processus de traitement des eaux usées dont la résistance des entérocoques vis-à-vis de macrolides, est mise en évidence par le biais d'une PCR qui révèle la présence de 21 isolats résistants aux tétracyclines et macrolides qui se présentent par des taux de 26% et 8% respectivement. Selon Les travaux de (Xia *et al.*, 2012) diversité de 2 intégrons responsable de l'antibiorésistance chez les bactéries à Gram négatif isolées des eaux usées en Chine

Resistance des souches aux macrolides

D'après nos résultats, 87,5% des souches bactériennes isolées de l'eau brute de l'analyse primaire et 69,23% souches isolées de l'eau épurée sont résistantes à l'érythromycine ainsi qu'on a enregistré pour l'analyse secondaire des taux de résistance allons de 87,5% pour l'eau brute à 66,67% pour l'eau épurée.

Parmi les souches obtenues des analyses effectuées de l'eau brute et épurée dont le profil montre une résistance à l'érythromycine de la famille des macrolides sont : *Vibrio sp.* , *Bacillus cereus*, *Klebsella pneumonie* et *Escherichia coli*.

Selon l'étude de (Roland et al., 2013), réaliser sur la modification des populations des entérocoques lié à l'apparition de la résistance aux antibiotiques le long du processus de traitement des eaux usées, la résistance des entérocoques vis-à-vis aux macrolides. Cette résistance est mise en évidence par le biais d'une PCR qui révèle la présence de 21 isolats résistants aux macrolides qui se présentent par des taux de 80% .Selon Les travaux de Xia et al (2012) sur la diversité de 2 intégrons responsable de l'antibiorésistance chez les bactéries à Gram négatif isolées des eaux usées en Chine

Resistance des souches aux quinolones

Dans nos études, 25 % des souches résistantes à lévofloxacine isolée de l'eau brute et 25% et 16,67% de souches à partir de l'eau épurée. Parmi les souches isolées durant les deux analyses effectuées pour l'eau brute et l'eau épurée, sont des Grams positifs (*Enterococcus sp.*, *Clostridium perfringens*) et des Grams négatifs (*Pseudomonas sp.*).

Selon le travail réalisé par (Tao, 2010) sur la détection des gènes de résistance à la tétracycline chez les Enterobacteriaceae isolées à partir d'échantillons d'eau de surface dans des rivières au sud de la Chine qui enregistre un taux faible de résistance à la lévofloxacine qui est de l'ordre de 5%.

Resistance des souches aux phénicoles

D'après nos résultats, 62,5% et 37,5% des souches bactériennes isolées de l'eau brute de l'eau épurée, l'analyse primaire et 76,92 et 25% souches isolées de l'eau épurée sont résistante au chloramphénicol de la famille des phénicoles.

Parmi les souches obtenues des analyses effectuées de l'eau brute et épurée dont le profil montre une résistance à l'érythromycine de la famille des phénicoles sont : *Proteus mirabilis* et *Brucella melitensis*.

Le travail mené par Mokracka. (2012) sur la multi résistance des entérobactéries dans les eaux usées ,montre des variations du taux de résistance des entérobactéries aux antibiotiques, allant de 35,3% pour l'eau brute, 21,4% pour le bassin d'aération et de 31,6% pour l'effluent final.

Résistance des souches bactériennes aux polypeptides

D'après notre étude, 37,5% souches isolées à partir de l'eau brute de la première analyse et 25% de souches isolées à partir de l'eau brute de la deuxième analyse, sont résistante à la Colistine (CL).

Parmi les souches isolées pour la première analyse, sont Gram négatif dont la majorité appartiennent à la famille des entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae* ; *Proteus mirabilis*) et (*Citrobacter sp*) pour la deuxième analyse, Selon une étude menée par (Huang , 2018) au laboratoire de Microbiologie CHU au Belgique, La résistance à la colistine est liée à des modifications de la composition des LPS des bactéries à Gram négatif, Ces modification ont toutes comme conséquence une diminution de la charge négative des LPS par ajout de résidus chargés positivement, entraînant ainsi une diminution d'affinité de la colistine pour sa cible

Ce qui concerne le résultat obtenu sur l'analyse de l'eau épurée, nous avons enregistré 61.54% de souches résistantes à la colistine (*Pseudomonas sp.*), ses résultats sont conformes aux résultats obtenus sur les Gram négatifs au niveau du CHU de Tlemcen, montre que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées résistent à la colistine avec un taux de 60 %. Selon les résultats obtenus par Theriault. (2015) portant sur l'évaluation de la résistance à la colistine chez *Escherichia coli*, montre que la résistance à la colistine est liée au phénomène d'acquisition de gènes, en comparant les résultats de la deuxième analyse à l'étude menée par Liqid.(2012) sur la résistance aux antibiotiques des bactéries Gram négatif, on constate que le nombre de souches résistante isolées sont nettement inférieur (33.33% souche résistante)

Résistance des souches bactériennes aux Aminosides

D'après notre étude, 25% et 20% souches isolées à partir de l'eau brute de la première analyse sont résistantes respectivement à la Gentamycine (HLG) et à la Kanamycine (K), les résultats de la deuxième analyse montrent le même taux de souches résistantes à la Kanamycine et la Gentamycine qui est de 25 %.

Parmi les souches obtenues lors de la première analyse sur l'eau brute dont le profil montre une résistance à la Gentamycine sont : *Staphylococcus delphinii* et *Klebsiella pneumoniae*, concernant les souches de la deuxième analyse sont : *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus auricularis*

Les souches obtenues lors de la première analyse et la deuxième analyse sur l'eau brute montrant une résistance à la Kanamycine sont respectivement : *Enterococcus* sp. ; *Klebsiella pneumoniae*. Nos résultats ne concordent pas aux résultats obtenus par (Jeanna *et al.*, 2011) sur « multi résistance Enterobacteriaceae in municipal wastewater » avec un taux de résistance à la Gentamycine de 22,1 % à l'entrée et 14,3 % à la sortie (dans le bassin d'aération) et un taux de résistance à la Kanamycine qui est de 62,5% à l'entrée et de 53% à la sortie

Ce qui concerne le résultat obtenu pour la première analyse de l'eau épurée, nous avons enregistré 34,46% de souche résistante pour la Gentamycine et 76,5% de souches résistantes pour la Kanamycine en parallèle, pour la deuxième analyse les taux sont, 8,33 % et 33,33 % de souches résistantes à la Gentamycine et à la Kanamycine respectivement.

Selon l'étude menée par (Chow, 2000) à Oxford sur « Aminoglycoside resistance in enterococci » montre que la résistance élevée aux aminoglycosides chez les entérocoques est généralement assurée par des enzymes modifiant les aminoglycosides, l'étude de l'hybridation de l'ADN montre que la résistance est due à la présence de gène codant pour des enzymes modifiant les Aminosides. De même pour l'étude menée par (Hassen Samia, 2013) sur la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen montrant une résistance de 23,8 % de souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux aminosides. D'après les résultats obtenus par (Quincampoix *et al.*, 2001) lors d'une étude menée sur « les Mécanismes de résistances des cocci Gram positif au service de microbiologie clinique », les Streptocoque comme les Entérocoques possèdent une résistance naturelle aux aminosides due à une anomalie de transport membranaire de ces antibiotiques.

Résistance des souches bactériennes aux sulfamides :

Dans notre étude, nous avons obtenu pour la première et la deuxième analyse des eaux brutes respectivement ,25%(*Enterococcus* sp.), et 0% de souches résistantes au Co-trimoxazole, en parallèle le taux de résistance obtenu pour l'eau épurée est de 46.5% (*Bacillus cereus* ; *Vibrio* sp.*Pseudomonasp.Citrobacter koseri*) et 58 %(*Pseudomonas aeruginosa* ; *Enterococcus* sp. ; *Providencia* sp. ; *Shigella sonneii*) pour l'analyse une et deux respectivement. Selon une étude faite (Kim et al., 2013) montre que la résistance acquises est aussi bien de nature chromosomique que plasmidique avec 25 % 0 40 % de résistance pour les entérobactéries et 20 à 40 % de résistance pour *staphylocoque aureus*

Résistance des souches bactériennes aux Glycopeptides :

D'après nos résultats, une forte proportion des souches bactérienne isolées à partir de l'eau brute à la vancomycine qui de 75% pour la première analyse et de 62.5 % pour la deuxième analyse .quant au taux obtenu pour l'eau usée traitée, varie de 92% de souches résistante pour l'analyse une et de 75 % pour la deuxième, selon (Yala et al. (2011) la vancomycine et la tecoplanine ont un spectre d'activité étroit réservé aux bactéries à Gram positif et sont d'usage exclusivement hospitalier. Ces molécules sont indiquées dans les infections sévères à cocci à Gram positif résistant aux bêta-lactamines (entérocoques et staphylocoques).

Résistance des souches bactériennes a la Rifamycine :

D'après nos résultats, le taux souches bactérienne isolées à partir de l'eau brute à la Rifampicine est de 37,5 % pour la première analyse et de 25% pour la deuxième analyse .quant au taux obtenu pour l'eau usée traitée, varie de 61,54% de souches résistantes pour l'analyse une et de 25% pour la deuxième.

Dans le cas de notre étude nous avons isolé des souches multi résistante allant pour la première analyse de l'eau brute de 100% de résistance à au moins 4 antibiotiques appartenant à des familles différentes à 37 ,5 % de souches qui résistent au moins à 10 antibiotiques , de même pour la deuxième analyse là où nous avons recenser 100% de souches résistante à au moins 4 Antibiotiques jusqu'à 12,5 % de souches résistantes à au moins 10 antibiotiques , en Comparant ses résultats à ceux obtenue pour l'analyse de l'eau brute et la première analyse à la sortie

(92,31% de résistance à au moins 4 antibiotiques à 8,33% de résistance à au moins 14 antibiotiques) et pour la deuxième analyse on enregistre 83,33% de résistance à au moins 4 antibiotiques jusqu'à 8,33% de résistance à au moins 14 antibiotiques, ses résultats concorde avec les résultats obtenus par (Guessend .,2013) et sont nettement supérieur aux résultats obtenus par (Ramarokoto., 2006) qui est de 0.2% de souches résistante à la rifampicine.

Interprétation des résultats parasitologique

Après la réalisation de diverses observations, nous avons pu observer différentes formes de parasites qui sont cité ci-dessous

Lecture des résultats

Afin d'identifier les formes parasitaire observées nous avons utilisé la catalogue de parasitologie de (Guillaume, 2007) dont la classification est suivie par une description morphologique du parasite

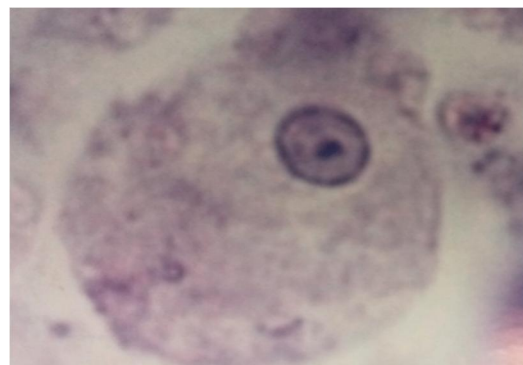


Figure34 : $\times 100$ *Entamoeba histolytica*
(Guillaume, 2007)

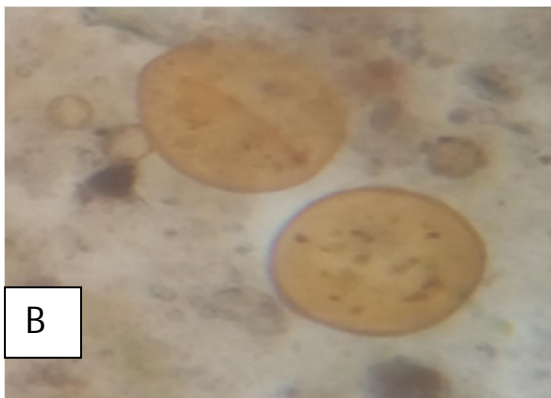
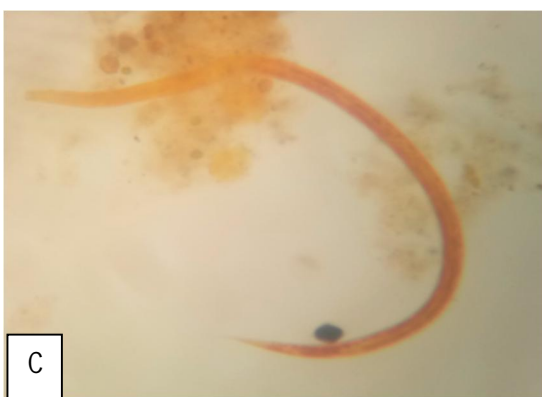


Figure36 : $\times 100$ kystes *Giardia duodenalis*
(Guillaume, 2007)



Larves de nématodes

La description morphologique des parasites observés est citée dans le tableau ci-dessous

Tableau : Représente la description morphologique observées

Parasite observés	Formes observée	Description morphologiques
Entamoeba histolytica	Kyste	Cytoplasme filamenteux , granuleux , présence d'un noyau
Giardia duodenalis	Kyste	Présence de petits restes flagellaires
Larves de nématodes	Larve	Ver allongé , cylindrique à corps non segmenté

Conclusion et perspectives

D'une part l'eau usée chargée de différents polluants (chimique, biologique et organique) constitue un impact non négligeable sur l'environnement dans son ensemble et les ressources en eau douce (superficielle et souterraine). d'autre part ces eaux une fois épurée adéquatement, les eaux usées pourraient être une source d'eau durable dans l'avenir pour l'agriculture qui est considérée comme la première utilisatrice d'eau douce dans le monde.

Ce travail s'était fixé comme objectifs principales des contrôler le traitement des eaux usées urbaines par le procédés de boues activées par la station l'épuration des eaux usées de pont de bougie de la ville de Tizi-Ouzou, les deux points choisis pour ça sont l'eau brute prélever à l'entrée et l'eau traitée à la sortie de la station de traitement .

Ce travail de recherche entre dans le cadre de l'étude de la qualité physico-chimique, bactériologique, et parasitaire.

Les analyses avait pour but de mesurer les paramètres de pollution chimiques (nitrate , nitrite , phosphore) , physique (le température , le potentiel hydrogène , et la conductivité) et organiques (DBO₅ , DCO) , et la recherche de de coliformes fécaux , et les streptocoques fécaux , staphylocoques , ainsi que le dénombrement de la flore mésophile en amont et en aval de la station d'épuration .

Les résultats obtenus montrent, une réduction remarquable des paramètres de pollutions de caractère organique, qui sont la DCO et la DBO₅ mesurée à la sortie de la station (eau épurée), elles restent toujours conformes à la réglementation fixée dans le journal officiel de la république algérienne (JO) et aux normes fixées par l'organisation mondiale de la santé(OMS) qui ne dépasse pas (90mg/l) pour la DCO et (30 mg/l) pour la DBO₅. De même pour les résultats obtenus pour la quantité de des (nitrite, nitrate) mesurée à la sortie qui sont inférieur à la limite préconiser (30 à 50 mg /l). Cependant la quantité de phosphore mesurée dans l'eau usées traitées (4.88mg/l) est non conforme à la valeur limite préconiser par l'OMS (2 mg /l).

Globalement, ces résultats témoignent un bon déroulement du processus épuratoire en qualité d'abattement de la pollution chimique de l'eau et ne présentent aucun danger quant à leur réutilisation en agriculture, un abattement en phosphore et nitrate est strictement indiqué en cas de leur rejets directe dans le milieu aquatique.

Les résultats du dénombrement de la flore mésophile aérobie total obtenus montrent que l'eau usée à l'entrée est faiblement chargé : $2,2 \cdot 10^5$ UFC /ml pour les germes banaux et $(1,8 \cdot 10^5)$ à

$2,8.10^5$ UFC /ml) pour les germes pathogènes par rapport l'eau épurée qui varie entre ($2,10^4$ à $2,2.10^5$ UFC / ml) pour les germes banaux et ($3,1.10^5$ à $3,8.10^5$ UFC/ml) pour les germes pathogènes

L'étape crucial de notre travail de recherche ,c'est l'isolement, identification et l'étude de la résistance des souches bactériennes rencontrées dans les deux types d'eau (eaux brute, eaux épuré), parmi les bactéries qu'on a pu identifier à partir de 51 Souches isolées dont la majorité sont des Gram négatifs et appartiennent aux genres suivant (Klebseilla ; Yersinia ; Salmonella ; Shigella ; Escheichia ; Vibrio ; Pseudomonas) et des Gram positif (Bacillus ; Staphylococcus ; Enterococcus, Clostridium).

Dans cette étude nous avons essayé de déterminer le profil de résistance des bactéries isolées dans l'eau brute et épurée aux différents antibiotiques testés. De fortes résistance ont été trouvées chez les souches étudiées : (75 % à 87%) de souches isolées de l'eau brute montrent une résistance élevée aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, avec des taux de résistance qui varie de 92,31 à 93,33 % pour l'eau traitée. De même pour la famille des glycopeptides, dont nous avons noté une résistance à la vancomycine qui varie entre 75% à 92% pour l'eau traitée et 62,5% à 75% pour l'eau brute. Pour l'eau traitée nous avons trouvé des taux de résistance de 76% et de 34% respectivement pour la Kanamycine et la gentamycine. Dans l'eau brute nous avons enregistré pour le chloramphénicol : 37,5% à 62,5% de taux de résistance et 25% à 76,92% de souches résistantes à cet antibiotique pour l'eau épurée

Certains groupes ont cependant montré une faible efficacité sur les souches étudiées, comme pour la famille des polypeptides (colistine) avec un taux de résistance allant de 25% à 37,5% pour les souches isolées de l'eau brute par rapport à 61,54 % pour l'eau traitée , pareille pour la famille des sulfamides (co-trimoxazole) dont nous avons enregistré un taux de résistance pour l'eau épurée et l'eau brute : 25% et 46,5% respectivement .

La simple observation des parasites dans l'eau traitée montre la présence de protozoaires : Entamoeba histolytica qui est une amibes pathogène et Giardia duodenalis et des helminthes (larves de nématodes).

Ces résultats obtenus, montrent qu'il est important d'optimiser le processus épuratoire des eaux usées en vue d'éliminer au maximum la pollution de l'eau notamment la pollution biologique (bactéries et parasites) et chimiques afin de diminuer l'impact de ses nuisance, sur le milieu récepteur

Il paraît aussi important de mettre à la lumière l'impact de rejets chargés de résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de l'émergence et la propagation de souches résistantes dans le milieu environnemental. Une problématique majeure que la station doit prendre en considération car un développement croissant de l'antibiorésistance constitue un danger majeur pour la santé humaine et animal dans la mesure où il conduit à la disparition progressive de plusieurs classes pharmacologiques.

Perspectives

Concernant le traitement des eaux usées

- Contribution à l'optimisation du traitement physicochimique et biologique des eaux usées
- Installation d'un laboratoire de microbiologie pour effectuer des analyses quantitative de la charge microbienne dans l'effluent de sortie afin de prévenir les risques sanitaires associée à l'utilisation des eaux usées en agriculture .
- Etude de la qualité microbiologique des produits de récolte
- Etude de l'effet des eaux usées traitées sur la contamination chimiques et bactériologique des eaux douce superficielle et les nappe phréatiques.

Concernant les souches résistantes et la protection de la santé publique

- Recours aux méthodes de biologie moléculaire pour déterminer le support génétique de la résistance (résistance chromosomique ou extra chromosomique)
- Surveillance de taux de souches résistantes afin de prévenir leur émergence et leur propagation dans le milieu récepteur

JEAN-PAUL L., MONIQUE-LARPENT G. (1985).Eléments de microbiologie ,1^{ère} édition .Herman, paris .464

MOULTON I., EDOUARD B., YVE D., LUC D. (2000) .Antibiotiques Antiviraux Anti-infectieux. France .285 p.

HOCINE H. (2016).Microbiologie Fondamentale et appliquée, tomeI, Alger, Houma édition.477 p.

HOCINE H. (2016) .Microbiologie Fondamentale et appliquée, Tome II, Bouzaréah -Alger .Houma édition. 918 p.

ABDENNOUR D. (2015).Le mémoire de master, ville Tizi-Ouzou .édition EL-AMEL .208p

GROSJEAN J., CLAVE D., ARCHAMBAUD M ., PASQUIER C. (2009). Bactériologie et virologie pratique, 1^{ère} édition .Bruxelle. De boeck.283p.

VIVIANE G. (2007).Parasitologie, De boeck, Paris .182p

VILAGENES R (2003).Eau, environnement et santé publique ,2^{ème} édition .Tec&Doc, Paris .88p.

BOUZIANI M. (2000).L'eau, de la pénurie aux maladies. Édition IBN- KHALDOUNE

YVE L. (2008). L'eau dans le monde, les batailles pour la vie, 2^{ème} édition. Larousse .90p

SINGLETON P. (2005).Bactériologie ,6^{ème} édition .DUNOD, Paris.154-488.

HYUNOOK K., YOUNGMIN H., PARK J., VIRENDERK.,SHARMA.CHO S. (2013).Sulfonamides and tetracycline in livestock wastewater.Chemospher, 30:888-894.

Chow J. (2000).Aminoglycoside resistance in enterococci. Clinical infectious diseases 31(2), 586-589.

RAMAROKO H., SOARES L., MOSA M. (2005).La résistance aux antituberculeux.Tueberclung ,14(6) :747-750.

QUINCAMPOIX J., MAINARDI J. (2001).Mécanismes de résistance des cocci Gram négatifs. Microbiologie clinique, 10 :267-75.

LIAZID A. (2012), Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentant au niveau du CHU de Tlemcen. Mémoire de magistère. Algérie.

THERIAULT W. (2015).Evaluation de l'acquisition de gène de résistance à la colistine chez *Escherichia coli* O149 chez le porc .Mémoire de magistère. Montréal.

OMS(2012).L'utilisation sans risque des eaux usées, des Excréta et des eaux ménagères .organisation mondial de la santé (OMS).225.

YALA D., MERAD A.S., MOHAMEDI D., OUAR-KORICH M.N. (2001).Résistance bactérienne aux antibiotiques .Médecine du Maghreb, 5-7-8-12.

GUESSEND N. K., OUATTARA M. B .,NEVRY R K., GBONO V ., TIEKOURBA K. B.DOSSO M., GERMA R .(2013).Etude de bactéries multirésistante des effluent d'un centre hospitalier et universitaire (CHU) de la ville d'Abidjan .Cote D'Ivoire .Journal of applied bioscience , 69, 5460-5462

METAHRI M S. (2012).Elimination de simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées, par des procédés mixtes, cas de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou .Thèse de doctorat. Tizi-Ouzou.

GAUDY C., BUXERAUD J. (2005).Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique, Paris Pharma.

COURVALIN P., LECLERC R.(2012).Antibiogramme , 3^{eme} édition .

OUAZZI H., SADALLAH S. (2014).Recherches des helminths dans les boues résiduaire de la nouvelle station d'épuration Est de la ville de Tizi-Ouzou. Mémoire de master.49

FRANCK R. (2002). Analyse des eaux aspects réglementaires et techniques. Bordeaux, 109-237.

KOLLER E. (2004).Traitement des pollutions industrielles : eau, air, sol et boues. Duond.Paris.

GOMELLA C., GUEREE H. (1978).Les eaux usées dans les agglomérations urbaines ou rurales. Tome 2 ; le traitement .Edition Eyrolles. Paris.

FAO (2003).L'irrigation avec des eaux usées traitées. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et de l'agriculture (FAO).

HANNACHI A., GHARZOULI R., DJELLOULI TABET Y. (2014). Gestion et valorisation des eaux usées en Algérie. Skikda.

HENRI P (2012). L'assainissement non collectif. Eyrolles. Paris, 107.

ISO 14001 (2014).Office National de l'Assainissement. Système de Management Environnemental.

STRAUB J (2012). *Les résidus médicamenteux dans les eaux -les options d'action.* Université de Lausanne. 29 juin 2012.

JO (2012) .Décret exécutif n° 07-149 du 3 Joumada El Oula 1428 correspondant au 20 mai 2007 fixant les modalités de concession d'utilisation des eaux usées épurées à de fins d'irrigation. Réglementation Algérienne.

SPIROUX J, HAGUENOER. J, WENNMALM. A (2009). L'environnement chimique : Eau et résidus médicamenteux. *Recherche, quantification et suivi des résidus médicamenteux dans les effluents hospitaliers du CHU.* Rouen.

BERNARD B (1991). Procédés Extensifs D'épuration Des Eaux Usées. Luxembourg, 40.

SINGLETON P (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. Duond.Paris

GROSJEAN J. (2011). Bactériologie et Virologie pratique. Boeck University. Bruxelles.290.

Mokracka J., Koczura R., Kaznowski A (2012). Multiresistant Enterobacteriaceae with class 1 and class 2 integrons in a municipal wastewater treatment plant. 89, 61-614.

ANNEXE 2 : Matériels et produit chimique et Compositions chimiques des milieux de cultures utilisées dans l'identification bactériologique.

➤ Verrerie :

Lame et lamelle ;

Becher ;

Pipette pasteur ;

Boite de pétries ;

Cuvette ;

Micropipette automatique ;

Ecouvillons ;

Tubes à vices stériles ;

Flacons stérile ;

Embout stériles ;

Erlenmeyer ;

➤ Matériels expérimental

Autoclave ;

Bain-marie (wisebath) ;

Agitateur magnétique avec plaque chauffante (Raypa) ;

Incubateur ;

Microscope optiques ;

Spectrophotomètre ;

Balance ;

Compteur de colonies (Funke gerber) ;

➤ **Composition des milieux utilisés (composition en g/l) :**

• **Milieux solides :**

❖ **Gélose citrate Simmons :**

Sulfate de magnésium	0,2g
Phosphate mono-ammoniaque.....	1,0g
Phosphate bi potassique.....	1, 0g
Citrate de sodium	2,0g
Chlorure de sodium	5,0g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Agar.....	15g
Eau distillée	1000ml

Ph : 6,8

❖ **Gélose VF :**

Viande de bœuf parée, dégraissée, hachée	3600g
Foie de bœuf paré et haché.....	1000g
HCL pur.....	150g
Pepsine (titre 500).....	10 g
Eau ordinaire	18 litres

Ph final 7 ,4 – 7,6

❖ **Gélose Chapman :**

Extrait de levure	2,5g
Peptone de caséine	10,0g

Gélatine	30g
Lactose.....	0,2g
Mannitol.....	10,0g
Chlorure de sodium.....	75,0g
Phosphate dipotassique.....	5,0g
Agar-agar.....	12,0g

❖ Milieu slanetz et bartley:

Tryptose.....	20g
Extrait de levure.....	5g
Glucose.....	2g
Azide de sodium.....	0,4
Agar	10g
Chlorure de tetrazolium(TTC).....	0,1g
Phosphate di sodique.....	4g
Gélose.....	14g

PH final 7,2

❖ Gélose ENDO :

Peptone de viande	10,0g
Lactose.....	10,0g
Sulfite de sodium anhydre.....	2 ,5g
Fuschine basique	0,4g
Phosphate dipotassique	3 ,5g
Agar-agar.....	12,5g

Ph 7,4

❖ Hektoen :

Protéose peptone.....	12,0g
Extrait de levure.....	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Thiosulfate de sodium.....	5g
Sels biliaires.....	9g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5g
Salicine.....	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuschine acide	0,1g
Bleu de bromothymol.....	0,065g
Agar.....	14g

Ph 7,5

❖ Gélose cétrimide :

Peptone	20g
Sulfate de potassium.....	10g
Chlorure de magnésium.....	3g
Phosphate dipotassique.....	0,3
Cétrimide.....	0,2g
Acide nalidixique.....	0,015g
Agar.....	13g

❖ King A :

Peptone de gélatine.....	20g
Glycérol.....	10g
Sulfate de potassium anhydre.....	10g
Chlorure de magnésium anhydre.....	1,4g
Agar.....	15g

Ph 7,2

❖ King B

Protéose peptone n°3 ou poly peptone (BBL).....	20g
Glycérol.....	10g
Phosphate bi potassique anhydre	1,5g
Sulfate de magnésium.....	1,5g
Agar.....	15g

Ph 7,2

❖ Gélose TSA :

Peptone de caséine	17,0 g
Peptone de farine de soja	3,0 g
D-glucose	2,5g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate dipotassique	2,5 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7, 3+- 0.2.

❖ Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de bœuf	300 g
Hydrolysate de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1,5 g
Agar	17 g
Eau distillée	1000 ml

❖ Gélose BHI :

Infusion de cervelle de veau.....	200,0 g
Infusion de cœur de bœuf	250,0 g
Peptone de gélatine	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate disodique	2,5 g
Glucose.....	2,0 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	17,0 g

❖ Gélose nutritive :

Macération de viande (ou eau distillée + extrait de viande).....	1000 ml
Peptone tryptique	15,0 g
NaCl ou KCl	5,0 g
Agar	15 à 20 g

❖ Gélose bile esculine azoture (BEA).

Peptone.....	17,0 g
Peptone pepsique de viande	3,0 g

Extrait de levure	5,0 g
Esculine.....	1,0 g
Citrate de sodium	1,0 g
Citrate de fer ammoniacal.....	0,5 g
Bile de bœuf déshydratée	10,0 g
Azide de sodium	0,2 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar.....	13,0g

pH = 7,1.

❖ Gélose lactosée au tergitol 7 et au TTC :

Extrait de viande	5,0 g
Peptone	10,0 g
Extrait de levure	6,0 g
Lactose.....	20,0 g
Tergitol 7.....	10 mg
TTC (triphenyl tetrazolium chloride).....	25,0 mg
Bleu de bromothymol	50,0 mg
Agar	13,0 g

pH= 7,2

❖ Gélose au sang cuit (gélose chocolat) :

Polypeptone	15 g
Amidon de mais.....	1,0 g
Phosphate dipotassique	4,0 g

Phosphate monopotassique	1 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Hémoglobine.....	10 g
Agar	10 g

pH= 7,2

❖ Gélose au sang frais.

Mélange spécial de peptones	23 g
Amidon	1,0 g
NaCl.....	5 g
Agar	10 g
Sang de mouton	50 ml

pH final= 7,3.

❖ Gélose tryptone glucose extrait de viande (TGEA) :

Extrait de viande	3g
Peptone de caséine	5g
Glucose	1 g
Agar.....	15g

pH=7.

❖ Gélose plate PCA :

Tryptone.....	6.0g
Extrait de levure	2.5 g
Glucose.....	1.0 g
Agar	15g

pH=7.

❖ Gélose à ADN :

ADN.....	0.3g
Bleu de toluidine (0.1 M)	3.0 ml
Tampon tris pH 9 (0.05M).....	1000ml
Chlorure de calcium 0.01M	1.0ml
Chlorure de sodium	10g
Agar	10 g

pH=9.

ANNEXE 3 : conditions techniques générales pour la méthode de diffusion (CA-

Préparation des milieux	<ul style="list-style-type: none">• Préparer la gélose de MH selon les indications du fabricant• L'épaisseur de la gélose doit être de 4 mm ± 0,5 mm une boîte de 90 mm de diamètre
Inoculation des géloses	<ul style="list-style-type: none">• L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min. qui suivent sa préparation.• Son emploi doit être fait au plus tard dans les 60 min. qui suivent sa préparation
Dépôt des disques imprégnés d'antibiotiques	<ul style="list-style-type: none">• Déposer les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.• Le nombre de disques déposés par boîte est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques. Il est important que les diamètres des zones d'inhibition soient mesurables. Le nombre maximum de disques est fonction de la bactérie et des antibiotiques car certains entraînent pour des souches sensibles, des zones très larges. Un maximum de six disques convient pour les boîtes de 90 mm de diamètre,
Incubation des boîtes	<ul style="list-style-type: none">• Les incubées idéalement dans les 15 min. qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies.
Lecture des boîtes après incubation	<ul style="list-style-type: none">• La culture doit être répartie sur toute la surface de la gélose de façon à obtenir des zones d'inhibition circulaires.• La présence de colonies isolées indique que l'inoculum est trop faible. Refaire le test• Vérifier que les diamètres des zones d'inhibition sont dans les limites du contrôle de qualité

SFM ,2018)

Résumé

L'objectif de cette étude est la caractérisation physico-chimique, bactériologique et parasitaire, ainsi que l'étude de l'antibiorésistance des souches isolées à partir des deux types d'eaux (eau brute, eau traitée) de la station d'épuration des eaux usées de pont de bougie de la ville de Tizi-Ouzou, le dénombrement de la flore mésophile totale (germes saprophytes et pathogènes) obtenus montrent que l'eau usée à l'entrée est faiblement chargée : $2,2 \cdot 10^5$ UFC/ml pour les germes banaux et ($1,8 \cdot 10^5$ et $2,8 \cdot 10^5$ UFC/ml) pour les germes pathogènes par rapport à l'eau épurée pour les deux analyses ($2 \cdot 10^4$ et $2,2 \cdot 10^5$ UFC/ml) pour les germes banaux et ($3,1 \cdot 10^5$ et $3,8 \cdot 10^5$ UFC/ml) pour les germes pathogènes, l'observation au microscope de l'état frais et coloré indique la présence de parasites pathogènes de protozoaires : *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenales* et des helminthes (larves de nématodes). Un total de 51 bactéries ont été isolées dont 41 souches ont été identifiées, dont la majorité sont des Gram négatifs et appartiennent aux genres suivant (*Klebsella*; *Yersinia*; *Salmonella*; *Shigella*; *Escherichia*; *Vibrio*; *Pseudomonas*) et des Gram positif (*Bacillus*; *Staphylococcus*; *Enterococcus*, *Clostridium*), le teste de résistance montre des taux de résistance élevée sur l'ensemble des antibiotiques testés sur les souches isolées à partir de l'eau brute pour les deux analyses : Rifampicine (37,5 % et 25%), Vancomycine (75% et 62%), Ampicilline (75% et 87,5%), Colistine (62,5% et 37,5%), Gentamycine (25%), Amoxicilline (87,5 % et 100 %), Pénicilline (87,5 % et 62,5 %), Erythromycine (87,5 %), Lévofloxacine, Kanamycine et le chloramphénicol (25%), Céfotaxime (62,5% et 50%), Co-trimoxazole (62,5% et 50%), et à partir de l'eau épurée : Rifampicine (61,54 % et 33,33%), Vancomycine (92,31% et 75%), Ampicilline (92,31% et 83,33%), Colistine (100% et 66,67%), Gentamycine (38% et 8,33%), Amoxicilline (92,31% et 75%), Pénicilline (92,31% et 66,67%), Erythromycine (69,23 % et 66,67%), Lévofloxacine (38,46 %, 16,67%), Kanamycine (76,92% et 33,33%), tétracycline (61,54% et 41,67%) et le chloramphénicol (76,92 % et 42,57 %), Céfotaxime (61,54% et 58,33%), Co-trimoxazole (46,15% et 33,33%), l'étude de l'antibiorésistance à montrer l'existence de bactéries multi-résistantes (à au moins 4 antibiotiques appartenant aux différentes familles), cela constitue un danger majeur pour la santé humaine et animal suite à la dissémination de ces bactéries.

Mots clés : eau usée, flore mésophile total, parasites, Antibiogramme, Résistance aux antibiotiques

Abstract

The objective of this study is the physicochemical, bacteriological and parasitic characterization, as well as the study of the antimicrobial resistance of strains isolated from the two types of water (raw water, treated water) of the treatment plant. "Pont de bougie" wastewater from the city of Tizi-Ouzou, enumeration of the total mesophilic flora (saprophytic and pathogenic germs) obtained show that the waste water at the entrance is weakly loaded: $2,2 \cdot 10^5$ CFU/ml for common germs and ($1,8 \cdot 10^5$ and $2,8 \cdot 10^5$ CFU/ml) for pathogenic germs compared to purified water for both analyzes ($2 \cdot 10^4$ and $2,2 \cdot 10^5$ CFU/ml) for common and $3,1 \cdot 10^5$ and $3,8 \cdot 10^5$ CFU/ml) for pathogenic germs. Microscopic observation of the fresh and colored state indicates the presence of pathogenic parasite protozoa: *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenales* and helminths (nematode larvae). A total of 51 bacteria have been isolated, 41 of which have been identified, the majority of which are Gram-negative and belong to the following genera (*Klebsella*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Pseudomonas*) and Gram-positive (*Bacillus*, *Staphylococcus*; *Enterococcus*, *Clostridium* the resistance test shows high levels of resistance on all the antibiotics tested on the strains isolated from the raw water for the two analyzes: Rifampicin (37,5% and 25%), Vancomycin (75% and 62%), Ampicillin (75% and 87,5%), Colistin (62,5% and 37,5%), Gentamycin (25%), Amoxicillin (87,5% and 100%), Penicillin (87,5% and 62,5%), Erythromycin (87.5%), Levofloxacin, Kanamycin and Chloramphenicol (25%), Cefotaxime (62,5% and 50%), Co-trimoxazole (62.5% and 50%), and from purified water: Rifampicin (61,54% and 33,33%), Vancomycin (92,31% and 75%), Ampicillin (92,31% and 83,33%), Colistin (100% and 66%), 67%), Gentamycin (38% and 8,33%), Amoxicillin (92,31% and 75%), Penicillin (92,31% and 66,67%), Erythromycin (69,23% and 66,67%), Levofloxacin (38,46%, 16,67%), Kanamycin (76,92% and 33,33%), tetracycline (61,54% and 41,67%) and chloramphenicol (76,92% and 42,57%), Cefotaxime (61,54% and 58,33%), Co-trimoxazole (46,15% and