

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE, SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE
BOBO-DIOULASSO (UPB)

Unité de Formation et de Recherche en
Sciences et Techniques (UFR/ST)



MINISTERE DE LA SANTE
SECRETARIAT GENERAL

LABORATOIRE NATIONAL DE SANTE
PUBLIQUE

Direction Régionale de Bobo-Dioulasso



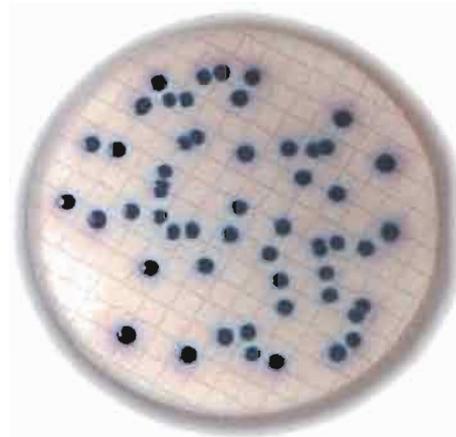
RAPPORT DE FIN DE CYCLE

Filière: Génie Biologique; Option : Agroalimentaire

Thème

Etude comparative de la qualité microbiologique des eaux conditionnées issues de robinets et de forages

PRESENTE PAR: DJIRE Karidjatou



DIRECTRICE DE MEMOIRE: Dr Emilie DAMA
MAITRE DE STAGE: Mr. Bernard OUEDRAOGO

DEDICACE

Je dédie ce mémoire

- ☺ Au tout puissant **ALLAH** le clément et au prophète Mohamed paix et salut sur lui.
- ☺ **A mes grands parents** : Que Dieu le tout puissant vous accueille dans sa miséricorde.
- ☺ **A mes parents** : Vous avez fait d'énormes sacrifices pour vos enfants et vous n'avez jamais cessé de nous prodiguer des conseils.
- ☺ A mon oncle **DJIRE Souleymane** et son épouse : Que ce travail qui est aussi le votre vous témoigne ma reconnaissance et mon affection.
- ☺ **A mes frères, mes sœurs, cousins et cousines**

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre profonde gratitude à tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent :

- ✓ A l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso (UPB), et plus spécifiquement à la direction de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques (UFR/ST) et à l'ensemble de son personnel.
- ✓ Au **Dr KABORE Jacques**, pour avoir accepté présider le jury de la soutenance.
- ✓ A ma directrice de mémoire **Dr DAMA Emilie**, pour avoir accepté assurer l'encadrement de notre travail.
- ✓ Au **Pr Koiné Maxime DRABO** Directeur Général du Laboratoire National de Santé Publique (LNSP), pour nous avoir accueillies en stage dans votre institution.
- ✓ A la Direction Régionale de Bobo-Dioulasso/LNSP et son personnel pour nous avoir accueilli. Nos remerciements vont particulièrement à l'endroit du Directeur Régional du LNSP Bobo, **Dr Jean Pierre Nabléni OUATTARA**.
- ✓ A mon maître de stage **Mr Bernard OUEDRAOGO**, pour sa disponibilité et son assistance scientifique.
- ✓ A **Mr Roland TRAORE** et l'ensemble du personnel pour leur conseil et encadrement de qualité ainsi qu'à la Direction des Ressources Humaines.
- ✓ A ma famille, pour son affection, son éducation et tous les efforts consentis pour mes études.
- ✓ A tous nos camarades stagiaires du LNSP pour les instants de cordialité passés ensemble,
- ✓ Enfin, à toutes les personnes qui, de près ou de loin ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce mémoire.

SOMMAIRE

DEDICACE	I
REMERCIEMENTS	II
SOMMAIRE	III
AVANT-PROPOS	V
SIGLES ET ABBREVIATIONS	VI
LISTE DES ILLUSTRATIONS	VII
LISTE DES TABLEAUX	VII
RESUME	VIII
INTRODUCTION	- 1 -
PREMIERE PARTIE: GENERALITES	- 1 -
I. PRESENTATION DU LABORATOIRE NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE	- 1 -
I.1. Historique	- 2 -
I.2. Présentation et situation géographique de la Direction Régionale de Bobo (DRB)	- 2 -
I.3. Missions et attributs du LNSP	- 2 -
II. NORMES ET QUALITE D'UNE EAU POTABLE	- 3 -
II.1. Définition de quelques concepts	- 3 -
II.2. Les germes indicateurs de contamination fécale	- 6 -
III. LES PRINCIPALES RAISONS DE CONTAMINATION DES EAUX CONDITIONNEES ET LES MALADIES HYDRIQUES	- 8 -
III.1. Les raisons de contamination	- 8 -
III.2. Mesures à adopter pour avoir une eau de bonne qualité microbiologique	- 9 -
III.3. Les maladies hydriques	- 10 -
III.4. Les bienfaits de la consommation de l'eau potable	- 10 -
DEUXIÈME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE	- 12 -
I. METHODOLOGIE	- 13 -
I.1. Type et lieu d'étude	- 13 -

I.2. Echantillonnage.....	- 13 -
I.3. Les matériels utilisés pour l'analyse microbiologique.....	- 13 -
I.4. Méthodes utilisées.....	- 15 -
III. DISCUSSION	- 25 -
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	- 26 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 27 -
ANNEXES	- 29 -

AVANT-PROPOS

L'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso (UPB) a été créée par le décret n°2002-288/PRES/PM/ MESSRS/MFB du 29 juillet 2002. Elle a été instituée dans le but de palier au nombre d'étudiants en croissance rapide et surtout pour promouvoir la politique de décentralisation dans notre pays. De nos jours l'UPB compte une (01) école, trois (03) Instituts et une (01) UFR qui sont:

➤ **L'École Supérieure d'Informatique (ESI)** : il forme des ingénieurs de travaux informatiques en trois (03) ans pour le premier cycle.

➤ **Les instituts :**

- **L'Institut Universitaire de Technologie (IUT)** : il a pour mission de former des cadres moyens en gestion et administration des entreprises, en secrétariat de direction et en technique industrielle.

- **L'Institut de Développement Rural (IDR)**: elle a pour mission de former des ingénieurs dans les options suivantes : agronomie, élevage, eau et forêts. L'accès à cette formation est conditionné par l'obtention d'un Diplôme Universitaire d'Études Générales (DEUG) ou d'un diplôme de techniciens supérieurs dans les options cités ci-dessus. La formation dure trois (03) ans.

- **L'Institut Supérieur des Sciences de la Santé (INSSA)** à la charge de former en sept (07) ans des médecins généralistes.

➤ **L'Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques (UFR/ST)** comprend quatre filières de formation : la Science Biologique (SB), Maths Physiques Informatique (MPI), Statistiques Informatiques (SI) et le Génie-Biologique (GB). Cette dernière filière offre une formation en Industrie Agro-alimentaire, Nutrition et en Analyses Biomédicales. Elle est sanctionnée par une licence professionnelle en troisième année qui est conditionnée par un stage de six mois en entreprise suivi d'une soutenance publique. C'est dans cette optique que s'inscrit notre stage au Laboratoire National de Santé Publique (LNSP) qui s'est déroulé de juillet à décembre 2014.

SIGLES ET ABBREVIATIONS

GT	: Germes Totaux
BEA	: Bile Esculine Azide Agar
BPH	: Bonnes Pratiques d'Hygiène
CF	: Coliformes Fécaux
CT	: Coliformes Totaux
DRB	: Direction Régionale de Bobo-Dioulasso
EC	: Eau Conditionnée
EI	: Entérocoques Intestinaux
ISO	: International Standardization Organisation
LNSP	: Laboratoire National de Santé Publique
ml	: Millilitre
NF	: Norme Française
NLPH	: National Laboratory of Public Health
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
ONEA	: Office National de l'Eau et de l'Assainissement
PCA	: Plate Count Agar
Psa	: <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>
UFC	: Unité Formant Colonie
UV	: Ultra-Violets
EPE	: Etablissement Public de l'Etat
SB	: Slanetz et Bartley
ISO	: International Standards Organization
TTC	: Triphenyl-2, 3, 5-Tétrazolium Chlorure
HACCP	: Hazard Analysis Critical Control Point
BPH	: Bonnes Pratiques d'Hygiènes

LISTE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Une rampe de filtration	- 13 -
Figure 2: La membrane de filtration	- 14 -
Figure 3: Des boîtes de pétri	- 14 -
Figure 4: Un incubateur	- 14 -

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Normes de potabilité microbiologique des eaux conditionnées	-7-
Tableau II : Présentation des résultats des échantillons issus de robinets.....	-22-
Tableau III : Présentation des résultats des échantillons issus de forages... ..	-23-
Tableau IV : Comparaison entre échantillons issus de robinets et forages	-25-

RESUME

L'eau est la boisson de base de l'être humain chez qui elle assure des fonctions vitales. De ce fait, l'Homme a besoin d'un apport quotidien et généreux en eau afin d'assurer le bon fonctionnement de ses organes. Malheureusement, les eaux destinées à la consommation humaine ne respectent pas toujours les normes d'une eau potable, et elles peuvent de ce fait être source de nombreuses maladies dues à une déficience de fonctionnement de certains organes vitaux. Ce phénomène constitue un véritable problème de santé publique qui mérite qu'on s'y intéresse d'avantage au vu du nombre croissant d'industries de commercialisation des eaux conditionnées destinées à la consommation. C'est dans ce but que nous nous sommes proposés de faire une étude comparative de la qualité microbiologique des eaux conditionnées issues de robinets et de forages et ce afin de juger de la salubrité de ces produits. Cette étude qui s'est étendue sur une période de six mois (1^{er} Juillet au 30 Décembre 2014) s'est réalisée dans la section de microbiologie de la Direction Régionale du Laboratoire Nationale de Santé Publique (LNSP) de Bobo-Dioulasso. Le protocole consistait à prélever chaque mois 8 échantillons sur des sites de production d'eaux conditionnées à partir de l'eau de l'ONEA et de l'eau de forages. Au total 48 échantillons repartis en 24 pour chaque source d'eau conditionnée ont été analysés au cours de notre étude. Des analyses microbiologiques ont été ensuite effectuées sur les échantillons à travers des cultures sur milieux sélectifs à la recherche des bactéries coliformes totaux et fécaux, les entérocoques intestinaux, les *Pseudomonas aeruginosa* et les germes totaux. Les résultats montrent un taux de conformité générale de 79,16% au niveau des eaux conditionnées issues du réseau ONEA, et un taux de conformité de 58,33% pour les eaux conditionnées issues des forages, cependant les tests statistiques ne montrent aucune différence significative. Ces variations peuvent s'expliquer par le fait que les eaux du réseau ONEA subissent un traitement chimique préalable ce qui n'est pas le cas pour les eaux issues de forages.

INTRODUCTION

L'eau est un élément essentiel pour la vie. Le corps d'un être humain adulte est composé de 60% d'eau et une consommation minimale de 1,5 litre d'eau par jour lui est nécessaire afin d'assurer un bon fonctionnement de ses organes. En raison de son caractère vital, l'eau mise à la disposition des populations pour leur consommation doit être saine et donc potable. Autrement dit exempte de tout microorganisme pathogène et de substances toxiques. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 25 millions de personnes décèdent chaque année du fait de la consommation d'eau contaminée dans les pays en voie de développement (Great,1994). Les maladies hydriques en cause sont généralement le choléra, la dysenterie, la bilharziose, la diarrhée, la fièvre typhoïde. Dans les pays sahéliens comme le Burkina Faso, le problème d'eau se pose, car toute la population n'a pas accès à une eau de bonne qualité pour la consommation. Cependant, le développement de l'urbanisation n'est pas sans poser de problèmes notamment en termes de satisfaction de la demande. Nous assistons de ce fait à une prolifération des unités de production industrielle d'eau, dans le but de répondre aux besoins croissants de la clientèle. Ces eaux conditionnées regroupent les eaux embouteillées et les eaux en sachets provenant de deux sources : l'eau de l'Office Nationale de l'Eau et de l'Assainissement (ONEA) et les forages. L'objectif général de notre étude est d'évaluer la qualité microbiologique des eaux de boisson commerciales conditionnées à partir de forages et du réseau ONEA dans la ville de Bobo-Dioulasso Plus spécifiquement il s'agissait de:

- identifier les bactéries indicatrices de contamination fécale et environnementale,
- comparer la qualité microbiologique des eaux conditionnées à partir de forages et celles conditionnées à partir de l'eau du réseau ONEA.
- faire des propositions d'amélioration de la qualité des eaux conditionnées en bouteille et en sachet commercialisées dans la ville de Bobo-Dioulasso.

Notre document s'articulera autour de 2 (deux) grandes parties :

- ❖ une première partie qui décrit les généralités : elle présente la structure d'accueil du LNSP, les généralités sur l'eau, les normes et qualité d'une eau potable, les principales raisons de contaminations des eaux conditionnées et les maladies hydriques.
- ❖ une deuxième partie expérimentale décrivant : le matériel et la méthode, donnant les résultats suivis de discussion avant de se terminer par une conclusion et les recommandations.

I. PRESENTATION DU LABORATOIRE NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE

I.1.Historique

Créé par le décret numéro 99-377/PRES/PM/MS du 28 octobre 1999, le Laboratoire National de Santé Publique (LNSP) est un Etablissement Public de l'Etat (EPE) à caractère administratif. Il est sous la tutelle technique du ministère de la santé et la tutelle financière du ministère des finances. Instrument de sécurité sanitaire du Burkina Faso, le LNSP a officiellement ouvert ses portes le vendredi 15 novembre 2002 à Ouagadougou. Il a par la suite étendu ses activités sur le territoire burkinabè à travers l'ouverture d'une Direction Régionale à Ouagadougou en 2002 et à Bobo-Dioulasso en 2004. Le LNSP s'est doté de directions techniques que sont:

- ❖ la Direction de Contrôle des Médicaments et des Produits Non Alimentaires (DCM / PNA),
- ❖ la Direction de la Toxicologie, du Contrôle de l'Environnement et de l'Hygiène Publique (DTCE / HP),
- ❖ la Direction de la Biologie Médicale (DBM),
- ❖ la Direction du Contrôle des Aliments et de la Nutrition Appliquée (DCANA),
- ❖ la Direction de la Coordination Technique et de l'Assurance Qualité (DCTAQ),
- ❖ la Direction de la Recherche et de la Formation (DRF).

I.2. Présentation et situation géographique de la Direction Régionale de Bobo (DRB)

Mise en place dans le souci de la décentralisation du LNSP, la DRB œuvre dans le même but que celui du siège. Elle a ouvert ses portes en 2004 sous la désignation d'antenne régionale et a démarré ses activités techniques courant 2006. Quatre ans après elle devient la Direction Régionale de Bobo-Dioulasso. Elle est située au centre-ville plus précisément sur l'avenue ALWATA DIAWARA non loin de la Direction Régionale de l'ONEA. Elle est la 2^{ème} Direction Régionale après celle de Ouagadougou et couvre toute la région des Hauts Bassins, des Cascades, du Mouhoun et la région du Sud-ouest. Le laboratoire de section physicochimie des eaux.

I.3. Missions et attributs du LNSP

Le LNSP a pour objectif de servir de laboratoire central de référence pour les analyses biomédicales, toxicologiques, physiologiques, physico-chimiques et microbiologiques. Il intervient également dans le contrôle de qualité sanitaire et expertises de toute nature relatives à la biologie médicale, l'alimentation, la nutrition, la pharmacie, l'eau, et tout autre domaine en rapport avec la santé publique et la sécurité sanitaire. Ses missions sont entre autres :

- ❖ d'assurer des analyses de biologie médicale à la demande de personnes physiques ou morales, publiques ou privées ;
- ❖ de coordonner les activités du Réseau National des Laboratoires (RNL) pour la surveillance intégrée des maladies prioritaires et la confirmation rapide des épidémies ;
- ❖ d'assurer la surveillance dosimétrique des personnes exposées aux rayonnements ionisants et toutes autres activités de radioprotection nécessaires ;
- ❖ de contrôler la qualité des aliments, des cosmétiques, des désinfectants, des antiseptiques, des tabacs et cigarettes, des pesticides et autres consommables de toute nature et de toute provenance utilisés à des fins alimentaires esthétiques et à toute autre fin susceptible d'avoir un effet dommageable sur la santé publique et communautaire ;
- ❖ de contrôler la qualité des eaux de consommation et des boissons de toute nature (ONEA, opérateurs privés, etc.);
- ❖ d'assurer les analyses et contrôles sanitaires relatifs à l'environnement et portant principalement sur l'air, les eaux de loisirs et les eaux usées, les sols, les milieux professionnels, les carburants, les gaz, les lubrifiants, les pesticides et les engrais ;
- ❖ d'assurer de façon systématique les contrôles de conformité ou de qualité sanitaire des produits et articles, et ce,
- ❖ à la charge des fabricants, importateurs et autres personnes physiques ou morales sollicitant leur mise à la consommation. ;

de contrôler la qualité des médicaments, vaccins, sérums, réactifs, produits biologiques et dérivés, milieux de culture, préservatifs, fluides médicaux, et autres consommables de toute nature et de toute provenance utilisés à des fins thérapeutiques et susceptibles d'avoir un effet négatif sur la santé publique et communautaire.

II. NORMES ET QUALITE D'UNE EAU POTABLE

II.1. Définition de quelques concepts

II.1.1. Eau potable

Une eau est dite potable, quand sa consommation par l'homme est sans danger pour celui-ci. Elle doit être exempte de contaminants microbiologiques, et son niveau de contaminants chimiques ne doit pas être dommageable pour la santé (Bourre P. et al. 1996). Elle doit par ailleurs, être limpide incolore et ne présenter aucun goût ou odeur désagréable. Les qualités requises sont donc d'ordre physique, chimique et bactériologique.

II.1.2. Eau conditionnée

On appelle eau conditionnée, l'eau mise en sachet ou en bouteille c'est à dire conditionnée dans un emballage adéquat (Dacosta Y., 1995)

. Trois qualités d'eau peuvent être conditionnées : les eaux minérales naturelles, les eaux de source et les eaux rendues potables par traitement.

- **L'eau minérale naturelle** : c'est une eau d'origine souterraine, microbiologiquement saine, qui doit être tenue à l'abri de tout risque de pollution. Elle répond à des exigences de qualité micro biologique et physicochimique strictes. Elle se distingue des autres eaux par la présence de minéraux, oligoéléments ou autres constituants, et témoigne une stabilité de ses caractéristiques essentielles. Certaines eaux minérales naturelles peuvent faire état d'effets favorables à la santé.

- **L'eau de source** : c'est une eau d'origine souterraine, microbiologiquement saine et qui doit être protégée contre les risques de pollution. L'eau de source, conditionnée, répond aux mêmes exigences de qualité micro biologique que l'eau minérale naturelle, ainsi qu'aux mêmes exigences de qualité physicochimique et radiologique que l'eau du robinet.

- **L'eau rendue potable par traitements** : c'est une eau d'origine souterraine ou superficielle. L'eau rendue potable par traitements, et conditionnée, répond à des exigences de qualité micro biologique strictes. L'eau rendue potable par traitements et conditionnée répond aux mêmes exigences de qualité physicochimique et radiologique que l'eau du robinet.

II.1.3. Normes

Selon la définition du dictionnaire " le petit Larousse" la norme est une règle qui fixe les conditions de réalisation d'une opération, de l'exécution d'un objet, ou de l'élaboration d'un produit dont on veut unifier l'emploi ou assurer l'interchangeabilité.

Au burkina Faso, en plus des normes spécifiques au pays, les Normes Françaises (NF), ISO et de l'OMS sont appliquées dans le domaine du contrôle des produits alimentaires. Selon ces différentes normes, les paramètres microbiologiques de l'eau doivent respecter une certaine valeur pour qu'elle soit qualifiée d'eau potable (**Tableau I**).

Tableau I: Normes de potabilités microbiologiques des eaux conditionnées

Paramètres	Unité	Methodes d'analyses	Normes de potabilités en vigueur au Burkina Faso
Coliformes totaux	UFC	NF T 90-414 ; 1985	0/250ml
Coliformes thermotolérants ou fécaux	UFC	NF T 90-414 ; 1985	0/250ml
Entérocoques intestinaux	UFC	ISO 7899-2 ; 2000	0/250ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UFC	NF T 90-421 ; 1989	0/250ml

II.1.4. La qualité

Etymologiquement, le mot "qualité" est emprunté au latin philosophique « *Qualitas* » qui signifie « manière d'être », attribut propre de l'être et en particulier aspect sensible et non mesurable des choses. Cependant, il existe deux types de qualités à savoir la qualité absolue et la qualité relative. Plusieurs définitions ont été accordées au terme qualité.

Selon Juran (1980) la qualité est l'aptitude à l'usage. La norme ISO 8042 la définit comme l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites. Selon la norme ISO 9000, la qualité est l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques d'un produit, d'un système ou d'un processus à satisfaire les exigences des clients et d'autres parties intéressées.

La qualité microbiologique de l'eau qui est l'objet de notre étude est évaluée lors des contrôles analytiques, par la recherche de bactéries, principalement des germes témoins de contamination fécale. La présence de ces bactéries dans l'eau peut avoir pour origine une pollution de la source, un dysfonctionnement du traitement de potabilisation ou un entretien insuffisant des équipements de distribution.

II.1.5. Microbiologie

La microbiologie est une branche de la biologie qui étudie les microorganismes. Ces Microorganismes constituent un groupe très diversifié, existant à l'état de cellules isolées ou en groupe de très petite taille. La microbiologie se consacre plus spécifiquement à leur isolement leur

identification et à leur caractérisation. Elle étudie également leur origine, leur évolution, définit leurs caractéristiques, les produits de leurs activités, leurs besoins et cherche à comprendre les relations qu'ils entretiennent entre eux et avec le milieu extérieur.

II.1.6. Echantillon

Un échantillon est un fragment ou une petite quantité choisie selon des normes établies (NF ; ISO) de telle façon qu'il représente fidèlement l'ensemble dont il est extrait. Il est aussi destiné à fournir une information caractéristique de la matière étudiée et éventuellement à servir de base à une décision concernant cette matière ou le procédé qui l'a produit. Il doit être représentatif afin que les résultats soient crédibles.

II.2. Les germes indicateurs de contamination fécale

Dans le domaine de la qualité des eaux de boisson, les analyses microbiologiques ne concernent pas directement les microorganismes pathogènes, mais des germes jouant un rôle d'indicateur. Ces germes sont spécifiques de la flore intestinale et ne sont pas nécessairement pathogènes (Rodier J., 1996). En plus de leur rôle d'appréciation du risque d'une contamination par des matières fécales, ils permettent également d'évaluer l'efficacité de traitement de l'eau. Les germes indicateurs de contamination fécale se caractérisent par les points suivants. Ils doivent :

- être présents en même temps que les autres micro-organismes pathogènes mais en plus grand nombre dans l'échantillon.
- avoir une croissance supérieure à celle des pathogènes éventuellement présents dans l'échantillon et faciles à isoler en analyse de routine.
- être plus résistants aux agents de désinfection et au milieu aquatique que les pathogènes, afin que sa destruction marque avec certitude celle des pathogènes (Regnault.J.P., 1990).

Plusieurs groupes de bactéries répondent à ces critères : les coliformes totaux ; les coliformes thermotolérants ; les entérocoques intestinaux ; les *Pseudomonas aeruginosa* et les germes totaux.

II.2.1. Les coliformes totaux

Les coliformes totaux font partie de la famille des entérobactéries. Ce sont des bactéries en forme de bâtonnets aéro-anaérobies facultatives, gram négatif, non sporulantes, et oxydase négatif. Ils sont capables de se multiplier en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface ayant

des propriétés équivalentes (inhibitrices) et capables de fermenter le lactose avec production de gaz à 35-37°C. Ils sont présents en grand nombre dans les excréments humains et d'animaux, mais peuvent proliférer dans les sols et les milieux aquatiques. Les coliformes totaux sont donc utilisés comme germes indicateurs d'hygiène, indices du bon respect des conditions de fabrication. La détection de ces coliformes dans l'eau indique donc la présence de germes pathogènes ayant une origine identique.

II.2.2. Les coliformes thermotolérants (ou fécaux)

Les coliformes thermotolérants présentent les mêmes caractéristiques que les coliformes totaux. *Escherichia coli* est de loin le plus fréquent de ce groupe qui comprend également des espèces du genre : *Citrobacter*, *Yersinia*, *klebsiella*, et *Entérobacter* (Elmund *et al.*, 1999; Santé Canada, 1991; Edberget *et al.*, 2000). Les coliformes fécaux ne se trouvent que chez les animaux à sang chaud, ce qui fait d'eux un indicateur intéressant. Leur présence dans l'eau traduit une contamination fécale pouvant entraîner des maladies, dont la plus courante est la gastroentérite. Bien qu'elle soit souvent bénigne, elle peut parfois avoir des conséquences graves sur la santé.

II.2.3. Les entérocoques intestinaux ou Streptocoques fécaux

Ce sont des bactéries sphériques groupées en paires ou en chaînes, gram positif, catalase négatif et anaérobies facultatives. Elles ne forment pas d'endospores et certaines espèces font preuve de mobilité. Leur propriété d'hydrolyser l'esculine en présence de bile caractérise la présence d'antigène D de LANCEFIELD. Par ailleurs, leur résistance aux agents antiseptiques et notamment le chlore et ses dérivés est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est instauré.

II.2.4. Les bactéries du genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas*, de la famille des *Pseudomonadaceae*, regroupe les bactéries aérobies gram négatif, en forme de bâtonnets droits et fins renflés de 2 à 4 µm de longueur. Elles sont très mobiles grâce à un flagelle polaire (ciliature monotriche, dépourvu de spores et de capsule) qui joue un rôle important dans la pathogénicité. Elles apparaissent la plupart du temps isolées ou en diplobacilles. Ces bactéries sont asporulées et peuvent produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la pyorubrine (jaune-vert) fluorescentes. Le genre *Pseudomonas* comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires dont l'espèce-type est *Pseudomonas aeruginosa* généralement

dénommé *bacille pyocyannique*. Cependant, de nombreuses espèces sont en cours d'exclusion à cause des progrès de la phylogénétique leur nombre réduit et tend vers une soixantaine d'espèces.

Pseudomonas aeruginosa peut sécréter de nombreuses toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines. D'autres substances comme l'acide hydrocyanique, des enzymes protéolytiques, des bios films et des substances hémolytiques peuvent également contribuer à la pathogénicité de cette espèce. La combinaison de toxines et de substances dangereuses est un facteur déterminant dans la forte virulence de *Pseudomonas aeruginosa* dans différents hôtes.

II.2.5. Les germes totaux

L'origine de ces germes n'est pas spécifique. Ils sont recherchés dans le but d'évaluer la population bactérienne qui n'est pas liée à la contamination fécale. Les germes totaux ne présentent pas d'effet direct sur la santé, mais une forte concentration peut provoquer des problèmes d'ordre organoleptiques.

III. LES PRINCIPALES RAISONS DE CONTAMINATION DES EAUX CONDITIONNEES ET LES MALADIES HYDRIQUES

III.1. Les raisons de contamination

Plusieurs raisons expliquent la présence des microorganismes dans les eaux conditionnées. On peut citer entre autres :

- **Les forages contaminés** : l'ampleur de la contamination des eaux de forage peut être fonction de la profondeur du forage. A basse profondeur, les eaux de ruissellement peuvent s'y infiltrer et provoquer ainsi une contamination. L'entretien du forage (couverture, salubrité à proximité du forage...) peut influencer la contamination de l'eau.

- **Les BPH mal appliquées** : Elle peut être source de contamination majeure, car les microorganismes se trouvant un peu partout dans l'organisme humain (environ 10^{12} bactéries colonisent la peau).

- **Utilisation de matériels souillés** : les machines à conditionner peuvent être sources de contamination lorsqu'elles ne sont pas nettoyées et désinfectées. En effet, les microorganismes sont capables de s'y déposer et contaminer ainsi les denrées.

- **Turbidité de l'eau** : c'est la teneur de l'eau en particules. Ces particules peuvent contenir des microorganismes responsables de la contamination de l'eau.

- **Défaillance de l'emballage/stockage** : l'étanchéité de l'emballage joue un rôle important dans la protection des denrées alimentaires. En effet, la défaillance de l'emballage peut entraîner une contamination de l'eau du fait de la porosité qu'elle peut renfermer. Les microorganismes peuvent donc s'infiltrer à travers les pores. Cette contamination sera beaucoup plus accentuée si la salle de stockage n'est pas appropriée.

- **Inefficacité du traitement bactéricide** : Le dispositif de traitement bactéricide a pour principe de générer des rayons UV permettant d'irradier les cellules vivantes contenues dans l'eau. Les microorganismes sont détruits à une longueur d'onde UV comprise entre 200 et 280 nm. Le bon fonctionnement de l'appareil de traitement UV nécessite une eau de turbidité inférieure à 1NTU (Unité Néphélométrique de Turbidité). Son efficacité dépend également de la durée d'exposition de l'eau au rayonnement, de la quantité d'énergie UV reçue et du débit d'eau circulant au voisinage des lampes UV. Selon la quantité d'énergie reçue, la cellule sera soit stérilisée (effet bactériostatique), soit détruite (effet bactéricide). L'effet bactériostatique permet à la cellule de continuer à vivre sans pour autant se reproduire. Elle est donc condamnée à disparaître. L'effet bactéricide permet la destruction totale de la cellule.

III.2. Mesures à adopter pour avoir une eau de bonne qualité microbiologique

Pour obtenir une eau conditionnée remplissant les critères microbiologiques il faut :

- **désinfecter les forages** : pour assurer une protection contre la contamination, il est recommandé d'implanter les forages à au moins 15 mètres de toute source de pollution (selon les normes du service d'hygiène). La désinfection consiste en l'élimination ou l'inhibition des microorganismes présents dans ces forages. Elle se fait généralement à base de chlore, un désinfectant puissant qui neutralise des microorganismes et garanti ainsi une eau de bonne qualité microbiologique

- **appliquer des BPH**: les BPH ne doivent pas être négligés dans les industries agroalimentaires car elles contribuent beaucoup à l'obtention de produits sains.

- **s'équiper en lampes UV à haut pouvoir germicide** : il faut s'équiper d'un système de traitement conforme aux normes de la NSF pour l'inactivation des bactéries.

- **utiliser des emballages étanche**: l'emballage joue un rôle important en agroalimentaire. Il protège les denrées contre l'infiltration des microorganismes. L'utilisation des emballages étanches pourrait donc remédier aux problèmes de contamination.

- **nettoyer et désinfecter les machines à conditionner** : le nettoyage et la désinfection sont extrêmement importants dans une chaîne de production des produits alimentaires. Ce sont deux opérations généralement exécutées de façon consécutive en industrie agroalimentaire. Ils ont pour but d'éliminer les souillures et détruire les microorganismes présents dans des matériels utilisés

- **application du système HACCP et la marche en avant** : pour minimiser les risques de contamination.

III.3. Les maladies hydriques

Les maladies hydriques regroupent d'une part les maladies causées par la consommation d'eau contaminée par les fèces d'animaux ou humains qui contiennent des microorganismes pathogènes et d'autre part les maladies causées par le manque d'eau. Selon l'OMS, chaque année près de 25 millions de personnes meurent de suite d'une épidémie ou d'une contagion due à la consommation d'eaux polluées. Les maladies hydriques les plus couramment rencontrées comprennent entre autres :

a- Les maladies d'origine bactérienne : les eaux peuvent transmettre un certain nombre de maladies d'origine bactérienne qui sont entre autres:

- Le choléra (*vibrio cholerae*)
- La fièvre typhoïde et gastro-entérite (*salmonella typhi* et *E. coli*)
- Schigellose (*shigella spp*)
- La tuberculose (*mycobacterium tuberculosis*).

b- Les maladies d'origine virale : aux cotés des maladies d'origine bactérienne, nous avons des maladies virales. On peut citer :

- la poliomyélite (*virus Coxsakies A et B*)
- les hépatites virales

c - Les maladies d'origine parasitaire : en plus des maladies d'origine bactérienne et virale, on trouve les épidémies d'origine parasitaire. On peut citer :

- La dracunculose (*Dracunculus medinensis*)
- Les balantidiases (*Balantidium coli*)

d - Manque d'eau : l'absence ou la rareté de l'eau est à l'origine de nombreuses pathologies.

L'hygiène défectueuse favorise la multiplication et la transmission des poux et de la gale. Elle crée aussi des conditions favorables pour certaines pathologies cutanées muqueuses.

III.4. Les bienfaits de la consommation de l'eau potable

L'eau que nous consommons constitue les deux tiers des liquides de l'organisme chez l'adulte où elle joue un rôle important. Le corps humain d'un l'adulte contient environ quarante-cinq (45) litres d'eau. Cette eau assure l'hydratation des cellules du corps et a un rôle de véhicule de certaines substances nutritives comme les sels minéraux. Chaque jour, notre organisme rejette de l'eau sous

forme d'urine, de sueur, de vapeur d'eau par les poumons et de liquide dans les selles, pour éliminer les toxines et régler la température.



DEUXIÈME PARTIE: ETUDE EXPÉRIMENTALE

I. METHODOLOGIE

I.1. Type et lieu d'étude

Il s'agit d'une étude transversale qui s'est déroulée sur une période de 6 mois allant de juillet à décembre 2014 au Laboratoire Nationale de Santé Publique (LNSP/DRB). Elle a porté d'une part sur la recherche de microorganismes tels que les *Pseudomonas*, coliformes, entérocoques et germes totaux présents dans les eaux conditionnées et pouvant avoir des conséquences sur la santé publique et d'autre part sur la comparaison de la qualité microbiologique des eaux conditionnées issues de robinets et de forage de la ville de Bobo-Dioulasso. L'analyse s'est effectuée au sein du LNSP de Bobo-Dioulasso.

I.2. Echantillonnage

L'échantillonnage des eaux conditionnées sur les sites de production (25 pour les forages et 45 pour la source ONEA) a été effectué selon les normes en vigueur au Burkina Faso. Un pack d'eau est pris de façon aléatoire dans un lot de production récente (généralement la production du jour. Selon le conditionnement en quantité de 25, 30 ou 50cl, ce pack peut contenir 30 à 40 sachets. Pour ce qui concerne les eaux conditionnées en bidon, un pack de 06 bidons de 1,5 L ou de 12 bidons de 0,5 L est prélevé. Les prélèvements sont ensuite acheminés directement au laboratoire où les analyses se feront dans les 12 heures ayant suivie le prélèvement.

I.3. Les matériels utilisés pour l'analyse microbiologique

Ce matériel était constitué d'appareils tels que :

- **La rampe de filtration** : c'est un ensemble de récipients commodes qui permet de faire passer l'échantillon (Figure 1).



Figure 1: Une rampe de filtration

- **Des membranes de filtration** : elles sont d'aspect ronds, blanc et permettent de retenir les microorganismes probables.



Figure 2: La membrane de filtration

- **Des boîtes de pétri** : ce sont de petites boîtes, rondes, dans lesquelles sont coulés les milieux de cultures.



Figure 3: Des boîtes de pétri

- **Un incubateur** : c'est un appareil qui crée un microclimat dans son sein pour favoriser le développement des microorganismes.



Figure 4: Un incubateur

- **Une plaque chauffante** : c'est une plaque électrique utilisée pour régénérer les milieux (PCA ; KING-A).
- **Des pinces** : Elles servent à retirer et placer la membrane filtrante.
- **Un bec bensen** : c'est un dispositif qui permet de flamber la rampe de filtration et les pinces.

I.4. Méthodes utilisées

I.4.1. La méthode de filtration sur membrane

La filtration de l'eau sur membrane est une étape préalable à toutes les cultures pour l'isolement des différents germes recherchés à l'exception de celle des germes totaux. Le dispositif utilisé pour la filtration est constitué :

- d'un entonnoir cylindrique recevant le liquide,
- d'un support de filtre sur lequel la membrane filtrante sera posée, d'une fiole réceptrice reliée à un appareil qui sert à faire le vide.

La méthode consiste à faire passer l'échantillon à analyser sur une membrane filtrante en nitrate de cellulose de porosité 0,45µm pour l'isolement des coliformes et entérocoques et 0,2 µm pour celle des *Pseudomonas*. La membrane est ensuite placée sur une boîte de pétri contenant un milieu de culture spécifique aux germes recherchés tout en veillant à ne pas emprisonner de bulles d'air sous la membrane. Les boîtes sont enfin incubées à 36±2°C pendant 48heures.

I.4.2. Les milieux de cultures utilisés

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des microorganismes peuvent se multiplier. Il doit donc satisfaire les exigences nutritives du micro-organisme étudié, (ions minéraux, source de carbone et d'énergie ; pH optimal, force ionique etc.). Une brève description des milieux de culture utilisés dans cette étude est faite ci dessous.

- Gélose au Chromocult

La gélose au chromocult est un milieu de culture utilisé pour la détermination simultanée des coliformes totaux et fécaux dans l'eau et les produits alimentaires. C'est un milieu sélectif limpide et incolore en boîte de pétri dont l'interaction des constituants permet une croissance rapide des colonies. La croissance des bactéries Gram+ aussi bien que celle de certaines bactéries Gram- est largement inhibée par le tergitol, un agent sélectif qui n'a aucun effet négatif sur la croissance des coliformes.

- Milieux Slanetz et Bartley (SB)

La gélose SB est un milieu de culture de couleur jaunâtre utilisé pour l'isolement des entérocoques.

- Gélose au Cétrimide

La gélose au Cétrimide est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *P. aeruginosa*. Ce milieu gélosé est relativement pauvre, et contient un antiseptique: le Cétrimide (bromure de N-cétyl-N, N, N-triméthylammonium). Il est proche du milieu King A, et favorise aussi la production de pigments par *P.aeruginosa*.

- Milieu Plate Count Agar (PCA)

La gélose PCA (*Plate Count Agar*), est un milieu utilisé pour le dénombrement des microorganismes aérobies revivifiables (Norme AFNOR NF T 90-401 et 402), aussi nommés Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAR). C'est un milieu nutritif (glucosé à l'extrait de levure) sans inhibiteurs, dont l'intérêt est de favoriser le développement à 30°C de tous les micro-organismes qu'on y a déposés. L'ensemble de tous les micro-organismes est appelé la flore totale. La gélose PCA est un milieu recommandé pour le dénombrement standardisé des bactéries dans l'eau, les produits laitiers et les aliments.

- Milieu King-A

Le milieu King A est un milieu de culture à apparence trouble et blanchâtre dans des tubes à essai utilisé pour mettre en évidence la pyocyanine, pigment élaboré spécifiquement par *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique).

- Milieu Bile Esculine et Azide (B.E.A)

Ce milieu est utilisé pour la confirmation de la présence des Entérocoques Intestinaux (E.I).

I.4.3. Les cultures bactériennes

I.4.3.1. Isolement des coliformes totaux et fécaux

Après l'étape de filtration, la membrane est placée sur une boîte de pétri contenant le milieu chromocult agar et est ensuite incubée à 36±2°C pendant 48 heures. Les colonies de coliformes totaux se caractérisent par une coloration rouge ou rosée tandis que celles des coliformes fécaux sont reconnaissables par une coloration bleue ou violette (**Figure 5**). En effet, cette différence de coloration s'explique par le fait que les coliformes possèdent l'enzyme β -galactosidase qui à 35°C est

capable de transformer le lactose présent dans le milieu en acide lactique, ce qui conduit au virage de l'indicateur coloré donnant ainsi les différentes couleurs.

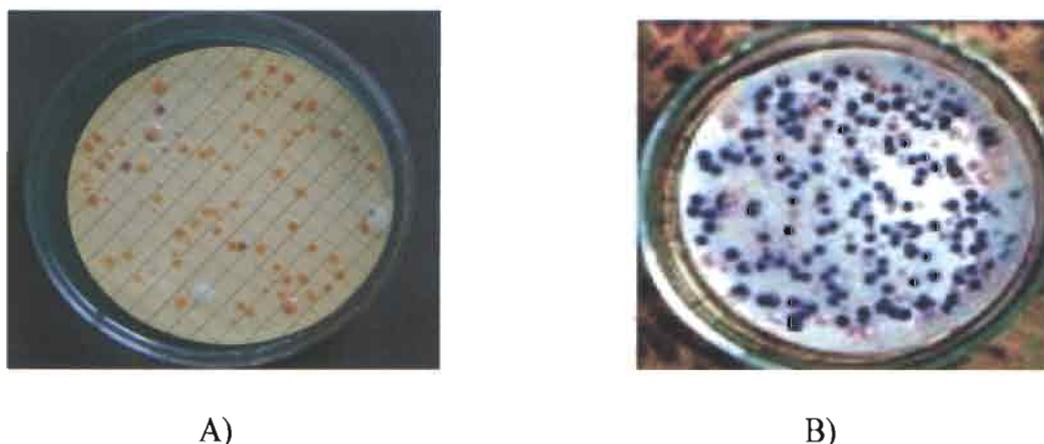


Figure 5: Isolement des coliformes (A) totaux et (B) fécaux sur milieu chromocult

I.4.3.2. L'isolement des entérocoques intestinaux

Après l'étape de filtration, la membrane est placée sur une boîte de pétri contenant le milieu Slanetz et Bartley (SB) et incubée à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$. Après 48 h d'incubation, les colonies de taille moyenne et de couleur rouge, dont la coloration est due à la réduction du TTC sont considérées comme étant des colonies d'entérocoques intestinaux (**Figure 6**).

Toute membrane présentant ce type de colonie suspecte est transférée sur un milieu de confirmation qui est une gélose biliée à l'esculine BEA. Ce milieu permet l'isolation sélectif des entérocoques, car ils tolèrent jusqu'à 40% de bile contrairement à de nombreux autres germes. Après deux heures d'incubation dans ce milieu sélectif, les colonies confirmées sont celles qui présentent un halo noir traduisant l'hydrolyse de l'esculine en esculetine. Ce dernier a la capacité de se lier au fer pour donner la couleur caractéristique (**Figure 6**).

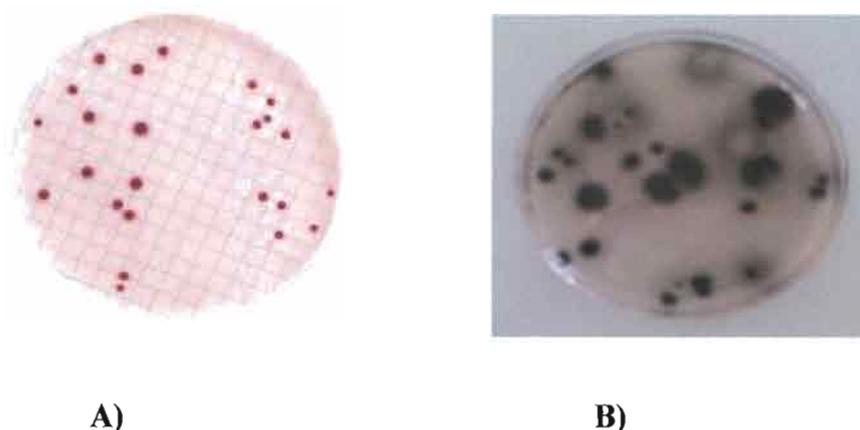
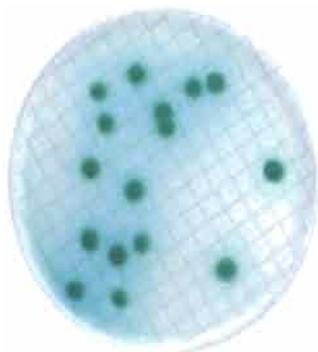


Figure 6: Isolement d'enterocoques intestinaux sur milieu SB (A) et confirmation sur milieu BEA (B)

I.4.3.3. L'isolement des *Pseudomonas*

Après filtration, la membrane est placée sur une boîte de pétri contenant le milieu Cétrimide et est incubée à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 48 heures. La suspicion de la présence des *Pseudomonas* se caractérise par la présence de colonies de coloration verte (**Figure 7**). Cette coloration s'explique par le fait que ces microorganismes ont la propriété de sécréter des pigments tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la pyorubrine (jaune-vert) fluorescentes. Une fois la présomption posée, la confirmation de la présence de *Pseudomonas Aeruginosa* se fait de deux manières:

1. Les colonies vertes sont prélevées sur le milieu Cétrimide puisensemencées en stries longitudinales sur la gélose King-A précédemment coulée en pente dans un tube à essai. La boîte de pétri est incubée à 22°C pendant 1 à 4 jours. A l'apparition de coloration verdâtre on ajoute 2 ml de chloroforme suivi d'une agitation. L'essai est dit positif si la couche chloroformique se colore en bleue (**Figure 7**).
2. Avec la gélose PCA précédemment coulée en pente dans un tube, les colonies issues du milieu Cétrimide sontensemencées en stries longitudinales, puis incubées à $42^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ pendant 18 à 24 heures. L'essai est positif si on a une croissance bactérienne.



A)



B)

Figure 7: Isolement de *Pseudomonas* sur milieu Cétrimide (A) et confirmation sur milieu King-A (B)

I.4.3.4. Les germes totaux

Pour l'isolement des germes totaux, il faut d'abord prélever 1ml d'échantillon à analyser à l'aide d'une seringue. Ensuite y ajouter le milieu de culture utilisé qui est le Plate Count Agar (PCA). Après avoir mélangé l'échantillon et le milieu de culture on homogénéise et on laisse solidifier à la température ambiante de la salle. Enfin, les boîtes sont incubées à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 44 ± 4 heures et à $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 68 ± 4 heures. Après deux à trois jours d'incubations on dénombre toutes les colonies

présentent dans la boîte de pétri (**Figure 8**). Le milieu PCA n'étant pas sélectif, on cherche ici à dénombrer le nombre de micro-organismes vivants présents dans l'échantillon.



Figure 8 : Isolement des germes totaux

I.4.4. Analyses de données

Après analyse de nos échantillons, nous avons obtenus des résultats à partir desquelles nous avons effectués des tests statistiques. Nous avons d'abord fait une Comparaison entre échantillons issus de la même source d'eau conditionnée en fonction des différents germes recherchés et ensuite comparer des échantillons entre les 2 différentes sources d'eau. Les données ont été consignées dans un tableur Excel et le test exact de Fisher a été appliqué pour la comparaison des différentes proportions grâce au logiciel d'analyse de données R. Le seuil de significativité a été fixé à 5%.

II. RESULTATS

Après analyse, les résultats obtenus ont été consignés dans des tableaux par type de germes. Ces tableaux montrent l'évolution de chaque germe sur trois mois à savoir le mois de juillet, août, et septembre.

II.1. Résultats des analyses des échantillons d'eau conditionnée à partir de l'eau de L'ONEA

Le tableau II montre les résultats des analyses microbiologiques pour la détermination du niveau de contamination des échantillons d'eaux conditionnées issus de robinets par les différents germes. Les résultats montrent un taux de contamination de 8,33% (2/24) par les coliformes totaux ; 4,17% (1/24) par les coliformes fécaux ; les entérocoques intestinaux et les Pseudomonas et 16,67%(4/24) par les germes totaux (**Figure 9**). La comparaison de ces proportions par le test exact de Fisher ne montre aucune différence significative ($p=0,54$). Nous avons trois échantillons dont le R4 et le R7 du mois d'août et le R4 du mois de juillet qui sont contaminés à au moins deux germes (**Tableau II**).

Tableau II: Présentation des résultats des analyses microbiologiques des échantillons issus de robinets

Germes	Mois	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
Coliformes Totaux	Juillet	00	00	00	05	00	00	00	00
	Août	00	00	00	15	00	00	00	00
	Septembre	00	00	00	00	00	00	00	00
Coliformes Thermotolérants	Juillet	00	00	00	00	00	00	00	00
	Août	00	00	00	04	00	00	00	00
	Septembre	00	00	00	00	00	00	00	00
Entérocoques intestinaux	Juillet	00	00	00	00	00	00	00	00
	Août	00	00	00	00	00	00	>100	00
	Septembre	00	00	00	00	00	00	00	00
Pseudomonas	Juillet	00	00	00	00	00	00	10	00
	Août	00	00	00	00	00	00	00	00
	Septembre	00	00	00	00	00	00	00	00
Germes totaux 37°C et 22°C	Juillet	00	00	00	03	00	00	58	00
		00	00	00	00	00	00	34	00
	Août	00	00	00	00	00	00	>100	00
		00	00	00	00	00	00	>100	00
	Septembre	00	00	00	00	00	00	17	00
		00	00	00	00	00	00	02	00

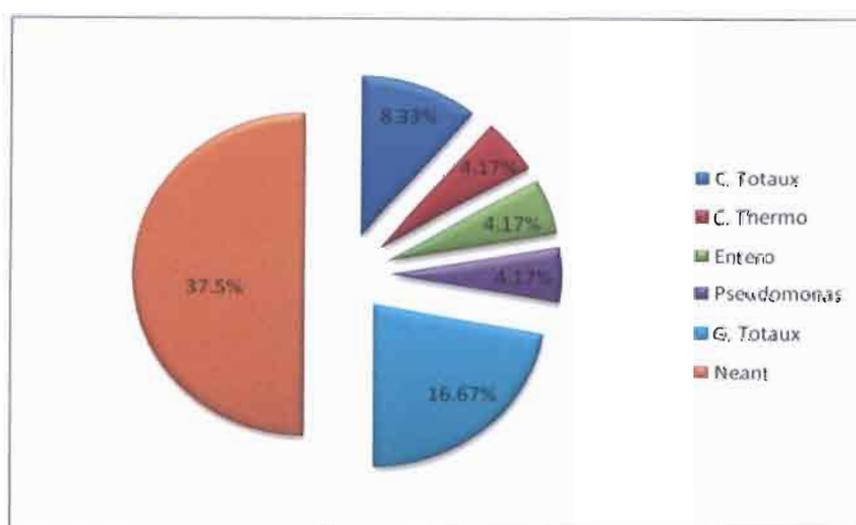


Figure 9: Pourcentage de contamination par germes des échantillons d'eau conditionnée à partir de l'eau de l'ONEA

II.2. Résultats des analyses des échantillons d'eau conditionnée à partir de l'eau de forages

L'analyse des niveaux de contamination des échantillons de forages par les différents germes sur les trois mois montre un taux de contamination de 25% (6/24) par les coliformes totaux ; 16,67% (4/24) par les coliformes fécaux ; 4,17% (1/24) par les entérocoques intestinaux ; 8,33% (2/24) Pseudomonas et 41, 67% (10/24) par les germes totaux (**Figure 10**). La comparaison de ces proportions par le test exact de Fisher montre aucune que le pourcentage de contamination par les germes totaux est significativement plus élevé par rapport aux autres germes ($p=0,0047$). Nous avons six échantillons qui sont contaminés à au moins deux germes (**Tableau III**).

Tableau III: Présentation des résultats des analyses microbiologiques des échantillons issus de forages

Germes	Mois	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Coliformes Totaux	Juillet	00	00	>100	00	13	00	00	90
	Août	00	00	00	00	42	00	00	00
	Septembre	00	00	>100	00	00	00	07	00
Coliformes Thermotolérants	Juillet	00	00	>100	00	07	00	00	00
	Août	00	00	00	00	35	00	00	00
	Septembre	00	00	>100	00	00	00	00	00
Entérocoques intestinaux	Juillet	00	00	00	00	00	00	00	00
	Août	00	00	00	00	15	00	00	00
	Septembre	00	00	00	00	00	00	00	00
Pseudomonas	Juillet	00	00	00	00	10	00	00	00
	Août	00	00	00	08	00	00	00	00
	Septembre	00	00	00	00	00	00	00	00
Germes totaux 37°C et 22°C		00	54	>100	00	90	00	00	10
	Juillet	00	23	>100	00	76	00	00	03
		00	00	>100	38	91	00	00	00
	Août	00	00	57	15	27	00	00	00
	Septembre	>100	00	>100	00	00	00	23	00
		>100	00	>100	00	00	00	05	00

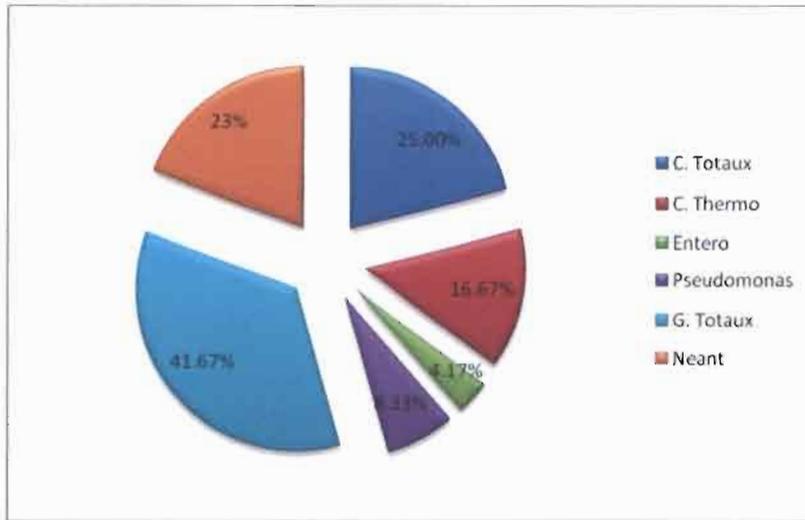


Figure 10 : Pourcentage de contamination des échantillons issus de forages par les différents Germs

II.1.3 Comparaison entre échantillons issus de robinets de forages

La **figure 11** montre les taux de contaminations des échantillons par les différents germes. En dehors des entérocoques où il y a une équivalence entre les proportions, la tendance est à la hausse au niveau des échantillons issus de forages pour les autres microorganismes surtout les germes totaux et les coliformes totaux où les écarts de pourcentages entre les deux sources s'élèvent respectivement à 25,03% et 16,67% (**Tableau IV**). Le total du bilan trimestriel laisse voir un taux de conformité de 79,16% pour les eaux issues du réseau ONEA et de 58,33% pour les eaux issues des forages.

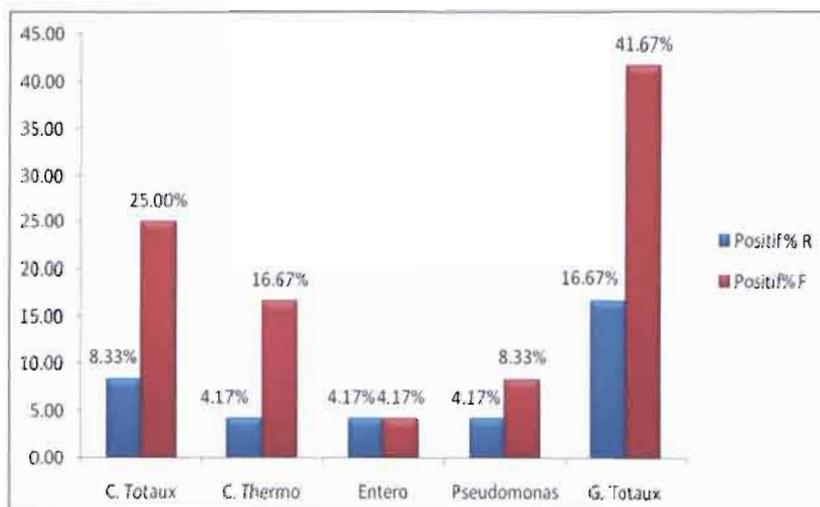


Figure11: Comparaison entre échantillons issus de robinets et forages

Tableau IV: Résultats des tests statistiques de comparaison de pourcentages

	EC issues de robinets	EC issues de forages	P value
Coliformes totaux	8,33%	25%	0,2
Coliformes thermotolérants	4,17%	16,67%	0,34
Entérocoques intestinaux	4,17%	4,17%	1
Pseudomonas	4,17%	8,33%	1
Germes totaux	16,67%	41,67%	0,11

III. DISCUSSION

Il ressort de cette étude que sur les échantillons analysés, les eaux issues de forages renfermaient plus de germes que celles issues de robinets avec un taux de conformité de 47,67% contre 20,83%. Ce constat est fait aussi bien au niveau de nombre d'échantillons positifs qu'au niveau du nombre de colonies. Ces variations peuvent s'expliquer par le fait que les eaux du réseau ONEA subissent un traitement chimique dont une désinfection à base du chlore notamment l'hypochlorite, un désinfectant qui permet de neutraliser les microorganismes. Ce taux de contamination enregistré reste relativement élevé par rapport à celui trouvé par KAMBOU (2013). Cependant, en termes de comparaison les tests statistiques n'ont montré aucune différence significative bien que les tendances étaient à la hausse surtout pour les échantillons issus de forages. Mais n'empêche que les résultats de cette étude révèlent la présence de germes indicateurs de contamination fécale et environnementale et six échantillons issus de forages et trois issus de robinets étaient contaminés avec au moins deux germes. Cet état des choses laisse suspecter soit un traitement insuffisant, soit une contamination postérieure au traitement ou encore un manque d'hygiène. La présence de ces germes dans l'eau de boisson est synonyme de risques sanitaires certains car leur présence dans les eaux laisse suspecter celle de potentiels germes pathogènes. Ces germes sont pour la plupart des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux et sont considérés à juste titre comme des indicateurs de contamination fécale mais aussi des commensaux de la peau et des muqueuses qui selon l'OMS ne devraient pas exister dans 100ml d'eau de boisson. Si l'on se réfère à cette norme et à la Norme Française NF T 90-414 ; 1985 en vigueur au Burkina Faso, une eau conditionnée ne doit contenir aucun coliforme total ou thermotolérant ni d'enterocoques intestinaux ni de *Pseudomonas*. Les eaux conditionnées concernées par la présence de ces germes sont donc pas potables et pourraient causer des dangers aux consommateurs. De ce fait, nous pouvons affirmer que les eaux conditionnées à partir de l'eau de l'ONEA et celles à partir de l'eau de forage présentent les mêmes qualités microbiologiques. Cependant 4/10 des échantillons positifs à partir de l'eau de forage avaient un niveau de contamination de plus de 100 microorganismes contrairement à 2/5 des eaux conditionnées à partir de l'eau de l'ONEA. Bien qu'il n'y ait pas de différence significative cette situation doit attirer l'attention sur le respect des règles d'hygiène quant au traitement, au conditionnement ainsi qu'au stockage des eaux conditionnées à base de forages pour la consommation. Par ailleurs le faible échantillonnage (8 par mois pour chaque source d'eau conditionnée) a pu biaiser les résultats d'où l'absence des différences significatives dans les résultats.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Il ressort de cette étude que sur les échantillons analysés les eaux issues de forages renfermaient plus de germes que les eaux issues de robinets mais les tests statistiques n'ont montrés aucune différence significative entre les proportions. Cependant, en termes de comparaison, certains échantillons issus de robinets étaient autant impropres à la consommation que les eaux issues de forages du fait de leur dénominateur commun qui était la présence de germes traduisant une contamination fécale et environnementale. Il est donc urgent que des mesures soient prises, en mettant la priorité sur l'hygiène et la santé des producteurs, sur les conditions de production, sur des contrôles sanitaires rigoureux et réguliers mais aussi sur la sensibilisation des consommateurs à être vigilants quant à la consommation des eaux conditionnées.

Au terme de notre étude sur la qualité microbiologique des eaux de boisson conditionnées, il nous paraît important de recommander aux instances de décisions et au LNSP de :

- réglementer le secteur de production et de conditionnement des eaux potables en sachet et en bouteilles,
- garantir la salubrité de l'eau de boisson conditionnée en assurant la formation du personnel et des chefs d'unités de fabrication sur l'assurance qualité,
- élaborer des recommandations et des directives à l'endroit des « producteurs-fournisseurs » d'eau, afin d'éliminer ou de réduire à un niveau acceptable, les paramètres microbiologiques pour garantir la protection de la santé humaine,
- veiller au respect strict et effectif des différentes consignes de sécurité et d'hygiène mises en place dans les unités de production,
- la création d'une police sanitaire pour multiplier les opérations de saisies et de destruction des sachets d'eau non réglementaires,
- intensifier les campagnes de sensibilisation à l'intention des consommateurs des eaux de boisson, mettant l'accent sur la sécurité et surtout le risque sanitaire dorénavant avéré,
- effectuer des études plus poussées incluant la recherche de germes pathogènes ainsi que des analyses physicochimiques, en essayant de mieux cerner les différents maillons de ce secteur dans leur intégralité seraient pertinentes et serviraient de complément à notre étude,
- de décentraliser les prestations du LNSP sur l'étendue du territoire national.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ✓ OMS, (1994) : Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 1 recommandations. Organisation Mondiale de la Santé, 2e édition, p.34.
- ✓ OMS, (2000) : Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation Mondiale de la Santé, 2e édition, p.105.
- ✓ REGNAULT.J.P, (1990) : Microbiologie générale, Paris Vigot, p.859.
- ✓ RODIER.J, (1996) : Analyse de l'eau, Paris Dunod, 8eme Ed, P.412.
- ✓ ROBERTSON.W, (1995) : Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable ; Air intérieur et Eau potable, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval, p. 179-193.
- ✓ CEAEQ, (2000) : Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec.
- ✓ Codex Standard 227, (2001) : Norme générale pour les eaux potables en bouteille/conditionnées autres que les eaux minérales naturelles, P.1.
- ✓ CHERIF .I. K. D, (2006) : Etude de la qualite microbiologique des eaux de boisson conditionnées en sachet et vendues sur la voie publique dans la région de Dakar, p. 10-13.
- ✓ MATHIAS. K, (2013) : Suivi de la qualité microbiologique des eaux conditionnées de la ville de Bobo- Dioulasso, p. 8-10.
- ✓ YVES. D, (1995) : Effet comparé des différents modes de conditionnement sur la croissance des bactéries pathogènes responsables des intoxications alimentaires. Paris. P.142
- ✓ ANNA. N, (2007) : Etude bactériologique des eaux de boissons vendues en sachet dans quatre communes d'Abidjan, p. 36-43.
- ✓ Santé Canada, (1991) : La qualité bactériologique. Document de support aux « recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ». Accessible à : www.hc-sc.gc.ca/ehp/dhm/dpc_eau_qualite/eauguide.htm.

- ✓ Santé Canada, (2012) : *les coliformes totaux*. Document de support aux « recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ». Accessible à : www.hc-sc.gc.ca/ehp/dhm/dpc_eau_qualite/eauguide.htm.
- ✓ JOSEPH M. J, (1980): Upper Management and Quality, New York, New York.
- ✓ DRS, (2011): Bilan national de la qualité des eaux conditionnées en, p. 2.
- ✓ MARIE. M, (2010): Analyse microbiologique de l'eau, p. 8-11.
- ✓ DRS, (2012): Bilan national de la qualité des eaux conditionnées en, p. 2.
- ✓ BOURRE P. et al, (1996) Cycle parasitaire première édition. Paris Dopamine, p. 40.
- ✓ GUIDE 4, (2010) : Elaborer et mettre en œuvre un plan de sécurité sanitaire des eaux ; suivi de la qualité de l'eau produite et distribuée, p. 4-7.
- ✓ CAMILLE. D : Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.
- ✓ BREHIMA. D, (2013) : Cours de qualité.
- ✓ ALY. S, (2012) : Cours de microbiologie alimentaire.

Sites internet

- ✓ www2.gnb.ca/content/dam/gnb/Departments/h-s/pdf/fr/MilieusSains/eau/Coliformf.
- ✓ www.phac-aspc.ca/lab-bio/res/psds/pseudomonas-spp-fra.php.
- ✓ www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables
- ✓ [http : www.menv.gouv.qc.ca](http://www.menv.gouv.qc.ca).
- ✓ www.cnrs.fr/./eauorga.html

ANNEXES

Composition et Préparation des milieux de cultures en g/l d'eau distillée:

➤ Milieu chromocult

Composition

Peptone :.....	3,0
Chlorure de sodium :.....	5,0
Dihydrogénophosphate de sodium :.....	2,1
Dihydrogenophosphate de disodium :.....	2,6
Tryptophane:.....	1
Pyruvate de sodium:.....	1
Sorbitol:.....	1, 0
Agar-agar:.....	10
Tergitol:	0, 15
Cefsulodine:	0,01
Mélange chromogénique :.....	0,2
pH: 6,8 ± 0,2	

Le milieu ainsi préparé peut se conserver pendant 1 mois entre 2 à 8°C.

Préparation

La préparation est faite suivant les prescriptions du fabricant. Les principales étapes sont les suivantes:

- suspendre 39,7g du produit solide dans 1l d'eau distillée ;
- porter à ébullition jusqu'à complète dissolution, sans autoclave
- ramener à une température optimale (45-50°C) puis couler dans des boîtes de Pétri stériles.

➤ Slanetz et Bartley(SB)

Composition

Tryptose.....	20, 0 g/l ;
Extrait de levure.....	5, 0 g/l ;
D(+) glucose.....	2, 0 g/l ;
Di-potassium hydrogeno-phosphate.....	4, 0 g/l ;
Sodium Azide.....	0, 4 g/l ;

Gélose.....10, 0 g/l.

pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2

Préparation

- peser 10,37 g du réactif de SLANETZ et BARTLEY(S-B) et mélanger dans une fiole jaugée avec 250 ml d'eau distillée(ou 20,74 g pour 500 ml),
- renverser le mélange dans un flacon et le chauffe dans un bain marie bouillant pendant environ 20 min pour la dissolution complète du milieu (ne pas autoclaver),
- ajouter 10 ml/l d'une solution filtrée à 1% de TTC et couler le liquide dans les boites de pétri, laisser se solidifier et ranger au réfrigérateur.

➤ Milieu Cétrimide

Composition

Peptone pancréatique de gélatine :.....20,0

Cétrimide :.....0,3

Chlorure de magnésium :.....1,4

Sulfate de potassium :.....10,0

Agar agar bactériologique :.....15,0

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.

Préparation

- Peser 11,33 g de réactif de Cétrimide, le verser dans une fiole jaugée ensuite ajouter 250ml d'eau distillée (ou 22,66 g pour 500 ml),
- ajouter 0,004 mg d'acide nalidixique (ou 0,017 mg),
- chauffer le tout dans un flacon et agiter fréquemment pour bien homogénéiser,
- placer ensuite le flacon dans un bain marie pendant une minute pour dissoudre complètement les particules, puis autoclaver pendant 15 min à 121°C,
- couler le liquide dans des boites de pétri, laisser solidifier et conserver dans le réfrigérateur

➤ Milieu Plate Count Agar (PCA)

Composition

Tryptone:..... 5,00

Extrait de levure:..... 2,50

Glucose:	1,00
Agar:	15,00

pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2.

Préparation

- peser 5,87 g de la substance de Plate Count Agar, dissoudre dans 250 ml d'eau distillée,
- chauffer pour dissoudre le soluté dans le solvant en agitant régulièrement, puis autoclaver pendant 15 min à une température de 121°C,
- couler en pente dans les tubes à essai puis conserver au réfrigérateur.

➤ Milieu King-A

Composition

-peptone dite "A" :.....	20,0
-glycérol :.....	10,0
-sulfate de potassium :.....	10,0
-chlorure de magnésium :.....	1,4
-agar purifié :.....	12,0

pH = 7,2 ± 0,2

Préparation

- peser 11,6 g de réactif de King-A pour mélanger avec 250 ml d'eau distillée puis chauffer pour dissoudre le soluté en agitant régulièrement,
- autoclaver pendant 15 min à 121°C, puis couler en pente dans les tubes à essai.

➤ Milieu Bile Esculine Azide (BEA)

Composition

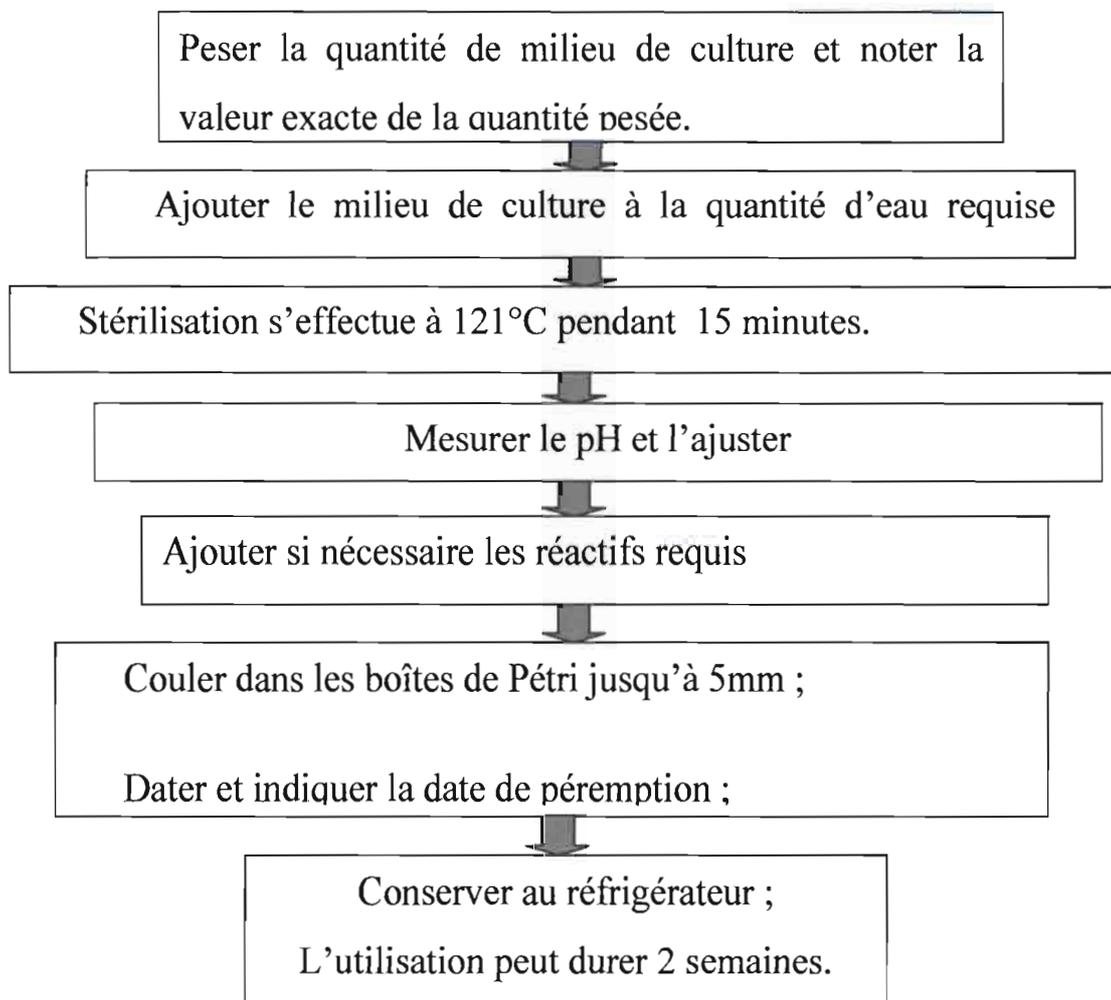
Peptone de caséine :.....	17
Extrait de levure :.....	5
Peptone :.....	3
Chlorure de sodium :	5
Esculine:	1
Sodium Azide:.....	0,15
Agar:.....	13
Citrate d'ammonium de Fer III :.....	0,5

Ox bile dried (bile sèche de bœuf) :..... 10

Preparation:

- peser 13,66 g de soluté pour mélanger avec 250 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée (ou 27,32 g pour 500 ml),
- chauffer le flacon contenant la solution en agitant fréquemment dans un bain Marie bouillant, puis autoclaver pendant 15 min à 121°C,
- couler dans les boites de pétri, et conserver.

Logigramme de la préparation des milieux de culture déshydratés



❖ Analyses microbiologiques des eaux conditionnées

Paramètres, milieux de culture, taille de la membrane

Paramètres	Milieux de culture (gélose)	Membrane	Quantité d'eau utilisées		Incubation
Coliformes totaux (CT)	Chromocult	0,45µm	forage	robinet	37°C à l'étuve
Coliformes fécaux (CF)					
<i>Pseudomonas aeruginosa (Psa)</i>	Cétrimide	0, 2µm	250ml	250ml	
Entérocoques intestinaux (Ei)	SB	0,45µm			
Germes revivifiables	PCA	NEANT	1ml	1ml	