



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
Département de Biologie  
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement



## Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de MASTER en Biologie

Filière : **Biologie Moléculaire et Cellulaire**

Option : **MICROBIOLOGIE**

*Présenté par*  
**Melle ABDESSELAM Fatima Zohra**

### Intitulé du Thème

**Test de l'activité d'un copolymère de synthèse dans la désinfection des eaux**

**Soutenu le : 17/09/2015**

**Devant le Jury composé de :**

<b>Dr. REBIAHI S.A.</b>	<b>Maître de conférences A</b>	<b>Promoteur</b>
<b>Dr. MANSRI Ali.</b>	<b>Professeur</b>	<b>Président</b>
<b>Mme Malek F.</b>	<b>Maître de conférences B</b>	<b>Examineur</b>

Année Universitaire : 2014-2015

# Remerciements

*Avant tout on remercie dieu tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail. Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.*

*Nous remercions naturellement nos encadreurs, **Mr. REBIAHI S.A, Mr MANSRI A.** et **Mme MALEK F.** pour leur orientation éclairée, et leur aide dans l'élaboration de notre mémoire*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, et encouragé pour la réalisation de ce mémoire, qu'ils trouvent ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.*

*Mes remerciements vont également à tous mes amis, enseignants et chercheurs du LAMAAB, qui m'ont soutenu moralement le long de ce travail et particulièrement **ZAKARIA, IBRAHIM, ABDELHAMID, MOHAMED, KHADIDJA, ABIR, HOURIA, IKRAM** et **ZERROUKI Hanane** ... qui ont su créer une ambiance chaleureuse de camaraderie et de travail qui restera un souvenir que je conserve de cette période.*

*Nous tenons à remercier aussi les membres du **groupe technalab** pour leurs soutient pendant cette période.*

*Nous tenons aussi à adresser nos vifs remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.*

*Enfin nous remercions les membres du jury de nous avoir honorés en acceptant de juger ce travail.*

# *Dédicaces*

*Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux.*

*Louange à dieu qui m'a aidé durant des années,  
éclairé et ouvert les portes du savoir.*

*C'est avec une profonde émotion que je dédie ce  
mémoire :*

*A mes chers parents à qui je dois tant et qui n'ont  
pas cessé de me témoigner affection, pour leurs  
amour, soutient, et leurs encouragement, en  
espérant les rendre fières.*

*A mes cher frère Boumedyen, Moustapha et à mes  
sœurs Newel, Meryem et hadjer pour leurs conseils  
et orientations.*

*Mon fiancé.*

## ***Table des matières***

. Abréviations.....	1
. Liste des figures et des tableaux .....	1
1. Liste des figures .....	1
2. Liste des tableaux .....	vii
. Introduction .....	1
. Etude bibliographique .....	3
I. L'eau .....	3
1- Les paramètres servant à décrire la qualité l'eau .....	3
1.1- Paramètres organoleptique .....	4
1.2- Paramètres bactériologiques de l'eau .....	5
1.3- Paramètres physico-chimiques de l'eau .....	5
1.4- Paramètres chimiques de l'eau .....	7
2- La désinfection de l'eau .....	9
2.1- Les différents procédés de désinfection d'eau appliqués.....	9
2.1.1- Désinfection par les ultra-violets (UV) .....	9
2.1.2- La chloration .....	9
2.1.3- L'ozonation.....	11
2.1.3.1- Mode d'action d'ozone .....	12
3- Les normes de critères mesurer et rechercher dans de l'eau potable .....	14
4- Les normes pour l'eau de consommation .....	14
II. La porphyrine .....	16
1-Structure .....	17
1.1-Squelette de la porphyrine.....	16
1.2-Propriétés de la cavité porphyrinique .....	16
1.3-Synthèse des porphyrines.....	19
1.4- Caractérisation des porphyrines .....	19
III. Les poly (4-vinylpyridines) .....	20
1-Polymérisations des vinylpyridines .....	21
IV-La norme en 1040 .....	22

. Matériel et méthodes .....	23
I-Objectif .....	23
II- Description et entretien des souches bactériennes.....	23
1-Mise en culture : revivification et purification .....	23
2. Préparation de l'inoculum bactérien .....	23
3-Détermination de la densité bactérienne de l'inoculum.....	24
III-Les tests d'activité du désinfectant .....	24
1-Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice(C.M.I) .....	24
1.1-Préparation de la solution désinfectante .....	24
1.2-Inoculation des plaques .....	25
2-Application de la norme EN 1040 :2005.....	25
2-1-Principe de la norme .....	25
. Résultats et discussion .....	28
. Conclusion .....	31
. Résumé.....	32
. Références bibliographiques .....	33
. Annexes .....	37

# Définitions et Abréviations

---

## 1. Abréviation :

**CMI** : Concentration Minimal Inhibitrice.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**EN**: Norme Européenne.

**P (4-VP)** : Poly (4-vinylpyridine).

**BHIB**: Brain Heart Infusion Broth.

**RMN**: Résonance Magnétique Nucléaire.

**UV** : Ultraviolet.

**C** : Carbone.

**H** : Hydrogène.

**DO** : Densité Optique.

**APA** : Acide Peracétide

**LPS** : Lipopolysaccharide.

**UFC** : Unité Formant Colonie.

**DPD** : Diethyl Paraphenylene Diamine.

## Liste des figures et des tableaux

---

### Listes des figures :

Figure01 : Mise en évidence du système à 18 électrons et nomenclature IUPAC des carbones caractéristiques

Figure02 : Métallation de la porphyrine (X et Y sont des ligands axiaux).

Figure 03: Représentation des porphyrines selon l'acidité du milieu.

Figure 04 : Représentation des sept types de porphyrines méso substituées.

Figure 05: Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.

Figure 06 : structure de la poly (4-vinylpyridine) dont n est le nombre de polymérisation.

Figure 07 : étape de la filtration.

Figure 08 : Incorporation sur gélose

Figures 09 : Aspect des souches sur boites après incubation.

Figure 10 : présentation des résultats obtenus.

Figures 11 : la microplaque de titration après incubation.

## Liste des figures et des tableaux

---

### Liste des tableaux :

Tableau 01 : Avantages et inconvénients liés à l'utilisation du chlore comme désinfectant

(Davis et Lambert, 2002)

Tableau 02 : Relation entre la température et la solubilité d'ozone dans l'eau.

Tableau 03 : méthodes d'analyse des paramètres physico-chimique (journal officiel algérien, 2009)

Tableau 04 : les valeurs microbiologiques maximales tolérées dans une eau potable (journal officiel algérien, 2011)

Tableau 05 : les valeurs chimiques et physicochimiques maximales tolérées dans une eau potables (journal officiel algérien, 2011)

Tableau 06 : détermination de la densité bactérienne de l'inoculum.

Tableau 07 : détermination de la CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) des quatre souches de référence

# Introduction

---

## Introduction :

Bien que l'eau recouvre plus de 70 % de notre planète, seuls 2,5 % sont constitués d'eau douce parmi lesquels uniquement 0,3 % correspondent à des ressources facilement accessibles et renouvelables comme les lacs et les rivières le reste étant principalement concentré dans les glaciers. De plus, l'eau est répartie dans le monde de façon très inégale : dont quelques pays (environ 9) se partagent 60 % des réserves mondiales d'eau douce, 28 souffrent de pénurie chronique et 80 de pénuries ponctuelles (Bessiere., 2005).

Cependant, le problème mondial de l'eau n'est pas toujours quantitatif mais aussi qualitatif. Où le développement industriel et humain se traduit par les rejets d'eau usée qui provoque la pollution et la dégradation des écosystèmes aquatiques. Même il y a des maladies humaines qui apparaissent qui sont due aux bactéries, aux parasites et à toutes particules contaminantes de l'eau.

En outre, la consommation des eaux non potable au niveau microbiologique présente des risques qui se multiplient et doivent être pris en compte : une désinfection est mise en place pour les limiter donc limiter le risque à court terme. Dont les risques directes sont les maladies hydriques. (Montiel., 2004)

Il est donc important de mieux connaître les variations de la qualité microbiologique des sources d'eau pour que les opérateurs des usines puissent adapter leurs traitements en conséquence. La qualité de l'eau brute et traitée étant analysée de façon périodique par la prise et l'analyse d'échantillons d'eau, il est facile d'avoir un bon suivi de l'eau distribuée à la population par les usines de production d'eau potable. La majorité des résultats d'analyses (turbidité, chlore résiduel, couleur de l'eau, charge en matière organique, etc.) sont disponibles dans un très court laps de temps. Par contre, en ce qui a trait aux paramètres microbiologiques, et en particulier aux indicateurs les plus utilisés que sont les coliformes, il faut attendre souvent plus de 24 heures avant d'obtenir les résultats des analyses de laboratoire (Rompre et *al* ; 2002). Compte tenu de ces délais, l'eau aura déjà été consommée par la population lorsque les résultats d'analyse deviennent disponibles.

De plus, il y a un manque de connaissance en ce qui concerne les facteurs qui influencent les variations de la qualité microbiologique de l'eau, et en particulier des coliformes, dans une source d'eau potable. Aucun outil n'est présentement disponible pour

## Introduction

---

expliquer ces variations et ainsi permettre aux opérateurs de prévoir plus facilement les fluctuations des coliformes dans les eaux brutes.

Ce travail est pour but de tester un nouveau copolymère de synthèse, s'il est actif ou non dans le domaine de la désinfection des eaux, car la porphyrine qui est un des deux composant de ce copolymère possède une propriété de capter le dioxygène ( $O_2$ ) et libérer l' $O_3$  (ozone) qui est toxique pour les bactéries.

# Etude bibliographique

---

## I. L'eau :

Les bactéries sont ubiquitaires dans la nature, elles se trouvent dans tous les milieux : air, sol, eau et même dans/sur d'autres êtres vivants. Chez les humains on dit alors commensales. Elles peuvent faire parties des flores cutanée, digestive, buccale, génitale.

Une minorité est pathogène et certaines ne le sont que dans certaines conditions.

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présents, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes soit, ce qui est souvent plus aisé, celles qui sont indicatrices de contamination fécale qui provoquent des maladies associés à la contamination fécale. On peut noter que l'absence de contamination fécale ne laisse en rien présager l'absence d'espèce potentiellement pathogène (exemple : légionnelles, Pseudomonas...) (RODIER et *al.*, 2009).

L'analyse débute par l'acte de prélèvement qui doit mettre en œuvres des méthodes qui assurent l'absence de toute contamination de l'échantillon et les conditions de conservation doivent être stériles. Dès que notre échantillon est au laboratoire l'analyse bactériologique aura lieu. Le laborantin doit chercher la présence de germes aérobies, coliformes totaux, les coliformes fécaux, les entérocoques et les clostridium sulfito-réducteurs (RODIER et *al.*, 2009).

Cette analyse est importante car la qualité bactériologique d'une eau n'est pas un paramètre stable (RODIER et *al.*, 2009).

### 1- Les paramètres servant à décrire la qualité l'eau :

Plusieurs types de paramètres sont utilisés pour décrire la qualité des eaux brutes ou traitées: paramètres physiques, chimiques et microbiologiques.

# Etude bibliographique

---

## **1.1- Paramètres organoleptique :**

### **1.1.1- La couleur :**

La coloration d'une eau est dite vraie ou réelle lorsqu'elle est due aux seules substances dissoutes, c'est-à-dire passant à travers un filtre de porosité égale à 0,45µm. Elle est dite apparente quand les substances en suspension y ajoutent leur propre coloration. Les couleurs réelle et apparente sont approximativement identiques dans l'eau claire et les eaux de faible turbidité (RODIER et *al.*, 2009).

### **1.1.2- Le goût :**

Le goût peut être défini comme :

- L'ensemble des sensations gustatives, olfactives et de sensibilité chimique commune perçue lorsque l'aliment ou la boisson est dans la bouche ;
- La propriété des produits provoquant ces sensations (RODIER et *al.*, 2009).

### **1.1.3- L'odeur :**

Une eau destinée à l'alimentation doit être inodore. En effet, toute odeur est un signe de pollution ou de la présence de matières organiques en décomposition. Ces substances sont en général en quantité si minime qu'elles ne peuvent être mises en évidence par les méthodes d'analyse ordinaire. Le sens olfactif peut seul, parfois, les déceler.

Les échantillons doivent être prélevés dans les récipients en verre hermétiques. Il faut bannir les récipients en plastique. L'examen doit être pratiqué le plus rapidement possible après le prélèvement. L'échantillon peut éventuellement être conservé à 4°C(±2°C) en évitant toute mise en contact avec des odeurs étrangères. Le temps de stockage ne doit pas dépasser 72h.

L'odeur peut être définie comme :

- a) l'ensemble des sensations perçues par l'organe olfactif en flairant certaines substances volatiles ;
- b) la qualité de cette sensation particulière provoquée par chacune de ces substances (RODIER et *al.*, 2009).

### **1.1.4- La turbidité :**

La turbidité d'une eau est due à la présence des particules en suspension, notamment colloïdales : argiles, limons, grains de silice, matières organiques, etc. L'appréciation de l'abondance de ces particules mesure son degré de turbidité. Celui-ci sera d'autant plus faible que le traitement de l'eau aura été plus efficace (RODIER et *al.*, 2009).

# Etude bibliographique

---

## **1.2- Paramètres bactériologiques de l'eau :**

### **1.2.1- Les coliformes totaux :**

Les coliformes totaux sont des bactéries en forme de bacilles, non sporulantes, Gram négatif, aérobies facultatives et qui fermentent le lactose en 48 heures à 35 °C avec production de gaz. Les coliformes totaux ne sont pas nécessairement des bactéries originaires du système intestinal. Plusieurs bactéries qui font partie du groupe des coliformes totaux se retrouvent en fait sur les feuilles des arbres et sur toute autre forme de végétation. Donc, la présence de coliformes totaux ne veut pas dire à coup sûr que l'on se retrouve devant une contamination d'origine fécale (BOUCHARD, 2008).

### **1.2.2- Les coliformes fécaux**

Les coliformes fécaux sont en fait des coliformes qui poussent à des températures plus élevées, soit à partir de 44,5°C. Ces coliformes fécaux sont des bactéries que l'on retrouve dans la flore intestinale des animaux à sang chaud. La bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*) fait partie des coliformes fécaux.

Comme la présence de ces bactéries dans une source d'eau ne peut pas être considérée comme normale, elle peut donc représenter une menace ou l'indication d'une éventuelle dégradation de la qualité microbiologique de l'eau, due à la présence d'une contamination fécale. Le mécanisme de transport de ces bactéries dans l'eau serait surtout le ruissellement des eaux de pluies sur le bassin versant, entraînant avec lui les microorganismes contenus dans la terre (BOUCHARD, 2008).

### **1.2.3- Les streptocoques fécaux**

Les streptocoques fécaux sont en grande partie d'origine humaine. Cependant, certaines bactéries classées dans ce groupe peuvent être trouvées également dans les fèces animales, ou se rencontrent sur les végétaux. Ils sont néanmoins considérés comme indicateurs d'une pollution fécale, et leur principal intérêt réside dans le fait qu'ils sont résistants à la dessiccation. Ils apportent donc une information supplémentaire sur une pollution. L'identification de *streptocoques fécaux* donnera une confirmation importante du caractère fécal de pollution (MEHANNED et al., 2014).

## **1.3- Paramètres physico-chimiques de l'eau :**

### **1.3.1- pH :**

Le pH correspond à la concentration d'ions hydrogène. Il mesure l'acidité ou la basicité d'une eau. Le pH interfère avec d'autres paramètres de la qualité dans les complexes réactions chimiques : dureté, alcalinité, turbidité, conductivité (SPELLMAN, FRANK, 2008).

## Etude bibliographique

---

### **1.3.2- Température :**

La température des eaux souterraines est relativement constante toute l'année, par contre celle des eaux superficielles est très variable selon les saisons et peut passer de 2 °C à 30 °C. La diminution de la température entraîne la diminution de l'efficacité des traitements dont la désinfection et entraîne aussi l'augmentation de la viscosité de l'eau. L'augmentation de la température à diverses conséquences comme : la croissance bactérienne, les problèmes de saveur, de couleur, corrosion (SPELLMAN, FRANK, 2008).

### **1.3.3- Alcalinité :**

A l'inverse de l'acidité, l'alcalinité d'une eau correspond à la présence de bases et de sels d'acides faibles. Dans les eaux naturelles, l'alcalinité résulte le plus généralement de la présence d'hydrogencarbonates, carbonates et hydroxydes (RODIER *et al.*, 2009).

### **1.3.4- Conductivité électrique :**

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1cm<sup>2</sup> de surface et séparées l'une de l'autre de 1cm. Elle est l'inverse de la résistivité électrique (RODIER *et al.*, 2009).

### **1.3.5- Titre hydrotimétrique ou dureté :**

La dureté ou titre hydrotimétrique d'une eau correspond à la somme des concentrations en cations métalliques à l'exception de ceux des métaux alcalins et de l'ion hydrogène. Dans la plupart des cas la dureté est surtout due aux ions calcium et magnésium auxquels s'ajoutent quelquefois les ions fer, aluminium, manganèse, strontium. La dureté est encore appelée dureté calcique et magnésienne ou consommation de savon. Elle s'exprime en milliéquivalents de concentration en CaCO<sub>3</sub> (RODIER *et al.*, 2009).

### **1.3.6- La matière solide dissoute totale (TDS) :**

Les solides dans l'eau se trouvent soit en solution ou en suspension, et se distinguent par le passage de l'échantillon de l'eau à travers un filtre de fibres de verre. Par définition, les matières en suspension sont retenues sur le dessus du filtre, et les solides dissous passent à travers le filtre avec de l'eau. Lorsque la partie filtrée de l'échantillon d'eau est placée dans une coupelle, puis évaporé, les solides dissous dans l'eau restent comme résidu dans la capsule d'évaporation. Cette matière est appelée matières totales dissoutes ou TDS (SPELLMAN, FRANK, 2008).

### **1.3.7- Les ions Sodium :**

Ce métal, très abondant ne se rencontre pas naturellement à l'état natif mais toujours associé à d'autres éléments chimiques (comme le chlorure de sodium NaCl). Le sodium est

## Etude bibliographique

---

ingéré quotidiennement par l'eau et les aliments qui en représentent la principale source (SPELLMAN, FRANK, 2008).

### **1.3.8- Les ions Magnésium :**

Le magnésium est un élément très répandu dans la nature et il est présent dans la plupart des eaux naturelles. Le magnésium contribue à la dureté de l'eau sans être l'élément essentiel et aussi il est indispensable pour la croissance et pour la production de certaines hormones (SPELLMAN, FRANK, 2008).

### **1.3.9- Les ions Chlorure :**

Les chlorures présents dans l'eau potable proviennent des eaux usées et des effluents industriels. La principale source d'exposition humaine au chlorure est l'ajout de sels aux aliments. L'apport de cette source est généralement supérieur à celui de l'eau de boisson. Les concentrations excessives de chlorure augmentent les taux de corrosion des métaux dans le système de distribution, cela peut conduire à une augmentation des concentrations de métaux dans les systèmes d'alimentation en eau potable (Goodburn, Wallace, 2013).

### **1.3.10- Les ions Sulfate :**

Les ions sulfates sont utilisés principalement dans l'industrie chimique. Ils sont rejetés dans l'eau à travers les déchets industriels. Cependant, les niveaux les plus élevés se produisent habituellement dans les eaux souterraines et proviennent de sources naturelles. En général, l'apport quotidien moyen de sulfate de l'eau potable, de l'air et de la nourriture est d'environ 500 mg, la nourriture étant la principale source. Toutefois, dans les zones où l'approvisionnement en eau potable contenant des niveaux élevés de sulfate, l'eau potable peut constituer la principale source de consommation (OMS, 2003).

### **1.3.11- Indice de Langelier de saturation (LSI) :**

La méthode la plus simple pour le calcul de l'agressivité de l'eau est la « méthode de Langelier ». Il a établi un indice, appelé « **indice de saturation** ou **indice de Langelier** ». L'eau est agressive si cet indice est négatif, elle est calcifiante si l'indice est positif et elle est à l'équilibre calcocarbonique si l'indice de saturation est nul (RODIER *et al.*, 2009).

### **1.4- Paramètres chimiques de l'eau :**

Consiste à doser le **chrome** qui est présent dans l'eau sous une forme de sels solubles de particules insolubles ou complexes chimiques. Il provoque, à faible dose, une irritation de la muqueuse gastro-intestinale et à forte dose, une nécrose du foie et une néphrite (SPELLMAN, FRANK, 2008).

## Etude bibliographique

---

**Le plomb** qui est un métal grisâtre que l'on retrouve dans la croûte terrestre, il existe sous forme métallique, inorganique et organique, et aussi très malléable et résistant à la corrosion (CHAUSSE et *al.*, 2003).

**Le cuivre** qui est présent naturellement dans l'environnement, mais il est aussi abondamment utilisé dans les domaines industriels et domestiques. Il peut être détecté dans les eaux de surface, les eaux souterraines ou l'eau de mer. Sa présence fait suite à l'érosion du sol ou des rochers, de la dislocation du sol (CAMPAGNA et *al.*, 2012).

**Le cadmium** : la nourriture est la principale source d'exposition quotidienne au cadmium. Il faut noter aussi que le tabagisme est une source importante d'exposition au cadmium (OMS, 2003).

**Le zinc** : est un oligo-élément essentiel qui se trouve dans presque tous les aliments et dans l'eau potable sous forme de sels ou de complexes organiques (OMS, 2003).

**Le fer** : est l'un des métaux les plus abondants dans la croûte terrestre (OMS, 2003).

**Le bore** : sa présence dans l'eau de surface est souvent une conséquence de la décharge des effluents traités des eaux usées, d'où ils proviennent la contamination des eaux de surface par certains détergents (OMS, 2003).

**L'argent** : Il est pratiquement inexistant dans l'eau, et il arrive que la teneur soit élevée dans l'eau de robinet du fait de sa présence à l'état de traces dans certains accessoires de plomberie (SPELLMAN, FRANK, 2008).

**Les nitrites** : L'azote, élément essentiel de la vie, est présent en abondance dans la nature sous formes gazeuse, organique ou minérale. Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, soit d'une réduction des nitrites sous l'influence d'une action dénitrifiante (SPELLMAN, FRANK, 2008).

Les nitrites non liées à une pollution, se retrouvent parfois dans les eaux pauvres en oxygène. Leur présence a également été signalée dans les eaux de pluie et dans celles provenant de la fonte des neiges. En effet la pollution atmosphérique favorise l'augmentation de la teneur en nitrites. Toutefois, une eau qui renferme des nitrites est à considérer comme suspecte car cette présence est souvent liée à une détérioration de qualité microbiologique (SPELLMAN, FRANK, 2008).

Sa présence dans le sang empêche l'hémoglobine de fixer convenablement l'oxygène c'est la maladie « *méthémoglobinémie* » (Trancart, 1997).

**Les nitrates** : sont toxique d'une manière indirecte, que lorsqu'ils sont oxydés en nitrite (Trancart, 1997).

# Etude bibliographique

---

**Bromate :** Depuis la fin des années 90, les bromates sont dosés dans les eaux destinées à la consommation humaine (eau potable) et dans les ressources en eau destinées à la production d'eau potable. La teneur de 10 µg/L tolérée dans les eaux potables (RODIER et *al.*, 2009).

## **2- La désinfection de l'eau :**

La désinfection de l'eau consiste à éliminer toute la flore contaminantes qui existe dans cette eau à désinfecter. Elle a pour but d'empêcher les maladies hydriques.

Dont les procédés sont soit physiques ou chimique, et chacun a ses avantages et ses inconvénients.

Le choix d'un procédé par rapport à un autre se fait en considérant les contraintes techniques, économiques et environnementales qu'il présente. Le meilleur doit regroupé les caractéristiques suivantes :

- Efficacité pour la plupart des micro-organismes pathogènes.
- Absence de sous-produits indésirables formés à la suite de son utilisation.
- Produit non-dangereux pour les humains et pour la vie aquatique.
- Facilité d'utilisation.
- Faible cout d'investissement et d'exploitation (Labas et *al.*, 2006).

### **2.1- Les différents procédés de désinfection d'eau appliqués:**

#### **2.1.1- Désinfection par les ultra-violets (UV) :**

Le dispositif de traitement a pour principe de générer des rayons ultraviolets au sein d'une chambre d'irradiation. Ces rayons irradient les cellules vivantes contenues dans le liquide traversant l'appareil.

Le système de décontamination de l'eau par UV possède de nombreux avantages. Le plus intéressant est que la désinfection par UV ne s'accompagne pas de la formation d'un produit de réaction avec les matières organiques de l'eau. L'utilisation de l'appareil est simple, il est facilement adaptable sur les systèmes hydrauliques déjà en place, son entretien est réduit et son coût de fonctionnement est relativement bas. Toutefois le bon fonctionnement de l'appareil nécessite une eau de bonne transmittance (Labas et *al.*, 2006).

#### **2.1.2- La chloration :**

Le chlore est un agent oxydant fort qui réagit facilement avec plusieurs substances organiques et inorganiques trouvées dans les eaux usées. Il est particulièrement efficace pour détruire les bactéries, mais moins efficace contre les virus. Aux fins de traitement tertiaire, le chlore est utilisé sous les formes suivantes : chlore gazeux, hypochlorite de sodium (eau de javel) ou bioxyde de chlore (Labas et *al.*, 2006 ; USEPA, 1986).

## Etude bibliographique

---

Au plan économique, il s'agit d'une technologie dont les coûts sont les plus faibles parmi toutes les techniques éprouvées (Labas *et al.*, 2006).

Au plan de la sécurité, la manipulation du chlore, notamment sous forme gazeuse, nécessite d'importantes mesures de protection pour le personnel de la station d'épuration et représente un risque pour la sécurité publique lors du transport.

Enfin, au plan environnemental, le traitement tertiaire des eaux usées au chlore peut avoir un impact significatif sur la vie aquatique à cause de la toxicité, aiguë et chronique du chlore résiduel. De plus, le chlore réagit avec certaines matières organiques contenues dans les eaux usées, même traitées, pour former des sous-produits organochlorés, dont certains sont potentiellement cancérigènes (Nakamura *et al.*, 1993).

**Tableau 01 : Avantages et inconvénients liés à l'utilisation du chlore comme désinfectant**  
(Davis et Lambert, 2002)

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"><li>-Il existe sous différentes formes : poudre, granulés, pastilles, liquide et gaz.</li><li>-En général il est facilement disponible sous une forme ou une autre et relativement peu coûteux.</li><li>-Il se dissout facilement dans l'eau.</li><li>-Il apporte une désinfection résiduelle (pouvoir rémanent).</li><li>-Il est efficace contre de nombreux microorganismes agents pathogènes</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-C'est un oxydant puissant qui doit être manipulé avec précaution. Il faut éviter de respirer les vapeurs de chlore.</li><li>-Il pénètre difficilement à l'intérieur des sédiments et particules organiques en suspension dans l'eau.</li><li>-Il peut donner un mauvais goût à l'eau si une dose trop importante est utilisée. Ce qui peut dissuader les usagers de la consommer.</li><li>-Son efficacité contre certains organismes demande des concentrations plus élevées et des périodes de contact plus longues.</li><li>-Il est inefficace pour l'élimination des cryptosporidium. Là où ce pathogène représente une menace, d'autres méthodes devraient être utilisées en association avec le chlore (par exemple la filtration).</li></ul>

## Etude bibliographique

---

- **Comment tester la présence du chlore résiduel :**

La méthode la plus rapide et la plus facile pour tester la présence de chlore résiduel est le test DPD (Diethyl Paraphenylene Diamine) en utilisant un comparateur colorimétrique. Une pastille de DPD est ajoutée à un échantillon d'eau, et teint l'eau en rouge. L'intensité de la couleur est comparée visuellement à celle d'une échelle de couleur afin de déterminer la concentration en chlore (WHO, 2011).

Plus la couleur est foncée, plus la teneur de l'eau en chlore résiduel est élevée (WHO, 2011).

### **2.1.3- L'ozonation :**

L'ozone a été découvert pour la première fois en 1781 par Martin von Marum et la molécule a ensuite été isolée par un chercheur suisse, Schönbein(1839), qui donna le nom en se référant à la racine grecque « *ozein* » sentir. L'ozone a d'abord été utilisé en 1907 dans le traitement de l'eau municipale de la ville de Nice et en 1910 à Saint-Pétersbourg (Kogelschatz, 1988).

L'ozone est un gaz instable que l'on doit générer sur place, dans les stations d'épuration au moyen d'une décharge électrique produite dans de l'air ou de l'oxygène. L'opération consiste à transformer l'oxygène sous forme «  $O_2$  » en oxygène sous forme «  $O_3$  ».

L'ozone est un gaz de couleur bleu pâle lorsque la température ambiante est de 25°C. Il devient à l'état liquide et de couleur bleu foncé à une température de -111,9°C, solide et de couleur pourpre à -192,5 °C (Zeynep et al., 2003).

À la température et à une pression ambiante, c'est un gaz incolore. Il est constitué de trois atomes d'oxygène qui sont disposés selon un angle fermé d'environ 116,49 ° et d'une longueur de liaison de 1,278 Å (Takeuchi, 2005). Un atome central d'oxygène est attaché à distance égale avec les deux autres atomes oxygène (Oehlschlaeger, 1978).

Le Tableau01 indique la relation entre la température et la solubilité de l'ozone dans l'eau (Rice et al., 1981).

## Etude bibliographique

---

**Tableau02 : Relation entre la température et la solubilité d'ozone dans l'eau**

Température (C0)	Solubilité (litre ozone/litre d'eau)
0	0, 640
15	0, 456
27	0, 270
40	0, 112
60	0, 000

### **2.1.3.1- Mode d'action d'ozone :**

Selon Victorin, (1992), l'ozone détruit les micro-organismes par l'oxydation progressive des composants cellulaires vitaux. La surface cellulaire des bactéries est la principale cible de l'ozonation. Deux mécanismes principaux ont été identifiés. Le premier indique que l'ozone oxyde les groupes d'enzymes sulfhydriles et des acides aminés, des peptides et des protéines en peptides de courte chaîne. Le deuxième indique que l'ozone oxyde les acides gras polyinsaturés en peroxydes. L'ozone entraîne la dégradation des lipides insaturés des enveloppes cellulaires, altérant l'intégrité de la membrane cellulaire et la fuite ultérieure du contenu cellulaire. Les doubles liaisons des lipides insaturés sont particulièrement sensibles à l'action de l'ozone. Des études menées par Karaca et Velioglu (2007) afin d'examiner l'efficacité de l'ozone dans la lutte contre de multiples micro-organismes (bactéries, virus, algues et champignons) ont démontré que l'ozone pouvait détruire ces organismes par oxydation progressive des composants cellulaires. De plus l'ozone provoquerait une oxydation généralisée des protéines cellulaires internes, causant la mort cellulaire fugace. D'autres chercheurs ont permis d'étudier l'effet de l'ozone sur la *Salmonella typhimurium*. Ils ont conclu, après plusieurs essais, que l'ozone pouvait avoir des effets mutagènes, entraînant ainsi des lésions cellulaires et l'inactivation (Dillon et al., 1992). Son action sur les bactéries Gram négatives, en particulier sur les couches de lipoprotéines et de lipopolysaccharides qui sont les premiers sites de destruction, entraîne une hyperperméabilité cellulaire et la lyse cellulaire immédiate (Kim et al., 1999). L'ozone provoque l'oxydation interne des protéines cellulaires induisant ainsi une mort cellulaire immédiate et rapide. La lyse cellulaire se fait aussi à la suite d'une destruction accrue par dénaturation des acides nucléiques. Ainsi, la thymine est plus sensible à l'ozone que la cytosine ou l'uracile (Mudd et al., 1969 ; Hinze et al., 1987 ;

## Etude bibliographique

---

Takamoto, 1992, Kim et *al.*, 1999). Selon Kim et *al.*, 1999, l'ozone détruit également l'ARN viral et modifie les chaînes polypeptidiques de la protéine virale. Le type de micro-organismes, l'âge de la culture, la densité de la population à traiter, les méthodes de quantification sont autant de paramètres qu'on doit étudier afin d'évaluer la sensibilité des micro-organismes et l'efficacité antimicrobienne de l'ozone (Guzel-Seydim et *al.*, 2004).

Khadre et Yousef (2001), qui ont comparé les effets de l'ozone et du peroxyde d'hydrogène sur les spores de *Bacillus spp*, ont conclu que l'ozone est plus efficace que le peroxyde d'hydrogène. Pour de nombreux micro-organismes pathogènes, un temps minimum et une concentration adéquate en ozone seraient utiles afin d'obtenir l'inactivation désirée (Gujer, Von Gunten, 2003; Karaca, Velioglu, 2007 ; Cullen et *al.*, 2009).

### **Effet de l'ozone sur les micro-organismes :**

Plusieurs études ont porté sur la capacité de l'ozone à réduire et même à tuer les microbes. L'ozone peut interagir sur plusieurs micro-organismes, y compris les bactéries Gram positives et celles Gram négatives, ainsi que sur les spores et les cellules végétatives (Fetner, Ingols , 1956 ; Foegeding, 1985; Ishizaki et *al.*, 1986; Restaino et *al.*, 1995).

Restaino et *al.*, (1995) ont prouvé que l'ozone avait un rôle bactéricide sur les bactéries Gram positives comme les *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* ainsi que sur les bactéries Gram négatives comme les *Pseudomonas aeruginosa* et *Yersinia enterocolitica*. Restaino et *al.*, (1995) ont déterminé que l'ozone détruisait les levures *Candida albicans* et *Zygosaccharomyces bacilles* et les spores d'*Aspergillus niger*. Il a été démontré que la puissante capacité d'oxydation de l'ozone permettait aussi de détruire une grande variété de virus, y compris le virus de l'Encéphalomyélite équine vénézuélienne, l'hépatite A, la grippe A, le virus de la stomatite vésiculeuse, le virus de la rhino trachéite infectieuse bovine (Restaino et *al.*, 1995).

## Etude bibliographique

---

### 3- Les normes de critères mesurer et rechercher dans de l'eau potable :

**Tableau 03 : méthodes d'analyse des paramètres physico-chimique (journal officiel algérien, 2009)**

Paramètres	Méthodes d'analyse
Alcalinité	titrimétrique
Calcium	titrimétrique à l'EDTA
Chlorures	titrimétrique
Concentration en ions hydrogène (pH)	potentiométrique titrimétrique, colorimétrique
Conductivité à 20°C	électrochimique par sonde
Demande biochimique en oxygène (DBO5) à 20 °C	par dilution et ensemencement
Demande chimique en oxygène (DCO)	par oxydoréduction
Dureté	détermination de l'alcalinité (titre alcalimétrique TH et titre alcalimétrique complet TAC)
Matières en suspension	par filtration sur fibre de verre
Potassium	par spectrométrie d'émission de flamme par spectrométrie d'absorption atomique
Résidu sec	détermination des résidus secs, du résidu calciné et du résidu sulfaté
Sodium	par spectrophotomètre de flamme par spectrométrie d'absorption atomique.
Sulfates	gravimétrique
Taux de saturation en oxygène dissous	détermination par méthode électrochimique à la sonde
Température	mesure de la température

## Etude bibliographique

### 4- Les normes pour l'eau de consommation :

#### 4.1- Les paramètres microbiologiques :

*Tableau 04 : les valeurs microbiologiques maximales tolérées dans une eau potable  
(journal officiel algérien, 2011)*

Paramètres microbiologiques	coliformes	n/100ml	20
	Escherichia Coli	n/100ml	0
	streptocoques	n/100ml	0
	Bactéries sulfito-réductrices y compris les spores	n/20ml	0

#### 4.2- Les paramètres physicochimiques :

*Tableau 05 : les valeurs chimiques et physicochimiques maximales tolérées dans une eau potables (journal officiel algérien, 2011)*

Groupes de paramètres	Paramètres	Unité	Valeur maximale	
			Eaux superficielles	Eaux souterraines
Paramètres physico-chimiques en relation avec la structure naturelle des eaux	Chlorures	mg/l Ci	600	500
	Concentration en ions hydrogène (pH)	Unité pH	6,5 et 9	6,5 et 9
	Conductivité	μS/cm à 20°C	2800	2800
	Demande biochimique en oxygène (DBO 5)	mg/l O <sub>2</sub>	7	< 3
	Demande chimique en oxygène (DCO)	mg/l O <sub>2</sub>	30	—
	Matières en suspension	mg/l	25	25
	Sulfates	mg/l SO <sub>4</sub>	400	400
	Taux de saturation en oxygène dissous	% O <sub>2</sub>	30	> 70
	Température	°C	25	25

## Etude bibliographique

<b>Paramètres chimiques</b>	Ammonium	mg/l	4	0,5
	Baryum	mg/l	1	0,7
	Bore	mg/l	1	1
	Fer dissous	mg/l	1	0,3
	Fluor	mg/l	2	1,5
	Manganèse	mg/l	1	0,05
	Nitrates	mg/l NO <sub>3</sub>	50	50
	Phosphore	mg/l	10	5
	Arsenic	µg/l	100	10
	Cadmium	µg/l	5	5
	Chrome	µg/l	100	50
	Cuivre	Mg/l	2	0,05
	Cyanures	µg/l	100	50
	Mercure	µg/l	10	6
	Plomb	µg/l	50	10
	Sélénium	µg/l	50	10
	Zinc	mg/l	5	5
	Hydrocarbures polycycliques aromatiques	µg/l	1	0,2
	Hydrocarbures dissous	µg/l	1000	10
	Phénols	µg/l	2	0,5
Agents de surface	mg/l	0,5	0,2	
Azote Kjeldhal	mg/l	3	1	
Pesticides	µg/l	1	0,5	

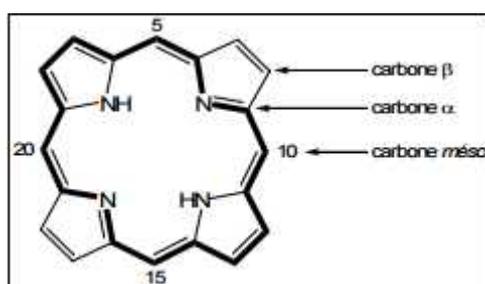
### II. La porphyrine :

La porphyrine est une molécule organique de type colorant qui joue un rôle important dans de nombreux systèmes biologiques, notamment dans les systèmes photosynthétiques.

## 1. Structure :

### 1-1. Squelette de la porphyrine

Une porphyrine est un macrocycle tétrapyrrolique composé de quatre unités pyrroliques reliées entre elles par quatre ponts méthènes. Il s'agit d'un système aromatique comportant 22 électrons mais seulement 18 d'entre eux sont impliqués dans l'aromaticité (Figure 01). Ce caractère aromatique confère aux porphyrines une stabilité importante ainsi qu'une forte absorption dans le domaine du visible : les porphyrines sont des chromophores puissants.

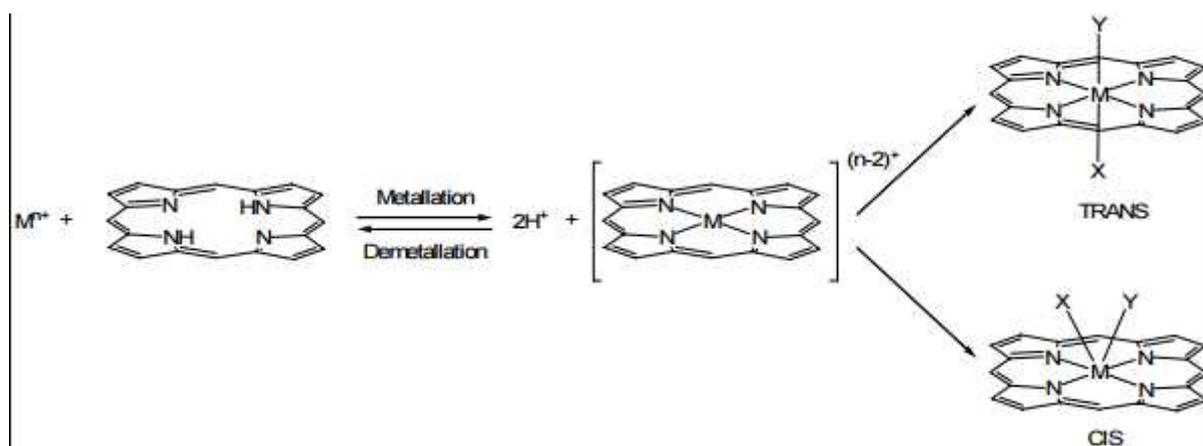


*Figure01 : Mise en évidence du système à 18 électrons et nomenclature IUPAC des carbones caractéristiques*

La fonctionnalisation des positions périphériques du macrocycle, les positions pyrroliques et méso, permet notamment de moduler les propriétés électroniques de celui-ci. Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons uniquement aux mésotétraarylporphyrines, c'est-à-dire aux porphyrines substituées en position méso par des groupements aryles.

### 1-2. Propriétés de la cavité porphyrinique :

Les porphyrines sont d'excellents ligands tétradentates. En effet, la cavité centrale est adaptée à la coordination de métaux. Ainsi, sous sa forme dianionique (déprotonée), la porphyrine peut complexer la plupart des éléments du tableau périodique, et notamment les métaux de transition, pour former des complexes tétracoordinés (Sanders et al., 2000; Scheidt et al., 2000). Le nombre de coordination minimum du métal est donc de 4. Une coordination en position axiale du métal est possible (Figure 02). Ainsi, l'ajout de ligands anioniques ou neutres peut conduire à des nombres de coordination de 5, 6, 7 et même 8.

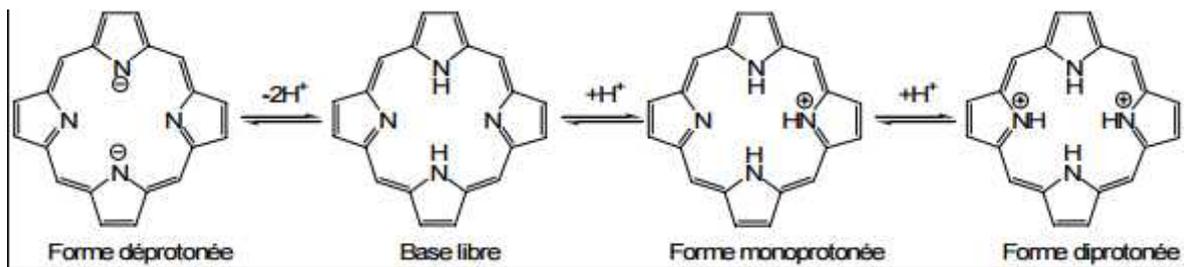


**Figure02 : Métallation de la porphyrine (X et Y sont des ligands axiaux)**

*(Sanders et al., 2000; Scheidt et al., 2000).*

Selon la taille du cation métallique, celui-ci se place dans le plan du cycle ou légèrement au-dessus de ce plan, donnant lieu à des géométries axiales de type trans et cis respectivement. Quand la taille du cation métallique devient trop grande par rapport à la taille de la cavité, les complexes formés ont tendance à être peu stables. La stabilité des métalloporphyrines, c'est-à-dire leur facilité ou non à se démétaller, varie de manière importante selon les métaux insérés. La taille du cation, le degré de covalence de la liaison métal-azote et le degré d'oxydation du métal sont des facteurs influençant cette stabilité. En première approximation, la stabilité vis-à-vis de différents acides ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$  aqueux,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) peut permettre un classement des différentes métalloporphyrines en fonction de leur facilité à se démétaller.

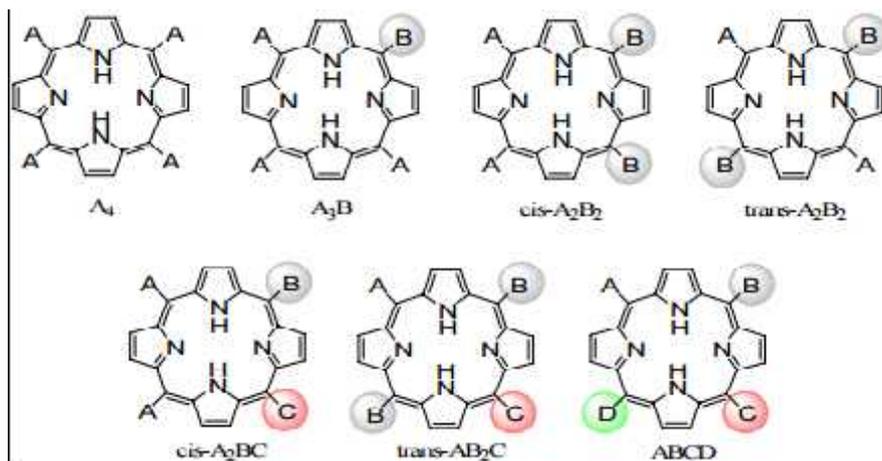
Par ailleurs, la porphyrine agit comme un amphotère. En milieu neutre, elle se trouve sous sa forme dite « base libre » (Figure 03). En milieu acide, les porphyrines se protonent facilement pour former une entité dicationique où les quatre pyrroles sont protonés. Il est en revanche plus difficile de déprotoner la porphyrine « base libre » pour obtenir la forme déprotonée, la valeur du pKa des groupements NH pyrroliques ayant été estimé à 16 (Smith, 1975).



**Figure 03 :** Représentation des porphyrines selon l'acidité du milieu (K. M. Smith, 1975).

### 1-3. Synthèse des porphyrines

Liées au regain d'intérêt que suscitent actuellement les porphyrines, de nombreuses méthodes ont été développées ces dernières années pour synthétiser ce type de macrocycle. Il est à présent possible de fonctionnaliser de manière différenciée les quatre carbones méso de la porphyrine. Selon la nature des substituants, on peut regrouper les méso-porphyrines tétrasubstituées en sept groupes (Figure 04) (Hong et al., 2004).



**Figure 04 :** Représentation des sept types de porphyrines méso substituées

(Hong et al., 2004).

### 1-4. Caractérisation des porphyrines :

Lors d'une étude, les techniques de caractérisation utilisées étaient la spectroscopie UV/Visible, la RMN, la spectrométrie de masse et la diffraction des rayons X. Ils ont détaillé quelques propriétés caractéristiques des porphyrines (Gouterman, 1961).

#### 1-4-1. Spectroscopie UV/Visible :

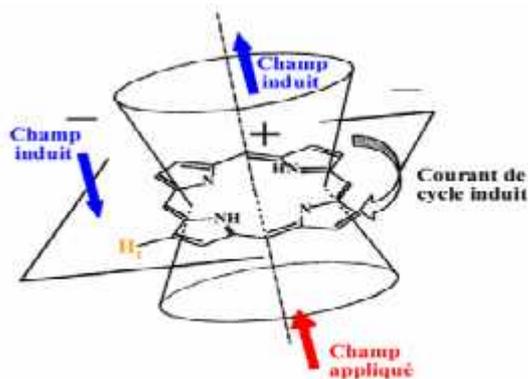
Les porphyrine absorbent dans le domaine du visible et du proche UV et présentent un spectre d'absorption caractéristique. Il se compose de deux types d'absorption : la bande de

## Etude bibliographique

Soret (ou bande B) intense ( $\sim 10^5 \text{ L.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) située dans le proche UV (390-430nm) et les bandes Q de plus faible intensité situées dans le visible (480-700nm). Ces bandes d'absorption résultent de transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  (Gouterman, 1961).

### 1-4-2. Spectroscopie RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ :

Les porphyrines présentent un spectre RMN du proton caractéristique du fait de leur aromaticité. Tout comme le noyau benzénique, le noyau porphyrinique présente un courant de cycle généré par le champ magnétique appliqué. Ce courant induit un important cône d'anisotropie magnétique affectant l'ensemble des protons du cycle (Gouterman, 1961).



*Figure 05: Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine*

*(Gouterman, 1961).*

Dans le cas de la RMN du carbone, deux phénomènes sont à noter :

- L'élargissement de certains signaux liés aux échanges tautomériques NH.
- Des temps de relaxation relativement élevés (de l'ordre de la seconde) pour des carbones quaternaires. Ceci peut entraîner une difficulté pour observer ces signaux. Cette molécule est soluble dans de l'eau.

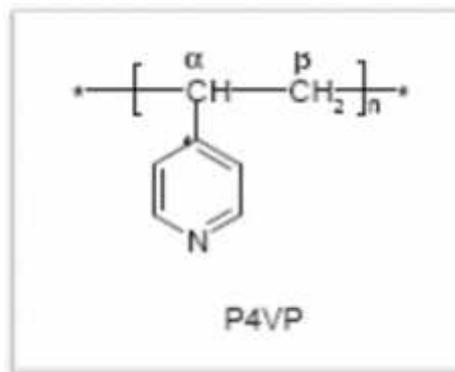
### III. Les poly (4-vinylpyridines) :

Le poly(4-vinylpyridine) est un polymère présentant de très grands intérêts de part le nombre important d'application auxquelles il a donné lieu. Il présente de très bonnes propriétés mécaniques. Du point de vue chimique, c'est un très bon polymère complexant avec un caractère basique lui permettant de présenter des propriétés variables en fonction de l'acidité du milieu. La P4VP est utilisée dans la rétention du cuivre et de chrome (Mansri et

## Etude bibliographique

---

*al.*, 2009), dans la fabrication des membranes (Jian *et al.*, 2011) et pour la préparation des microgels (Chen *et al.*, 2006). La 4-vinylpyridine a la possibilité de faire des coordinations avec les ions métalliques (Malynych *et al.*, 2005 ; Benabadji *et al.*, 2005).



**Figure06 : structure de la poly (4-vinylpyridine) dont  $n$  est le nombre de polymérisation (Benabadji *et al.*, 2005)**

### 1. Polymérisations des vinylpyridines

Les vinylpyridines peuvent subir deux types de polymérisations entre autre, la polymérisation radicalaire et la polymérisation anionique. En polymérisation radicalaire, la polymérisabilité du 4-vinylpyridine est similaire à celle du styrène. La polymérisation radicalaire des monomères vinyliques est une réaction en chaîne. Elle est amorcée par une espèce réactive  $R^*$  produite à partir d'un composé I appelé initiateur Cette espèce réactive est un radical libre pour la polymérisation radicalaire. Il se fixe sur une molécule de monomère au niveau de la liaison  $C = C$  pour former un nouveau radical. Ce processus se répète et permet l'addition successive de nombreuses molécules de monomères sur la chaîne radicalaire en croissance. Ceci constitue la phase de propagation. A un moment donné, la croissance de la chaîne se termine par disparition du centre réactif radicalaire (Choukchou Braham, 2007).

Les vinylpyridines (VP) se polymérisent aussi par voie anionique. Ils se polymérisent également par coordination. Si la position de l'atome d'azote dans le cycle des VP est sans influence sur la technique anionique, elle devient un facteur déterminant l'efficacité de la technique de coordination. En effet, la position de l'azote dans la 2VP favorise la polymérisation par coordination en présence des métaux tels que le magnésium, le béryllium et le lithium. La polymérisation du 4-vinylpyridine par cette technique est très difficile à cause de l'éloignement des atomes d'azote du groupe vinyle induisant une très faible coordination des métaux par le monomère 4VP (Tardi *et al.*, 1967).

### IV. La norme en 1040 :

Cette norme européenne spécifie une méthode d'essai et les prescriptions minimales relatives à l'activité bactéricide de base des produits antiseptiques et désinfectants chimiques qui forment une préparation homogène, physiquement stable, lorsqu'ils sont dilués dans l'eau. Les produits ne peuvent être soumis à l'essai qu'à la concentration de 80 % ou à des concentrations inférieures, car l'ajout des microorganismes d'essai et d'eau s'accompagne forcément d'une dilution. Cette Norme européenne s'applique aux substances actives (biocides antifongiques) et aux formulations en cours de développement destinées à être utilisées dans les domaines alimentaire, industriel, domestique et institutionnel, médical et vétérinaire. Elle sert également à l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et désinfectants chimiques lorsque des normes adéquates ne sont pas disponibles (AFNOR, 2015).

Les souches bactériennes utilisées dans ce test sont *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Pour être conforme à cette norme, le produit testé doit satisfaire les conditions suivantes :

- Réduction de  $10^5$  (5 logs) du nombre de bactéries initiales
- Température obligatoire : 20°C (températures additionnelles possibles)
- Temps de contact obligatoire : 5 mins (temps additionnels : 1, 15, 30 et 60 mins)

(Boutique de la santé, sécurité et hygiène, 2015).

### I. Objectif :

Cette étude porte sur l'évaluation de l'efficacité d'un désinfectant obtenu par synthèse chimique sur des bactéries potentiellement résistante aux antibiotiques. Le test de sensibilité à cette molécule est réalisé selon deux tests :

- Détermination de la CMI
- Test de l'activité du désinfectant selon la norme En 1040.

Quatre souches de références ont été choisies pour pouvoir tester le désinfectant nouvellement synthétisé. Ces souches sont caractérisées par leurs résistances à divers antibiotiques.

-*Escherichia coli* ATCC 25922.

-*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

-*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442.

-*Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

### II. Description et entretien des souches bactériennes :

#### 1- Mise en culture : revivification et purification

Les souches utilisées ont été conservé dans le glycérol-BHIB (50%) à (-4°C). ces dernières subissent une purification.

Au début, un repiquage sur un bouillon BHIB et incubation pendant 24 heures à 37°C pour la revivification des souches bactériennes. Ensuite, un ensemencement a été réalisé sur des milieux : gélose au cétrimide (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442), gélose Mac Conkey (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603), gélose Chapman (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538).

L'étape qui suit consiste à purifier les cultures de toutes contaminations (la boîte gélosé doit contenir un seul type de souche pure).

#### 2- Préparation de l'inoculum bactérien :

○ A partir d'une culture pure de bactérie en phase exponentielle, préparer des suspensions des quatre souches à étudier dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile, d'une densité équivalente à 0.5 MF ( $10^8$ CFU/ml).

## Matériel et méthodes

- Diluer la suspension d'opacité 0.5MF au 1/10<sup>ème</sup>.

### 3- Détermination de la densité bactérienne de l'inoculum :

**Tableau 06 : détermination de la densité bactérienne de l'inoculum**

La dilution	Le nombre UFC
<b>La solution mère</b>	Indénombrable
<b>10<sup>-1</sup></b>	Indénombrable
<b>10<sup>-2</sup></b>	Indénombrable
<b>10<sup>-3</sup></b>	Indénombrable
<b>10<sup>-4</sup></b>	279
<b>10<sup>-5</sup></b>	252
<b>10<sup>-6</sup></b>	4
<b>10<sup>-7</sup></b>	0

Calcule du rapport entre le nombre UFC et la dilution :

$$N = c / [(1 \times n1) + (0,1 \times n2)] d,$$

N = Nombre de colonies par g ou par ml du produit analysé

c = La somme des colonies comptées sur tous les plats choisis

n1 = Nombre de boites de la première dilution sélectionnée

n2 = Nombre de boites de la deuxième dilution sélectionnée

d = première dilution sélectionnée

$$\text{AN: } N = 256 / [(1 \times 252) + (0,1 \times 4)] 10^{-5}$$

$$N=101426 \text{ arrondi à } 101000$$

$$N= 101000 \text{ ufc/ml.}$$

### III. Les tests d'activité du désinfectant :

#### 1- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice(C.M.I) :

##### 1.1- Préparation de la solution désinfectante :

La molécule qui consiste est une poudre marron dont la solubilité se fait dans de l'eau à pH=5.5. Dont la couleur du désinfectant sous sa forme liquide est verte selon le protocole suivant :

- Peser  $256 \cdot 10^{-4}$  g du désinfectant déshydraté.
- Faire dissoudre le désinfectant dans 100ml d'eau distillé à pH=5.5

La concentration de la solution qui résulte est égale à 256µg/ml.

### **1.2- Inoculation des plaques :**

Dans les cupules des colonnes 1 à 12 de la microplaque à 96 puits, introduire à l'aide d'une micropipette 50µL de bouillon BHIB, ajouter ensuite 50µL de la solution du désinfectant à la concentration de 256µg/ml dans la cupule 1. Reporter de cupule en cupule de 1 à 12 à l'aide d'une micropipette 50µL du mélange ; des dilutions sont ainsi possibles et les concentrations finales obtenues vont être de 128 à 0,0625µg/ml, puis ajouter 50µL d'inoculum dans toutes les cupules de la microplaque. Après incubation à 37°C pendant 24h sous agitation (pour assurer l'aération) et sous la lumière (pour assurer l'activité de la porphyrine), la lecture de la CMI est fondée sur l'appréciation visuelle du dépôt de culture observé sur le fond de la cupule. Dans des conditions standardisées, elle est exprimée en mg/L ou µg/mL (Archambaud M, 2000). Le témoin négatif est de l'eau à ph acide (pH=5.5)

### **2- Application de la norme EN 1040 :2005 :**

#### **2.1 – Principe de la norme :**

Mettre en suspension la bactérie en contact avec le désinfectant à tester (le copolymère) pendant 5 min. Puis filtrer la suspension sur membrane millipores (0.45µm) pour but de stopper l'activité du désinfectant en question. Enfin c'est l'étape de l'incorporation sur gélose.

Le dénombrement des microorganismes survivant aura lieu après incubation pendant 24h à 37°C.

Dans notre expérimentation nous avons réalisé qu'un test sans avoir utilisé le désinfectant.

## Matériel et méthodes

---

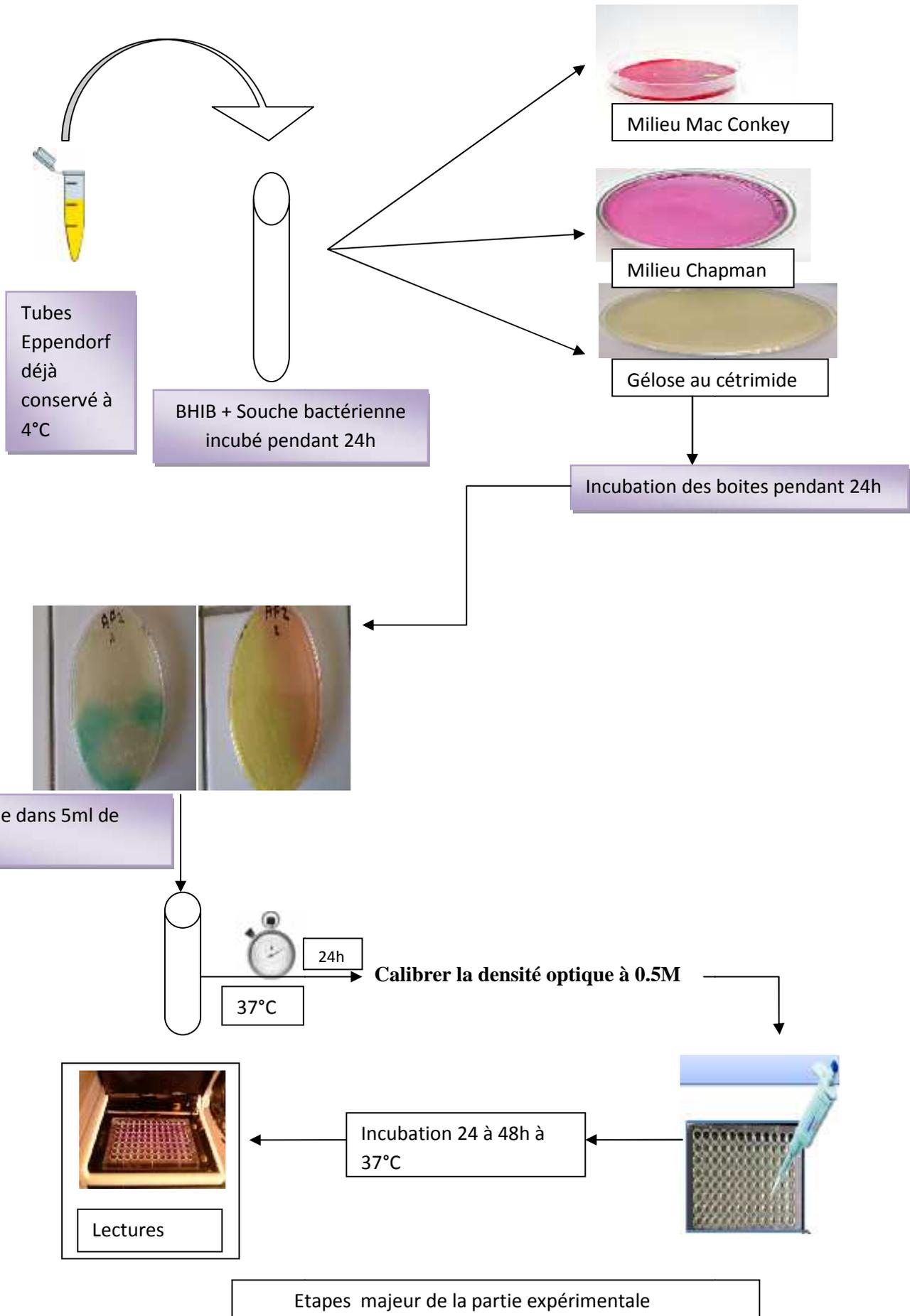


*Figure 07 : étape de la filtration.*



*Figure 08 : Incorporation sur gélose*

# Matériel et méthodes

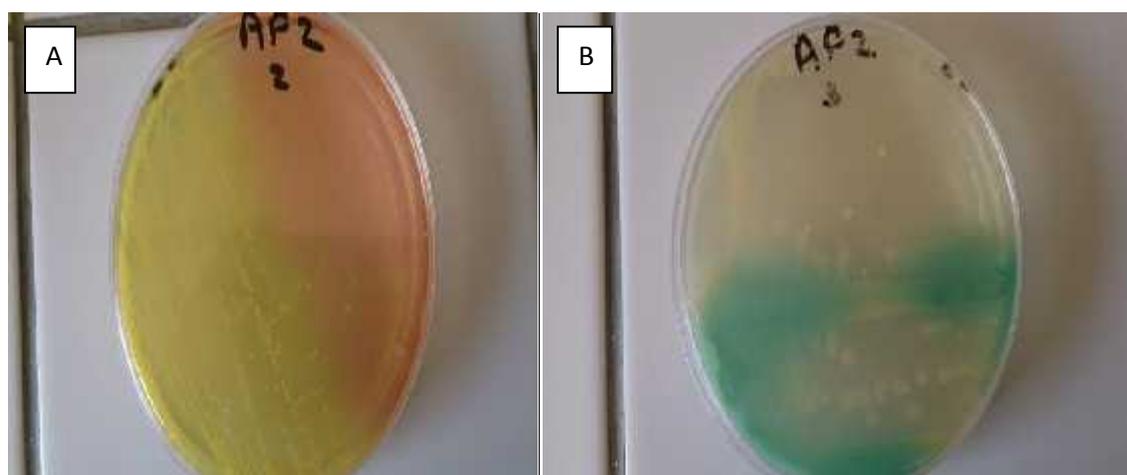


## Résultats et discussions

### Résultats et discussion :

Après purification les *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 apparaissent sur milieu chapman sous forme de colonies jaunâtre petite de taille avec un changement de couleur de milieu de culture à cause de la fermentation du mannitol c'est ce qui cause le virage de couleur du milieu

Les *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 s'est présenté sur la gélose au cétrimide pigmenté en vert dû à la pyocyanine et la pyoverdine.



**Figure 09: aspect des souches sur boîtes après revivification et purification**

**A :** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538      **B :** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Les souches ont été pures sur les milieux gélosés qui ont été prête à l'utilisation pour l'étape suivante.

#### 1- Résultat de la préparation de l'inoculum :

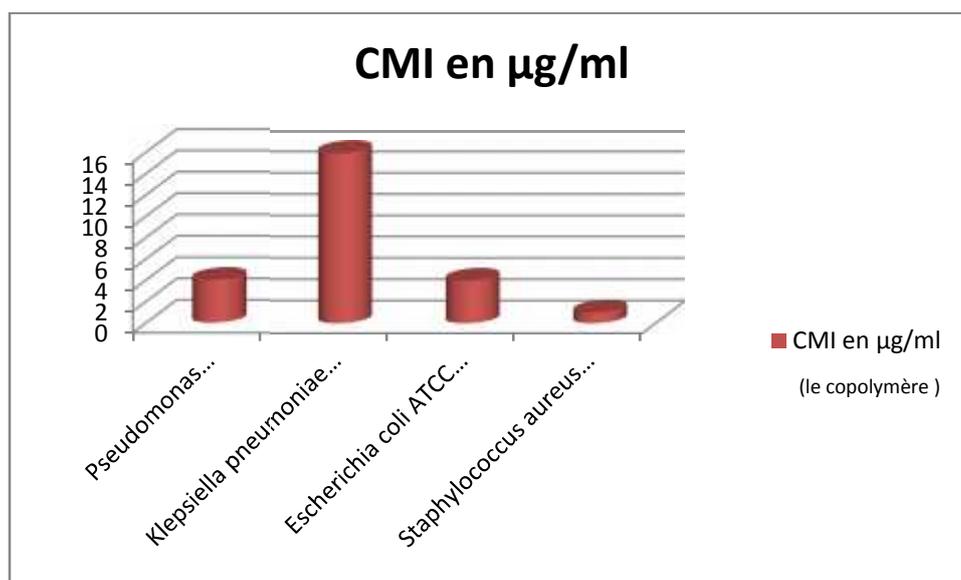
Chaque souche a été mise en suspension avec une concentration bien précise qui a été déterminé par une DO égale à 0.5 MF.

#### 2- Résultat de la CMI :

**Tableau 07 : détermination de la CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) des quatre souches de référence**

La souche bactérienne	CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	4
<i>Klepsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	16
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	1

## Résultats et discussions



**Figure 10 : présentation des résultats obtenus**

De nombreux rapports sur l'émergente résistance bactérienne aux biocides sont basées sur la détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI) car elle permet de déduire à quelle concentration le produit peut avoir une efficacité maximale.

Nos résultats montrent que le copolymère testé présente une excellente activité vis-à-vis trois souches dont les concentrations sont différentes dont une seule souche bactérienne (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) qui présente une CMI supérieure par rapport aux autres souches testés (atteint les 16µg/ml).

La CMI de ce copolymère obtenu après le test vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 (4 µg/ml) est la même qui a été obtenu par ALLION (2004) mais avec un autre désinfectant (APA).

Toujours en comparant nos résultats avec ALLION (2004) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 est plus sensible à ce désinfectant par rapport à l'APA (CMI<sub>APA</sub>= 8µg/ml).

Notre étude a montré que les souches choisis sont sensible au produit testé. En se basant à la comparaison avec les résultats obtenus par ALLION (2004), cet auteur a trouvé que les bactéries à Gram-négatif même à Gram-positif sont sensibles au désinfectant de nature acide même à faible concentrations. Chez toutes les bactéries l'enveloppe externe composée est la

## Résultats et discussions

---

cible principale par l'ozone produit par le copolymère, il oxyde les LPS des Gram-négatif et les protéines des Gram-positif.

L'efficacité de ce copolymère désigne l'activité excellente de son principe actif qui est l'ozone.

En comparant aussi nos résultats par les autres moyens de désinfection des eaux, Tamara Putois (2012) à prouver que le traitement par les ultraviolets n'est plus efficace que sur les eaux claires et ce procédé n'a pas d'action dans le temps. Par contre toutes les recherches réalisées sur le procédé de la chloration confirment qu'il possède un effet rémanent (effet de désinfection dans le temps) qui protège l'eau d'une nouvelle contamination lors du stockage et de distribution. Les sous-produits de la chloration sont dangereux et désagréable au goût.

Ce copolymère est testé pour la première fois, en le comparant avec les autres procédés de désinfection des eaux (chloration, UV), on déduit que ce traitement est plus efficace car il présente plusieurs propriétés (ozone produit par le copolymère) qui est puissant comme oxydant, sans résidu dans le milieu à désinfecté, Détruit les toxines présente dans l'eau, Oxygène l'eau, Renouvelle et purifie l'eau comme il améliore le goût, l'odeur et la transparence par élimination du fer et du manganèse.

## Conclusion

---

### **Conclusion :**

Dans ce travail nous avons mis en évidence la possible efficacité de l'eau et l'impact d'un copolymère de synthèse sur cette eau point de vue désinfection.

Notre travail a confirmé que *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 sont des souches sensible vis-à-vis le copolymère de synthèse qui est à base de la porphyrine d'origine végétale.

Suite à la différence des mécanismes de résistance, chaque souche possède un niveau de sensibilité bien précis c'est ce qui est confirmé par la détermination de la CMI. D'où la nécessité d'avoir proposé ce nouveau désinfectant à toute société qui se spécialise dans la désinfection des eaux qui a déjà sélectionné une contamination de l'eau par une de ces souches, comme il doit être tester sur d'autre souches qui constitue la flore contaminante des eaux et qui provoque surtout des maladies mortelles.

Les recherches actuelles sont visées pour un but d'immobiliser ce fameux copolymère pour pouvoir utiliser les propriétés d'immobilisation.

### تلخيص :

الماء هو الحياة، هو جزء أساسي من حياتنا وهذا هو سبب الحفاظ على كل مصادره، و محاولة القضاء على جميع أشكال التلوث التي يمكن أن تصل إليه. هناك العديد من الأسرة البكتيرية التي يمكن أن تستعمر المياه مثل بكتيريا القولون البرازية و بكتيريا القولون التي تسبب الأمراض القاتلة . هذا العمل هو لاختبار البوليمرات الجديدة كمطهر و العنصر النشط فيه هو . وهو يتألف من جزيئين ( البورفيرين و P (4-VP ) ) يتم اختبار هذا المنتج على أربع سلالات ATCC أنها فعالة المكورات العنقودية الذهبية ATCC 6538 تظهر حساسية كبيرة اتجاهه .

**مفتاحية:** تلوث المياه ، البوليمرات ، مطهر ، والسلالات .

### Résumé :

L'eau est la vie, c'est un élément primordial de notre vie c'est la raison de préserver toute sources d'eau, et essayer d'éliminer toute forme de contamination qui peut l'atteindre.

Il existe plusieurs famille bactérienne qui peuvent contaminer l'eau tel que les coliformes et surtout les coliformes fécaux dont E.Coli qui provoque des maladies mortelles.

Ce travail consiste à tester un nouveau copolymère comme désinfectant dont son principe actif est l'zone. Il est constitué de deux molécules (la porphyrine et la P (4-VP))

Ce produit est testé sur quatre souches ATCC, dont les résultats affirment qu'il est efficace mais avec des degrés différents ou *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 présente une sensibilité significative.

**Mots clés :** Eau, contamination, copolymère, désinfectant, souches.

### Abstract:

Water is life, it is an essential part of our lives that is the reason to preserve any sources of water, and try to eliminate all forms of contamination that can reach it.

There are several bacterial family that can contaminate water such as coliforms and faecal coliforms which especially E.coli that causes fatal diseases.

This work is to test a new copolymer as a disinfectant that its active ingredient is the area. It consists of two molecules (the porphyrin and the P (4- VP ) )

This product is tested on four strains ATCC, the results say it is effective but with different degrees or *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 shows a significant sensitivity.

**Keywords:** Water, contamination, copolymer, disinfectant, strains

## Références bibliographiques

---

- **AFNOR**, sur <http://www.boutique.afnor.org/norme/nf-en-1040/antiseptiques-et-desinfectants-chimiques-essai-quantitatif-de-suspension-pour-l-evaluation-de-l-activite-bactericide-de-base-d/article/727990/fa139438>, consulté le 08/11/2015 à 19 :00
- **Allion, A.** (2004). Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides: mise au point d'une technique rapide pour déterminer in situ l'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens (Doctoral dissertation, ENSIA (AgroParisTech)).
- **Archambaud. M.** (2000). Evaluation Methods of antibiotics activity. Brulures, Vol.1.ed. Carr. Méd.
- **Benabadji I, E. Choukchou-Braham, L. Tannouga, M. F. Guimon, J. Francois, A. Mansri**, Phys. Chem. News., 21: 30, 2005.
- **Bessiere Y., 2005.** Filtration frontale sur membrane: mise en évidence du volume filtre critique pour l'Anticipation et le contrôle du colmatage. Doctorat de l'université Paul Sabatier, France
- **BOUCHARD M.** (2008). Évolution temporelle et modélisation des coliformes dans une source d'eau potable. Mémoire (M. Sc). *Université de Laval*. Québec. 98p.
- **Bouras, B.** (2014). Nouveaux copolymère respoly (acrylamide-co-4-vinylpyridine)-propriétés et applications (doctoral dissertation).
- **Boutique de la santé, sécurité et hygiène** sur <http://www.prorisk.fr/norme-reglementation/nf-en-1040.html> consulté le 08/11/2015 à 17h
- **CAMPAGNA C., PHANEUF D., & LEVALLOIS P.** (2012). Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. *Ed. Institut national de santé publique*. Québec. 11 p.
- **CHAUSSE K., NORMANDIN L., GAUVIN D., & LEVALLOIS P.** (2003). Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. *Ed. Institut national de santé publique*. Québec. 14 p
- **Chen Q. D, S. Xinghai, H. C. Gao**, Colloids and surfaces A., physico. Chem. Eng Aspects., 275: 45, 2006.
- **Choukchou Braham E**, Thèse de Doctorat. Algérie, Tlemcen; 2007.
- **Cullen, P. J., Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., et Muthukumarappa, K.**,2009.Modellingapproaches to ozone processing of liquid foods. Trends Food SciTechnol 20:125–136.
- **Dillon, D. M., Combes, R. D., McConville, M., et Zeiger, E.**, 1992. Ozone is mutagenic in salmonella. Environ Mol Mutag 19:331–337.

## Références bibliographiques

---

- **Fetner, R.H., et Ingols, R. S.**, 1956. A comparison of the activity of ozone and chlorine against *E. coli* at 1°C. *Journal of General Microbiology*, 15, 381–385.
- **Foegeding, P. M.**, 1985. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of the spore coat to resistance. *Food Microbiology*, 2, 123–134.
- **Goodburn, C., & Wallace, C. A.** (2013). The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: a review. *Food Control*, 32(2), 418-427.
- **Gouterman, M.** (1961). Spectra of porphyrins. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 6, 138-163.
- **Gujer, W., et Von Gunten, U.**, 2003. A stochastic model of an ozonation reactor. *Water Res* 37:1667–1677.
- **Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K., et Seydim, A. C.**, 2004. Use of ozone in the food industry. *Lebensm-Wiss U-Technol* 37:453–460.
- **Hong, S. J., Lee, M. H., & Lee, C. H.** (2004). meso-Substituted dipyrromethanes from vinylogous aromatic heterocycles and their utilization to the synthesis of meso-functionalized porphyrins. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 25(10), 1545-1550.
- **Hinze, H., Prakash, D., et Holzer, H.**, 1987. Effect of ozone on atp, cytosolic enzymes and permeability of *Saccharomyces cerevisiae*. *Archives of Microbiology* 147, pp.105–108.
- **Ishizaki, K., Shinriki, N., et Matsuyama, H.**, 1986. Inactivation of *Bacillus* spores by gaseous ozone. *Journal of Applied Microbiology*, 60, 67–72.
- **Jian H. Q, W. Z. Yan, T. Z. Ya, Q. Z. Hao, D. L. Jin**, *Journal of Colloid and Interface Science.*, 354: 152, 2011.
- **Journal Officiel** de la République Algérienne Démocratique et populaire N°34, 19 juin 2011
- **journal officiel** de la République Algérienne Démocratique et populaire N°75, 20 décembre 2009.
- **Karaca, H., et Velioglu, Y. S.**, 2007. Ozone applications in fruit and vegetable processing. *Food Rev Int* 23:91–106.
- **Kim, J.G., Yousef, A.E., et Dave, S.**, 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *Journal of Food Protection* 62 9, pp. 1071–1087.
- **Kogelschatz, U.**, 1988. Advanced ozone generation. In: Stucki, S., Editor, 1988. *Process technologies for water treatment*, Plenum Publishers, New York, pp. 87–120.

## Références bibliographiques

---

- **Labas M. D., Rodolfo J. Brandi, Carlos A. Martin, Alberto E. Cassano**, “Kinetics of bacteria inactivation employing UV radiation under clear water conditions”. *Chemical Engineering Journal* 121, 2006, 135-145.
- **Mansri . A, K. I. Benabadji, J. Desbrières, J. François**, *Desalination.*, 245: 95, 2009.
- **Malynych. S, I. Luzinov, G. Chumanov, J.** *Phys Chem.*, 106: 1280, 2002.
- **MEHANNED S., ZAID A., & CHAHLAOUI A.** (2014). Caractérisation bactériologique du lac réservoir du barrage Sidi Chahed. *Larhyss Journal*.17 : 215-225.
- **Montiel, A.** (2004). Contrôle et préservation de la qualité microbiologique des eaux: traitements de désinfection. *Revue Française des Laboratoires*,2004(364), 51-53.
- **Mudd, J.B., Leavitt, R., Ongun, A., et Mcmanus, T.T.**, 1969. Reaction of ozone with amino acids and proteins. *Atmospheric Environment* 3, pp. 669–682.
- **Nakamura S., Ugawa M., Obana H.**, “Genotoxicity of chlorine-treated amino-acids”, *Environ. Toxicol. Water Qual.* 8, 1993, 163–171.
- **Oehlschlaeger, H. F.**, 1978. Reactions of ozone with organic compounds. In R.G.Rice, & J. A. Cotruvo(Eds.), *Ozone/chlorine dioxide oxidation products of organic material* (pp.20–37).Cleveland: Ozone Press International.
- **OLIVAUX Y.** (2007). *La nature de l’eau. Ed. Marco Pietteur.* France. 563 p.
- **OMS (W.H.O.): WORLD HEALTH ORGANISATION.** (2003). Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva. *World Health Organisation.*
- **Restaino, L., Frampton, E.W., Hemphill, J.B., et Palnikar, P.**, 1995. Efficacy of ozonated water againstvarious food-related microorganisms. *Applied and environmental microbiology*, 61(9), 3471–3475.
- **Rice, R.G., Robson, C.M., Miller, G.W.,et Hill, A. G.**, 1981. Uses of ozone in drinking water treatment. *Journal of the American Water Works Association*, 73(1), 44–57.
- **Rodier J., Legube B., Merlet N., Brunet R., Mialocq J C., Leroy P., Houssin M., Lavison G., Bechemin C., Vincent M., Rebouillon P., Moulin L., Chomodé P.,Dujardin P.,Gosselin S., Seux R., Almardini F.** (2009). *L’analyse de l’eau. 9ème Ed. Dunod.* France. 1511 p.
- **Rompere, A., Laurent, P. et Servais, P., Baudart, J., de-Roubin, M.-R. and Laurent, P.** 2002. Détection and enumeration of coliforms in drinking water : current methods and emerging approaches. *Journal of microbiological Methods*, 49.

## Références bibliographiques

---

- **Sanders J. K. M., N. Bampos, Z. Clyde-Watson, S. L. Darling, J. C. Hawley, H.-J. Kim, C. C. Mak and S. J. Webb**, in *The Porphyrin Handbook*, eds. K. M. Kadish, K. M. Smith and R. Guilard, Academic Press, 2000, pp. 1-48.
- **SAVARY P.** (2010). Guide des analyses de la qualité de l'eau. *Ed. Territorial Voiron*. 261 p.
- **Scheidt W. R.**, in *The Porphyrin Handbook*, eds. **K. M. Kadish, K. M. Smith and R. Guilard**, Academic Press, 2000, pp. 53-56.
- **Smith K. M.**, in *Porphyryns and Metalloporphyryns*, ed. **K. M. Smith**, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1975, pp. 3-28.
- **SPELLMAN. , & FRANK R.** (2008). *The Science of water: concepts and applications. 2<sup>nd</sup> Ed. CRC Press Taylor & Francis Group. USA. 417 p.*
- **Tamara Putois.** Etude du traitement de désinfection des eaux de refroidissement par le couplage H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV : Application `a une tour aéroréfrigérante. Other. Université de Grenoble, 2012.
- **Takamoto, Y., Maeba, H., et Kamimura, M.,** 1992. Changes in survival rateenzyme activities and in E. coli with ozone. *Applied Microbiology and Biotechnology* 37, pp. 393–395.
- **Takeuchi, K.,** 2005. National Institute for Resources and Environment, Tsukuba, Ibraki, Japan & Elsevier Ltd. All Rights Reserved. This article is reproduced from the previous edition, pp. 3689–3697, & 1995, Elsevier Ltd.
- **Tardi M, D. Rouge, P.Sigwalt,** *Eur. Polym. J.*, 3: 85, 1967.
- **THIELBORGER P.** (2014). *The right(s) to water. Ed. Springer-Verlag. Berlin. 231p.*
- **Trancart. J.L** (1997) Teneur en nitrates des eaux destinées à la consommation humaine en 1985-1986-1987. Paris, Minist. Snté. 150 P (G 10625).
- **USEPA.** “Design Manual: Municipal Wastewater Disinfection”, Cincinnati, Ohio, 1986.
- **Zeynep, B., Guzel-Seydim., Annel, K., Greene., Seydim, A.C.,** 2003. Use of ozone in the food industry a department of food engineering, Suleyman Demirel University,32260, Cunur, Isparta 32260, Turkey .Department of animal and veterinary sciences.University, Clemson,USA.

## Annexes

---

### Annexe 1 :



*Figures 11 : la microplaque de titration après incubation*

## Annexe 2

### Préparation de milieu de culture :

#### Gélose Mac Conckey :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine .....17,0 g
- Tryptone.....1,5 g
- Peptone pepsique de viande .....1,5 g
- Lactose .....10,0 g
- Sels biliaires.....1,5 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Rouge neutre .....30,0 mg
- Cristal violet .....1,0 mg
- Agar agar bactériologique.....13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,1 \pm 0,2$ .

#### Gélose Chapman :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....5,0 g
- Peptone pepsique de viande .....5,0 g
- Extrait de viande .....1,0 g
- Mannitol .....10,0 g
- Chlorure de sodium .....75,0 g
- Rouge de phénol .....25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,4 \pm 0,2$ .

#### Gélose au cetrimide :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine..... 16,0 g

## Annexes

---

- Tryptone .....	10,0 g
- Sulfate de potassium.....	10,0 g
- Chlorure de magnésium .....	1,4 g
- Agar agar bactériologique .....	12,0 g
- Cétrimide .....	10,0 mg
- Fucidine.....	10,0 mg
- Céphalosporine .....	50,0 mg

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

### **BHIB:**

Peptone de gélatine.....	10.00 mg
Chlorure de sodium.....	5.00 mg
Infusion de coeur de bœuf.....	10.00 mg
Phosphate disodique .....	2.50 mg
Infusion de cerveau de veau .....	7.50 mg
Dextrose.....	2.00 mg

Le pH final  $7,4 \pm 0,2$  à 25 ° C

# **Résultats et discussions**

# Conclusion

# **Références bibliographiques**

# **Annexes**