

## **Rôle de la désinfection par rayonnement solaire ou par chloration dans l'amélioration de la qualité bactériologique des eaux de puits de la région de Marrakech**

**Hafsa LAMRANI ALAOUI<sup>1,2</sup> ; Khalid OUFDOU<sup>\*1</sup> ; et Nour-eddine MEZRIOUI<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Equipe de Microbiologie et toxicologie Environnementales, <sup>2</sup> Equipe d'Ecologie et de Biotechnologie Microbiennes, Laboratoire de Biologie et Biotechnologie des Microorganismes, Faculté des sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, B.P. 2390, Marrakech 40 000 Maroc

Tel : 212 24 43 46 49 Poste 517 Fax : 212 24 43 74 12

E-mail : oufdou@ucam.ac.ma

\*Auteur de correspondance :

Prof : Khalid OUFDOU

Université Cadi Ayyad

Faculté des sciences semlalia

Laboratoire de biologie et biotechnologie des microorganismes

Equipe de microbiologie et Toxicologie Environnementales

BP 2390, Marrakech 40 000 Maroc

Remerciements:

Nous remercions l'O.N.E.P. de Marrakech pour l'aide qui nous a été apportée lors du dosage du chlore de l'eau du puits 2.

## **Résumé**

Dans la région de Marrakech, où la pluviométrie moyenne est d'environ 200 mm/an, les eaux souterraines sont très sollicitées. Les eaux de puits constituent la ressource la plus importante en eau et la plus accessible pour les populations périurbaines de la région de Marrakech. Cependant, ces eaux de nappe peu profondes (5 à 20 m), sont soumises à des pollutions d'origines diverses en raison des épandages des ordures ménagères, des eaux usées sur le sol et des carences d'hygiène ainsi que du manque ou des altérations au niveau du réseau d'assainissement.

La caractérisation bactériologique des eaux de puits, réalisée par la recherche des coliformes fécaux (indicateurs de contamination fécale) et également de *Vibrio cholerae* non-O1 (bactérie pathogène opportuniste), a montré des niveaux de contamination variable d'un puits à l'autre. Les abondances bactériennes dépassent souvent les normes de potabilité des eaux destinées aux divers usages domestiques (boisson, cuisson, abreuvement de bétail, lessive, ...).

Afin de limiter les risques liés à la consommation et à l'usage de ces eaux de puits, il nous a paru utile de présenter des solutions convenables de désinfection. Ainsi, nous avons étudié et comparé l'efficacité et la faisabilité de la désinfection par exposition des récipients en plastiques et en verres au rayonnement solaire (désinfection physique) et la désinfection par chloration (désinfection chimique). Nos résultats permettent de fournir des méthodes simples et pratiques afin d'améliorer la qualité de l'eau des puits, tout en tenant compte du contexte socio-économique de la région et des conditions climatiques locales.

**Mots clés** : eau souterraine, désinfection, *Vibrio cholerae* non-O1, rayonnement solaire, chloration, bactéries.

## **Abstract**

In Marrakesh city (31°36' North, 08°02' West, 471 m of altitude, Morocco), groundwater constitutes the main sources of drinking water supply for a large part of suburban populations. This region is under arid Mediterranean climate with a rainfall average of 200 mm per year. Suburban communities depend only on untreated well water as a source of human and animal drinking and other domestic activities. They don't have the necessary equipment to deal with the evacuation of wastewater and domestic waste collection is irregular or absent. Thus, faced with the inadequacy or non-existence of efficient sanitation network, the populations throw out waste material directly into the environment, at risk of damaging the underground water quality. Bacterial abundances of fecal coliforms and non-O1 *Vibrio cholerae* showed that the well waters are unsuitable for drinking water and other domestic uses by local populations.

Therefore, easily used individually methods for disinfecting the well water in these areas are required. We studied and compared the effectiveness and feasibility of disinfection by exposure plastic and glasses containers to full sunlight and disinfection by chlorine. Our results can provide simple and practical methods for improving the quality of well water, with regards to the local climate and the socio-economic context of the region.

**Key words** : groundwater, disinfection, non-O1 *Vibrio cholerae*, solar radiation, chlorination, bacteria.

## **1- INTRODUCTION**

La contamination de l'eau potable constitue une véritable menace pour la santé publique dans le monde entier. Ce problème est particulièrement important dans les pays en voie de développement et dans les zones arides où les sources en eau sont rares.

Généralement, les eaux de puits sont employées pour des activités multiples dans la région de Marrakech. Mais ces eaux, qui peuvent être contaminées avec des germes pathogènes sont également utilisées directement comme "eau potable". En effet, les populations rurales et périurbaines de Marrakech ne disposent pas toujours d'une source en eau potable parce qu'il y a un manque d'infrastructure de distribution de l'eau et on note l'absence du réseau d'assainissement ainsi que des mauvaises conditions d'hygiène.

La mauvaise qualité de ces eaux et le manque de traitements adéquats, ont comme conséquence 900 millions cas de diarrhées tous les ans dans le monde (Rijal et Fujioka, 2001). Les enfants sont en particulier les plus affectés. En effet, Burch et Thomas (1998) ont estimé que le nombre d'enfants qui meurent chaque année en raison des maladies diarrhéiques s'étend de 2,5 millions à 15 millions. Dans la région de Marrakech, la mauvaise qualité microbiologique des eaux est responsable de l'apparition et la propagation de certaines maladies hydriques (Bouhoum et al. 1997 ; Ait Melloul et Hassani 1999). Pour caractériser les eaux souterraines de la région avale de Marrakech, l'un de nos objectifs consiste, d'abord, à vérifier la contamination des eaux de puits situés dans cette région, en cherchant les indicateurs de contamination fécale; les coliformes fécaux (CF). Egalement, nous avons recherché et isolé *Vibrio cholerae* non-O1 dans les eaux des puits étudiés vu le manque d'études traitant ce germe bactérien. La désinfection de ces eaux par des méthodes techniques facilement utilisées pour traiter individuellement l'eau, est nécessaire. Les alternatives de traitement de l'eau qui ont été proposée sont le traitement par le chlore (Rincon Benavides 2005) et la désinfection solaire qui est recommandée dans les pays dotés d'un climat chaud et ensoleillé (Acra et al. 1990 ; IDRC 1998 ; Rojko 2003).

Bien qu'il soit démontré que la désinfection solaire est une technique efficace pour éliminer certaines bactéries, son efficacité reste une fonction de la climatologie et du

type de bactérie qui se trouve dans l'eau à traiter (Caslake et al. 2004). Dans la plupart des cas, les méthodes de désinfection solaire ont été évaluées avec des indicateurs de contamination fécale. Cependant, peu de recherches ont été signalées sur la sensibilité de bactéries pathogènes opportunistes, telles que *V. cholerae* non-O1, à la désinfection solaire sous un climat semi-aride comme celui de Marrakech (Mezrioui et al. 1995 ; Benchekroun et al. 2003).

La présente étude s'est fixée comme objectifs :

- l'évaluation de la qualité bactériologique et physico-chimique des eaux souterraines de la zone avale de la région Marrakech
- et l'étude de l'efficacité et la faisabilité de désinfection des eaux de puits par le rayonnement solaire et par chloration dans la décontamination de ces eaux.

## 2- MATERIELS ET METHODES

### 2-1. Localisation et description des puits étudiés :

Les dix puits sont choisis dans différentes localités de la région avale de Marrakech (figure 1) :

⇒ Le puits 1: c'est un puits collectif creusé au SW de la décharge publique située à 15 Km au NNW de la ville. La décharge est située dans une cuvette naturelle inclinée de pente générale NE/SW de 2,5% en moyenne (Hakkou et al. 2001). Ce puits est utilisé pour alimenter deux familles habitant aux alentours de la décharge, les ouvriers travaillant dans la décharge, les enfants sans domicile fixe et pour abreuver les animaux;

⇒ Le puits 2 : c'est un puits collectif implanté au niveau de la zone des ferrailleurs. Ce puits non protégé et non équipé de système de pompage est utilisé pour la boisson et à des fins domestiques des riverains;

⇒ Les puits 3 et 4: ce sont des puits collectifs qui se trouvent au sein de

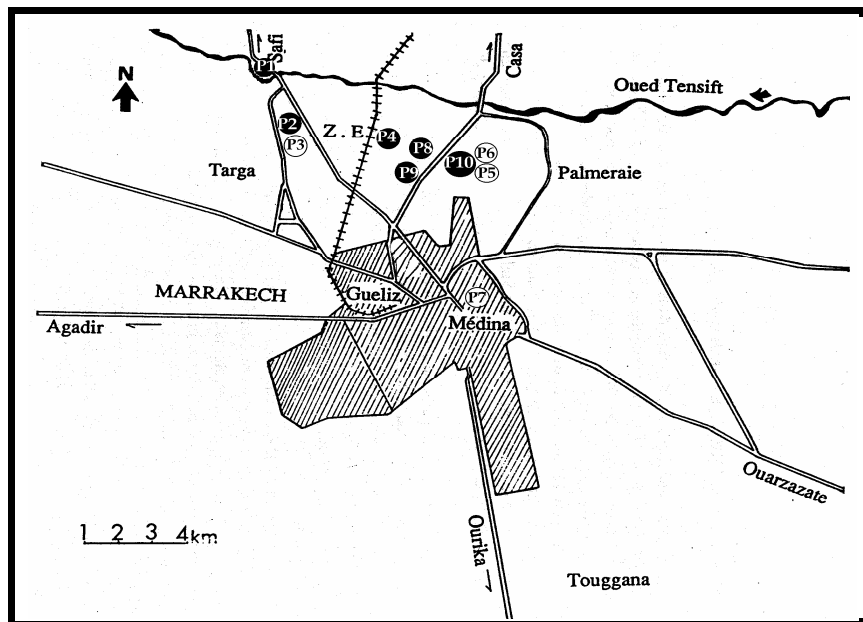
l'ancienne usine de traitement des ordures ménagères. Ces deux puits sont utilisés pour la boisson et des fins domestiques de plusieurs ouvriers ainsi que pour l'irrigation;

⇒ Les puits 5, 6 et 10: ce sont des puits individuels qui sont creusés au niveau de certaines villas situées au lotissement Ibn Khaldoun. Ces puits sont utilisés pour l'arrosage des jardins et des utilisations diverses;

⇒ Le puits 7: c'est un puits collectif implanté dans le quartier des tanneurs, utilisé pour des fins industriels et souvent comme eau de boisson malgré l'existence d'un branchement d'eau potable (causes socio-économiques);

⇒ Le puits 8: c'est un puits collectif creusé au sein d'une mosquée à Douar Sraghna. Il est utilisé généralement pour des usage domestiques ;

⇒ Le puits 9: c'est un puits collectif implanté dans une maison du coran à Douar Sraghna et utilisé pour des fins domestiques;



**Figure 1 : Localisation des puits objets d'étude**

Z.E : zone d'épandage des eaux usées de la ville de Marrakech

P : Puits

Les caractéristiques morphométriques et l'environnement des puits étudiés sont

résumés dans le Tableau I.

## **2-2. Données géologiques et hydrologiques générales :**

Les puits étudiés sont retenus dans ce travail en raison :

- ✦ de leur degré de contamination par les bactéries fécales. Ainsi, dans le cas d'une eau "très chargée" en CF, il nous a paru indispensable de rechercher *V. cholerae* non-O1 germe plus résistant ;
- ✦ de leurs emplacements qui devraient apprécier l'impact des pollutions éventuelles provenant de l'épandage des eaux usées et des déchets solides ;
- ✦ et aussi de leur importance relative pour les populations utilisatrices. Un puits est d'autant plus important que le volume d'eau puisée est élevé et/ou que l'eau puisée est prioritairement destinée à l'alimentation humaine et des usages domestiques.

### **Tableau I : Caractéristiques morphométriques et environnement des puits étudiés**

S	D (m)	Pr (m)	N.P. (m)	Parois	Protection	Source de pollution	Dis. Sr. P (m)	Type d'usage
P <sub>1</sub>	1,40	6,30	5,20	N.C	Sans	Epanchage des ordures et une séguia d'eaux usées	Respectivement 0,20 à 20m	Boisson + baignade + usage domestique
P <sub>2</sub>	1,80	8,30	6	N.C	Sans	Hydrocarbures + eaux usées	15 < d < 200	Boisson + usage domestique
P <sub>3</sub>	1,90	8,30	8	N.C	Sans	Hydrocarbures + eaux usées	200	Boisson + usage domestique
P <sub>4</sub>	2	11,65	4,20	N.C	Satisfaisante	Eaux usées	20	Boisson + irrigation
P <sub>5</sub>	1,40	16,75	15	C	Bonne	Eaux usées	2800	Irrigation du jardin
P <sub>6</sub>	1,40	16,80	14,20	C	Bonne	Eaux usées	2750	Irrigation du jardin
P <sub>8</sub>	1,20	6,70	3,20	N.C	Bonne	Eaux usées	500	Boisson + baignade
P <sub>9</sub>	0,90	6	3	N.C	Satisfaisante	Eaux usées	700	Usage domestique + baignade
P <sub>10</sub>	1,40	17	15	N.C	Satisfaisante	Eaux usées	3000	Irrigation du jardin

S : Station ; D : Diamètre ; Pr : Profondeur ; N. P : Niveau Piézométrique ; N.C. Non Cimentées ; C : Cimentées ; Dis. Sr. P : Distance de la source de pollution

d : distance

Ainsi, notre étude a concerné dix puits situés dans deux régions différentes de point de vue géologique et hydrologique bien que relativement proches :

- ✓ la région du Tensift de Marrakech (P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub>, P<sub>8</sub>, P<sub>9</sub>, P<sub>10</sub>);

✓ et le petit massif de Jbilet qui se trouve immédiatement au Nord de la ville de Marrakech (P<sub>1</sub>).

Dans la région de Tensift, on a une dominance de formations calcaires superficielles (El Omari, 1975) et des dépôts alluviaux très perméables (Boutin et Dias, 1987 ; Boutin, 1993).

Les formations géologiques dans la région de Jbilet sont dominées par les schistes. Elles sont affectées par de très fortes fracturations produisant une continuité hydraulique entre elles (Boulanouar et al. 1995 ; Hakkou et al. 2001).

Dans les deux régions, la nappe de l'eau contenue dans ces formations perméables est peu profonde (3 à 16m) (Boutin et Dias 1987 ; Lyakhloufi et al. 1999 ; Hakkou et al. 2001).

### **2-3. Echantillonnage des eaux de puits**

Chaque fois que l'on dispose d'un moyen de pompage, il est préférable de prélever l'eau à un robinet placé le plus près possible du puits. On procède tout en ouvrant le robinet et le laissant couler 3 à 5 minutes avant de faire le prélèvement dans des flacons stériles. C'était le cas du puits 8.

Pour les autres puits où il n'était pas possible de prélever l'eau par pompage, nous l'avons fait à l'aide d'un seau lesté. Le prélèvement dans ce cas est effectué à environ 50 cm en dessous de la surface de l'eau.

L'eau prélevée dans des flacons stériles est immédiatement conservée dans la glace puis transportée au laboratoire. Son analyse au laboratoire est effectuée au plus tard 4 heures après le prélèvement.

### **2-4. Analyses physico-chimiques**

Une variété des paramètres physico-chimiques a été déterminée sur le terrain.

Nous avons effectué au niveau de chaque station une mesure instantanée de l'eau à l'aide du conductimètre portable type WTW. LF 318 muni d'un système de compensation automatique de la température. Le pH a été mesuré en utilisant un pH mètre portable de type WTW pH-330/SET-1. Les étapes de mesure sont pareilles à celles de la conductivité. L'oxygène dissous a été mesuré sur le terrain en utilisant un oxymètre portable de type WTW OXI 96 (A.F.N.O.R. 1998).

## **2-5. Analyses bactériologiques**

### **2-5-1. Recherche et isolement de *Vibrio cholerae* non-O1**

La méthodologie d'isolement de *V. cholerae* à partir de l'échantillon de l'eau, a été effectuée selon la méthode du M.P.N.; Most probable number (NPP : Nombre le Plus Probable). Celle-ci comprend trois étapes :

- ➔ Etape d'enrichissement en eau peptonée alcaline (pH=8,6) pendant 18 heures d'incubation à 37°C.
- ➔ Etape d'ensemencement sur le milieu sélectif TCBS avec une incubation de 24 heures à 37°C.
- ➔ Etape d'identification des colonies présumées être des vibrions cholériques.

Le protocole d'isolement de *V. cholerae* non-O1 adopté est celui décrit par Lesne et al. (1991) et Mezrioui et Oufdou (1996).

Avec un volume de 1 ml de chaque échantillon prélevé et ses dilutions appropriées, faites en eau physiologique stérile, nous avons ensemencé trois tubes contenant 10 ml de l'eau peptonée alcaline. Après une période d'incubation de 18 heures à 37°C, sans agiter le tube d'enrichissement, on prélève 1 ml à la surface du tube car les vibrions ont tendance à se développer dans la partie supérieure du milieu. Un volume de 0,1 ml des dilutions convenables des tubes d'enrichissement est étalé sur le milieu sélectif

d'isolement TCBS qui est incubé à 37°C pendant 24 heures. Il faut noter aussi que le milieu TCBS n'est pas sélectif à 100%. Des souches bactériennes autre que *V. cholerae* peuvent y pousser. Ce qui prouve l'intérêt de l'étape d'identification.

Les colonies jaunes présumées sur le milieu TCBS, sont purifiées sur gélose nutritive. Ces colonies subissent les tests d'identification suivants :

➤ Le développement sur gélose nutritive sans NaCl à 40°C permet de différencier entre *V. cholerae* et les autres espèces du genre *Vibrio*. *V. cholerae* est la seule espèce du genre *Vibrio* à pouvoir se développer en absence de NaCl (Lipp et al. 2002).

➤ La recherche de la cytochrome oxydase permet d'éliminer les Entérobactéries qui ne la possèdent pas (Mezrioui et Oufdou 1996 ; Lipp et al. 2002).

➤ Le test de Hugh et Leifson permet de distinguer les espèces du genre *Pseudomonas* de celles du genre *Vibrio*. Le genre *Pseudomonas* présente un métabolisme oxydatif vis-à-vis du glucose, alors que le genre *Vibrio* présente un métabolisme fermentatif (Mezrioui et Oufdou 1996 ; Lipp et al. 2002).

➤ La sensibilité au composé vibriostatique O/129 permet d'écartier les *Aeromonas* qui sont résistants à cet antibiotique (Mezrioui et Oufdou 1996 ; Lipp et al., 2002).

### **2-5-2. Dénombrement des coliformes fécaux**

Pour dénombrer les coliformes fécaux (CF), nous avons utilisé comme milieu de culture la gélose lactosée au Tergitol et au TTC (2, 3, 5- chlorure Triphenyl-tetrazolium). Après homogénéisation de l'eau à analyser, nous avons procédé par la technique de filtration d'un volume de 100 ml sur membrane filtrante de porosité 0,45 µm. Les différentes boites sont ensuite incubées à 44,5°C pendant 24 heures. Nous

avons procédé au dénombrement des colonies jaunes et oranges considérées comme étant typique des CF.

## 2-6. Désinfection par rayonnement solaire

Différentes bouteilles transparentes en plastiques et en verres (pyrex) sont remplies stérilement par 270 ml de l'eau du puits 2.

Pour pouvoir suivre l'évolution des abondances de *V. cholerae* non-O1 et bien estimer son comportement vis-à-vis du facteur rayonnement solaire, nous avons été amenés à ensemercer le milieu réactionnel naturel "eau de puits" avec un inoculum ( $3,6 \times 10^6$  MPN/ml) largement supérieur aux abondances de *V. cholerae* non-O1 initialement existantes ( $2,5 \cdot 10^4$  MPN / ml) dans l'eau de puits 2. La réalisation de cette expérience sur une eau de puits filtrée entraînera une élimination de plusieurs composantes microbiennes (bactéries autochtones, faune, ...). Nous ne serons pas proches des conditions existantes *in situ*.

La souche de *V. cholerae* non-O1 isolée à partir de l'eau de puits 2 a été cultivée sur gélose nutritive pendant une nuit à 37°C. Les cellules bactériennes en phase exponentielle sont mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile et constituent alors l'inoculum ( $3,6 \times 10^6$  MPN/ml) à partir duquel sont ensemençés les différents microcosmes utilisés.

Les bouteilles sont déposées verticalement ou placées horizontalement sur une surface plane noire. Certains de ces microcosmes sont exposés directement au rayonnement solaire alors que d'autres en sont protégés par du papier aluminium (échantillons témoins) pendant environ 5 heures. Nous avons aussi maintenu la bouteille à l'obscurité et à la température ambiante (TA) durant toute la durée de l'expérience pour suivre la survie et la croissance de *V. cholerae* non-O1 en absence de rayonnement solaire et de température élevée.

Nous avons débuté les expériences de désinfection solaire à 10h30min du matin. Au bout de chaque heure et demi, nous avons suivi les abondances de *V. cholerae*, ainsi que les variations des caractéristiques physico-chimiques (T°, pH, O<sub>2</sub> dissous) et de l'intensité du rayonnement solaire. La quantité de radiations solaires reçues est mesurée à l'aide d'un pyranomètre.

### **2-7. Désinfection par chloration**

Pour que la désinfection des eaux d'alimentation (puits 2) par le chlore ou ses dérivés soit appliquée correctement, il faut que la quantité de chlore actif ajoutée à l'eau à traiter soit calculée. En effet, une forte dose de chlore laisserait à l'eau traitée une saveur désagréable, tandis qu'une dose trop faible n'assurerait pas une désinfection complète.

La dose de chlore nécessaire est déterminée par la méthode dite : Break-point. Cette partie a été effectuée au niveau du laboratoire de la station de traitement d'eau potable de l'O.N.E.P. (Marrakech).

Les différentes formes du chlore sont :

➤ **Chlore résiduel libre** : suivant le pH, le chlore est sous forme d'acide hypochloreux ou d'hypochlorite ou les deux à la fois. Le chlore résiduel peut être sous forme de dioxyde de chlore (ClO<sub>2</sub>) quand ce dernier est utilisé pour la désinfection ;

➤ **Chlore résiduel total** : somme du chlore résiduel libre et du chlore résiduel sous forme de chloramines ;

➤ **Chlore résiduel combiné** : différence entre chlore résiduel total et chlore résiduel libre, correspondant au chlore sous forme de chloramines ;

➤ **Chlore absorbé** : chlore ayant réagi avec des composés minéraux ou organiques et ayant perdu tout pouvoir désinfectant.

Lorsqu'on ajoute des doses croissantes de chlore à une eau, la détermination du chlore résiduel au bout du temps révolue montre que ce taux croit en fonction de la dose ajoutée, passe par un point d'inflexion, décroît pour atteindre un minimum appelé « break-point », avant d'augmenter à nouveau régulièrement.

Le "break-point" correspond à la dose du chlore minimum de la courbe pour laquelle il ne subsiste plus de composés d'addition chlorés dans l'eau.

La demande en chlore permet ainsi de préciser la quantité de chlore nécessaire à la préchloration et à la stérilisation de l'eau.

Avant de procéder à la détermination de la demande en chlore nécessaire pour traiter l'eau de puits, il faut tout d'abord déterminer le titre de la solution chlorée utilisée puis on suit les étapes ci-dessous :

### **2-7-1. Titrage de l'eau de javel :**

La détermination du degré chlorimétrique de la solution chlorée a été faite en milieu acide. Dans ce milieu, les hypochlorites sont décomposés avec dégagement de chlore qui oxyde les iodures.

→ Nous introduisons successivement dans un erlenmeyer 1 ml d'eau de javel, on ajoute 10 ml de solution d'iodure de potassium KI (10%) et 10 ml d'acide acétique  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$  (9N) ;

→ Nous titrons l'iode par le thiosulfate  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (N/10) jusqu'à décoloration.

Le titre de chlore dans la solution chlorée en (g/l) est donné par l'expression :

$$\text{Titre de chlore} = T_b \times 3,55 / V$$

où :

$T_b$  : tombée de burette = 15 ml ;

V : volume d'eau de javel à titrer = 1 ml ;

Donc le titre de chlore de l'eau de javel que nous avons utilisée est :

$$\text{Titre de chlore} = 15 \times 3,55 = 53,25 \text{ g/l}$$

### 2-7-2. Préparation de la solution étalon d'eau de javel :

Nous diluons la solution de l'eau de javel pour préparer une solution S<sub>1</sub> de 200 ml de concentration 0,1 g/l.

Donc le volume d'eau de javel qu'il faut prendre :

$$C \times V = C' \times V'$$

$$V = 0,1 \times 200 / 53,25 = 0,37 \text{ ml}$$

Nous introduisons ce volume dans 200 ml d'eau distillée. Donc la concentration en chlore de notre solution étalon est 0,1 mg / ml.

### 2-7-3. Injection de la solution :

Nous avons préparé une série de 10 flacons de 250 ml puis nous avons ajouté des doses croissantes de la solution S<sub>1</sub> en raison de 0,25 ml (Tableau II).

Nous avons abandonné les flacons à l'obscurité après les avoir bouchés et agités. Au bout de 30 min exactement, nous dosons le chlore résiduel par introduction des réactifs colorimétriques habituels (EDTA ou Orthotolidine), puis nous faisons la lecture à l'aide d'un comparateur.

**Tableau II : Dosage du chlore résiduel dans l'eau de puits 2.**

N° de flacons	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration en Cl <sub>2</sub> actif (mg/l)	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5	1,75	2	2,25	2,5
Concentration en Cl <sub>2</sub> résiduel (mg/ml)	0	0	0,2	0,5	0,4	0,6	0,8	1	1,5	2

Par la suite, nous avons suivi l'évolution des abondances de la souche de V.

*cholerae* non-O1 pendant 5 heures après ajout de chlore.

### **2-8. Analyses statistiques :**

La comparaison des abondances bactériennes, en fonction du temps, dans les microcosmes exposés et non exposés au rayonnement solaire, a été réalisée par le test non paramétrique de Wilcoxon (Wilcoxon signed rank).

## **3. RESULTATS ET DISCUSSION**

### **3-1. Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux puits étudiés :**

La minéralisation totale des eaux des puits étudiés est exprimée par leur conductivité électrique (figure 2). Elle présente des valeurs moyennes comprises entre 1640 et 6540 $\mu$ S/cm. Nous remarquons que celles-ci dépassent souvent la limite de 1500  $\mu$ S/cm (A.F.N.O.R., 1998). La composition chimique totale de l'eau, exprimée en conductivité électrique, est très variable d'une station à l'autre et change également dans un même puits en fonction du temps. Les valeurs moyennes sont rassemblées dans la figure 2.

Cette importante minéralisation (>à la norme 1500  $\mu$ S) est liée aux fortes concentrations des éléments majeurs ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ).

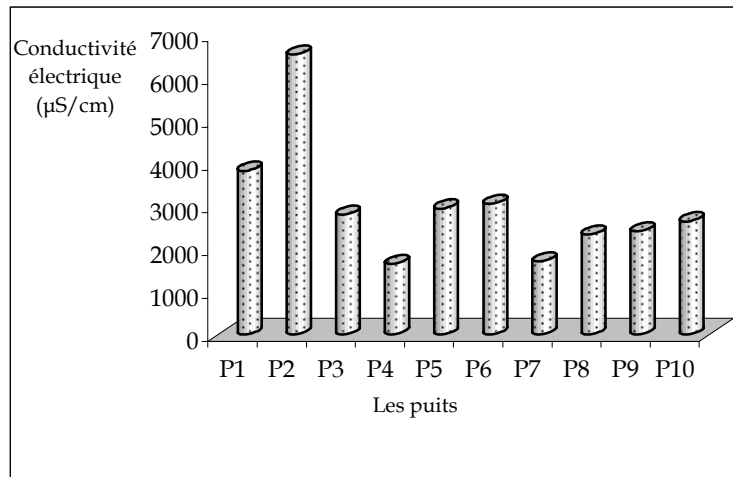
Par ailleurs, les résultats des dénombrements des CF des trois premières compagnes, montrent que les eaux des puits étudiés sont contaminées (figure 3).

Les concentrations moyennes de ces germes fluctuent entre 57 et 25.10<sup>2</sup> unités formant colonies/100 ml (UFC/100ml). Elles dépassent donc largement les normes de potabilité fixées par l'Organisation Mondiale Santé (WHO, 1997).

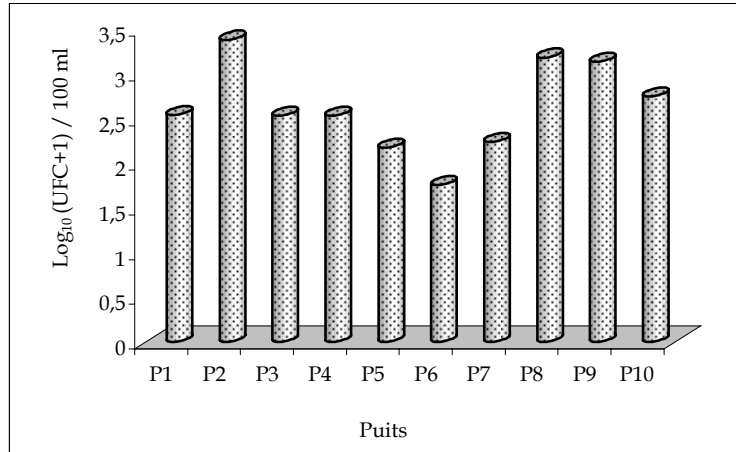
Etant donné que le degré de contamination fécale de ces puits est différent, il nous a paru indispensable de choisir 6 puits (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>8</sub>, P<sub>9</sub>, P<sub>10</sub>) pour rechercher et isoler *V. cholerae* non-O1. En effet, nous avons retenu certains puits en raison de leurs emplacements. Ainsi, nous avons choisi P<sub>1</sub> pour évaluer l'impact de la décharge publique. Nous avons étudié P<sub>4</sub>, P<sub>8</sub> et P<sub>9</sub> pour apprécier l'impact de l'épandage des eaux

usées. D'autre part, dans la zone des ferrailleurs contenant les puits P<sub>2</sub> et P<sub>3</sub>, nous avons opté pour P<sub>2</sub> puisqu'il présente un niveau de contamination élevé en CF ( $25 \times 10^2$  UFC/100ml) et parce qu'ils sont situés au niveau de la même zone (zone des ferrailleurs). Dans l'agglomération urbaine (le lotissement Ibn Khaldoun) contenant les puits P<sub>5</sub>, P<sub>6</sub> et P<sub>10</sub>, nous avons retenu P<sub>10</sub> parce que même s'il est le plus éloigné de la zone d'épandage, il est tout aussi contaminé que d'autres puits situés au niveau de la zone d'épandage.

Il ressort des résultats de recherche des CF et de *V. cholerae* non-O1 que les eaux des puits étudiés hébergent de fortes densités de bactéries fécales (CF) et de la bactérie pathogène opportuniste *V. cholerae* non-O1. En effet, les abondances de *V. cholerae* non-O1 subissent d'importantes variations d'un site à l'autre. Elles s'échelonnent entre 0 et  $1,4 \cdot 10^7$  MPN/100ml (Tableau III).



**Figure 2** : Valeurs moyennes de la conductivité électrique des puits prospectés



**Figure 3** : Concentrations moyennes en CF des puits étudiés

Ces fluctuations pourraient, entre autres, être liées aux facteurs locaux tels que :

- la proximité et la multiplicité des sources de pollution (cas de P<sub>1</sub>) ;
- la densité de la population humaine et animale (P<sub>2</sub>) ;
- le degré de porosité et de perméabilité du sol et la fréquence d'évacuation des ordures.

D'autres facteurs peuvent être également la cause tels que :

- l'infiltration des lixiviats de la décharge (cas du puits P<sub>1</sub>) (Hakkou, 2001);
- l'évaporation importante de la nappe, lié au niveau statique des eaux qui sont très proches de la surface où leur profondeur est partout inférieure à 8 m (Boutin et Dias, 1987 ; Lyakhloufi, 1999);
- Très certainement aussi au lessivage des terrains traversés à l'amont hydraulique (au sud-est). Les deux nappes étudiées ne constituent respectivement que la partie avale de la nappe du Haouz et des Jbliet (Boutin et Dias 1987; Boulanouar et al. 1995; Lyakhloufi 1999).

**Tableau III : Abondances de *V. cholerae* non-O1 dans les eaux des puits**

Puits	Abondances de <i>V. cholerae</i> non-O1 (MPN/ 100 ml)
P <sub>1</sub>	1,4.10 <sup>7</sup>
P <sub>2</sub>	2,5.10 <sup>6</sup>
P <sub>4</sub>	non détecté
P <sub>8</sub>	non détecté
P <sub>9</sub>	non détecté
P <sub>10</sub>	4,5.10 <sup>6</sup>

### 3-2. Désinfection de l'eau par le rayonnement solaire :

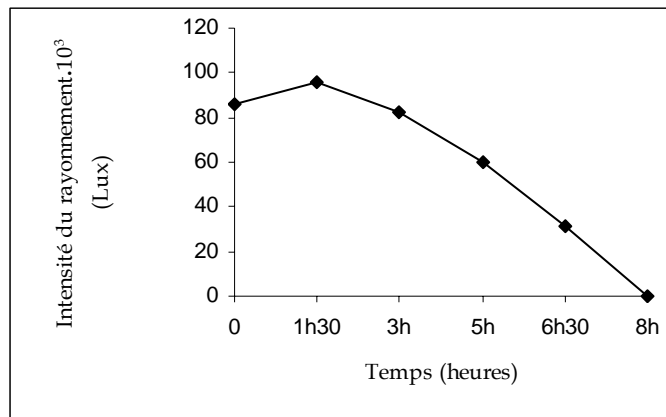
Il importe de signaler que nous avons choisi le puits 2 en raison de son importance pour la population utilisatrice et de sa contamination en *V. cholerae* non-O1. En effet, le quartier des ferrailleurs est à habitats spontanés avec des constructions sans aucun plan d'urbanisation de la municipalité et sans réseau de distribution d'eau potable. En conséquence, les volumes énormément puisés sont contaminées et destinées à l'alimentation humaine. Donc la consommation de cette source d'eau non traitée constituerait un gros risque de transmission des maladies hydriques.

Les eaux de ce puits sont caractérisées par une basse turbidité (7,9 NTU) assurant ainsi la pénétration efficace de la lumière du soleil pendant les deux expériences menues. Les caractéristiques physico-chimiques des eaux contenues dans les bouteilles exposées et leurs variations en fonction du temps sont représentées dans la figure 4.

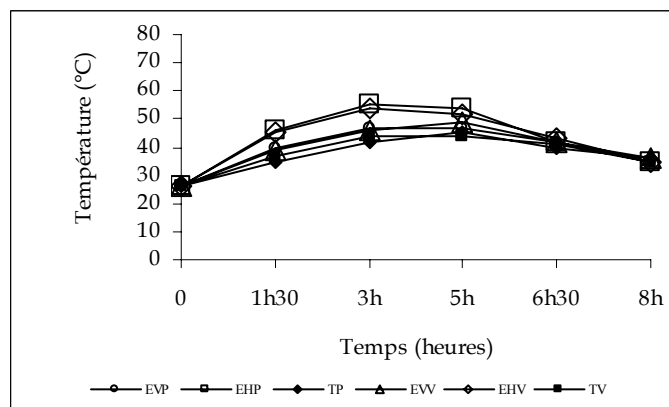
Nous constatons que l'intensité du rayonnement augmente pour atteindre, au bout de deux heures, une valeur maximale de 95700 lux puis diminue régulièrement pour atteindre au bout de 4 heures une valeur minimale de 300 lux.

En ce qui concerne les variations de la température, elles suivent celles des intensités du

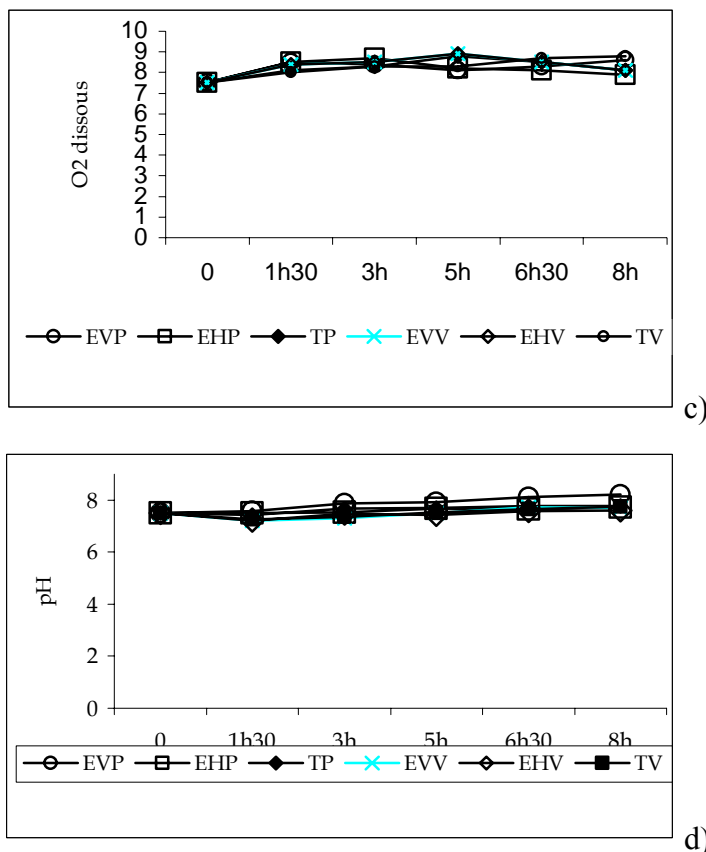
rayonnement. Généralement, les six bouteilles présentent des valeurs maximales après les premières heures d'exposition. Mais, nous remarquons que les bouteilles placées horizontalement retiennent plus de chaleur que celles exposées verticalement.



a)



b)

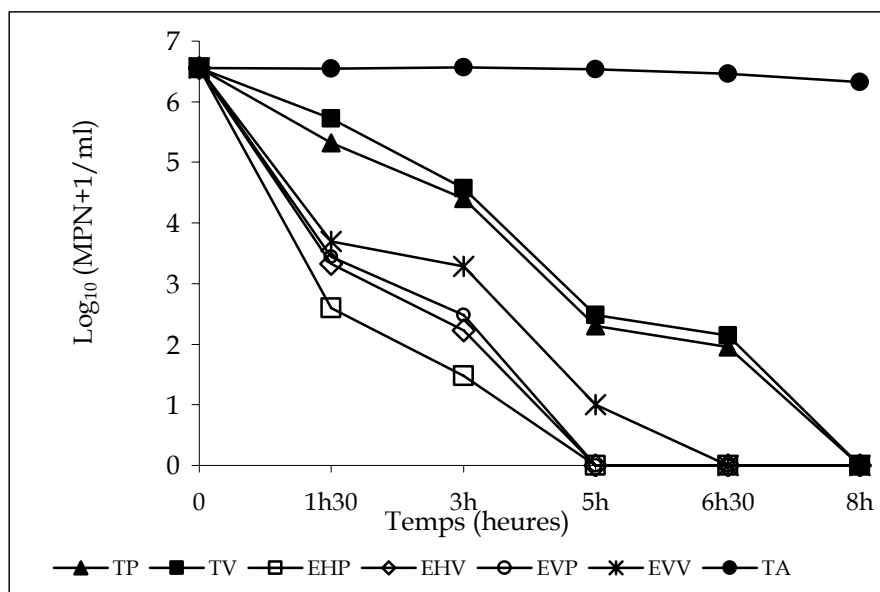


**Figure 4** : Evolution temporelle de l'intensité du rayonnement, de la température (Temp), de l'oxygène dissous dans les bouteilles exposées non exposées au rayonnement solaire (EVP : exposée verticalement plastique, EHP : exposée horizontalement plastique, TP : témoin plastique, EVV : exposée verticalement verre, EHV : exposée horizontalement verre, TV : témoin verre).

Les autres paramètres physico-chimiques sont relativement constants aussi bien au cours du temps que d'une bouteille à une autre. Ainsi, le pH reste toujours proche de la neutralité et le niveau de l'oxygène dissous dans les différents microcosmes reste bas. C'est un caractère commun des eaux souterraines. Il est dû aux faibles échanges entre les interfaces eau-air, à la solubilité et la diffusion limitée de l'oxygène d'air dans les

couches d'eau des puits.

La concentration initiale de *V. cholerae* non-O1 dans l'eau du puits 2 a été estimée par la technique du MPN. Les différents microcosmes contenant l'eau de puits 2 sont ensemencés par une souche de *V. cholerae* préalablement isolée de ce puits. L'effet du traitement par rayonnement solaire sur l'abattement des concentrations de *V. cholerae* non-O1, exprimé en fonction du temps, est représenté sur la figure 5.



**Figure 5** : Evolution temporelle des abondances de *V. cholerae* dans les bouteilles exposées et non exposées (EVP : exposée verticalement plastique, EHP : exposée horizontalement plastique, TP : témoin plastique, EVV : exposée verticalement verre, EHV : exposée horizontalement verre, TV : témoin verre, TA : témoin exposé à température ambiante et à l'obscurité).

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une réduction importante des abondances de *V. cholerae* non-O1 après 1h30min d'exposition au rayonnement solaire. Dans les bouteilles exposées, nous notons une inactivation de 3 à 4 unités logarithmiques (u.log.) de *V. cholerae*. Tandis que dans celles non exposées, nous notons une inactivation de 1 u.log. seulement. Nous constatons, donc, que l'inactivation

de *V. cholerae* non-O1 est significativement plus importante dans les bouteilles exposées que celles non exposées (test de Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Ceci résulterait de la mauvaise ou de l'absence de transmission des radiations solaires des bouteilles non exposées. Elles se réchauffent uniquement.

Par ailleurs, on remarque que les bouteilles exposées horizontalement permettent l'inactivation de 4 u.log. au cours de 1h30 min, tandis que celles exposées verticalement donnent une inactivation de 3 u.log. pendant la même période d'exposition. Les bouteilles exposées horizontalement possèdent une surface d'exposition solaire plus large (de 114 cm<sup>2</sup> contre 36 cm<sup>2</sup> pour les bouteilles exposées verticalement) et une profondeur plus faible de 6 cm. Ceci augmente le rapport entre la surface exposée/volume d'eau, et par conséquent aussi le procédé d'inactivation de *V. cholerae* non-O1 par le rayonnement solaire.

D'autre part, on remarque qu'il y a une différence d'inactivation d'environ 1 u.log. entre les bouteilles en verre et en plastiques ceci peut s'expliquer par la bonne transmissibilité des radiations solaire dans les bouteilles en plastique.

En général, la désinfection des eaux est réalisée au bout de 5 heures. Donc, ce procédé de traitement simple par l'irradiation solaire permet d'inactiver et détruire cette bactérie pathogène dans des bouteilles exposées horizontalement et verticalement.

En analysant ces résultats, il s'avère que les propriétés de désinfection solaire sont donc dues aux rayonnements solaires ou aux effets synergiques de la lumière du soleil et de la chaleur (température élevée). Acra et al. (1984) ont comparé les effets germicides de différentes longueurs d'onde de lumière en mesurant le nombre moyen de coliformes inactivés lors de l'exposition aux longueurs d'onde variables. Ils ont constaté que la diminution la plus significative des cellules bactériennes viables, s'est produite quand elles ont été exposées aux longueurs d'onde entre 260 à 350 nm (comparés à l'inactivation aux longueurs d'onde entre 550 à 850 nm). Puisque les longueurs d'onde en dessous de 290 nm n'atteignent

pas la terre, Acra et al. (1984) ont conclu que les longueurs d'onde les plus bactéricides étaient entre 315 à 400 nm. Elles correspondent aux longueurs d'onde de la zone proche aux ultraviolets non visible à l'oeil nu.

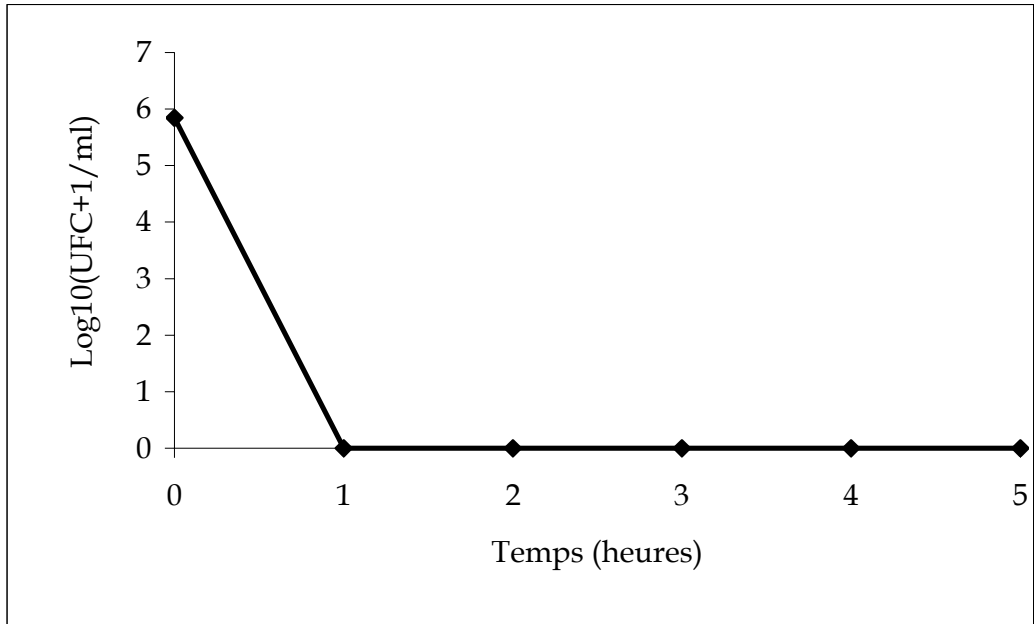
Davies et Evison (1991) ont attribué la moitié des effets toxiques de la lumière du soleil aux longueurs d'onde plus basses que 370 nm. Davies et Evison (1991) ont également noté que la désinfection solaire est efficace, avec une inactivation de 1 u.log. de *E. coli* en 10 heures d'exposition à la lumière du soleil, et une inactivation de 4 u.log. de *salmonella typhimurium* en 4 heures d'exposition. Conroy et al. (1999) ont exposé des échantillons d'eau en pleine lumière solaire au Kenya et ont confirmé que la lumière du soleil a un effet bactéricide sur l'eau trouble, avec des réductions des bactéries initiales supérieures à  $10^3$  UFC/ml.

Les études expérimentales ont démontré que l'approche est efficace dans des conditions où l'eau est sujette à la contamination avec les bactéries fécales et le climat est assez favorable pour fournir une quantité suffisante de lumière solaire (Wegelin et Sommer, 1997). La majeure partie de la recherche sur l'efficacité de la désinfection solaire s'est concentrée sur les effets de pasteurisation du rayonnement solaire aux températures supérieures à 45 et à 50 °C (Ciochetti et Metcalf, 1984), ou sur les interactions synergiques entre la température et le rayonnement solaire (Rojko, 2003). Les études récentes de laboratoire ont démontré que l'inactivation des bactéries fécales par le soleil dépend également de la quantité de l'oxygène dans l'eau, en raison de la formation des radicaux libres dérivés de l'oxygène dissout par l'intermédiaire de la photo-oxydation solaire (Reed, 1997 ; Reed et al. 2000).

### **3-3. Désinfection par chloration :**

Parmi les agents oxydants, le chlore est le réactif le plus utilisé pour assurer l'élimination des microorganismes pathogènes existant dans l'eau. Il est doué d'un pouvoir oxydant très important. Son action bactéricide s'explique par la destruction des enzymes indispensables à la vie des agents pathogènes.

L'évolution temporelle des abondances de *V. cholerae* non-O1 après injection du chlore est représentée sur la figure 6.



**Figure 6** : Evolution temporelle de *V. cholerae* non-O1 après addition du chlore

D'après nos résultats, il s'avère que la chloration est très efficace. En effet, nous notons un abattement de 6 u.log. des abondances de *V. cholerae* non-O1 au bout d'une heure.

Néanmoins, le traitement par le chlore peut générer la formation de chloramines qui sont toxiques pour la santé humaine (Rincon Benavides 2005). Aussi, ce produit chimique peut être coûteux surtout pour les familles périurbaines et rurales à faibles revenus. Du fait de son oxydation, l'action du chlore a également une durée de vie limitée (Rojko 2003). En plus, la chloration nécessite une formation technique pour calculer les dosages chimiques appropriés et peut être techniquement difficile à

appliquer dans des conditions socio-économiques moins favorables (Rincon Benavides 2005).

Dans les régions à climat aride et semi-aride, tel le cas du Maroc, les eaux souterraines sont très sollicitées. Ces eaux constituent une importante réserve en eau dans la région de Marrakech. Cependant, cette réserve de pureté très fragile, est souvent soumise à différentes sources de pollution. Celles-ci conduisent à la détérioration de la qualité chimique et microbienne de cette nappe et à la transmission des maladies hydriques.

Les abondances bactériennes des CF et de *V. cholerae* non-O1 dans les puits étudiés de la région de Marrakech, dépassent les normes de potabilité des eaux destinées aux usages domestiques (boisson, cuisson, abreuvement de bétail, lessive, ...).

Par conséquent, des solutions alternatives et convenables de désinfection peuvent contribuer à l'amélioration de la situation précaire de ces eaux de puits. Il paraît que le traitement par rayonnement solaire ou par chloration, constituent des méthodes efficaces pour éliminer les bactéries d'intérêt sanitaire, notamment *V. cholerae* non-O1. Le rayonnement solaire permet d'éliminer 4 u.log. des abondances de *V. cholerae* non-O1 au bout de 1h30min, tandis que la chloration permet d'éliminer 6 u.log. de *V. cholerae* non-O1 au bout de 1h.

La désinfection par rayonnement solaire constitue une méthode simple, adéquate et pratique pour améliorer la qualité des eaux en tenant compte du contexte socio-économique de la région et des conditions climatiques locales. Ceci fournit un point de référence pour les populations locales afin de désinfecter les eaux de puits dans des bouteilles exposées, pendant quelques heures, au rayonnement solaire (de préférence exposées horizontalement sur une surface noire). Cette pratique pourrait améliorer la qualité des eaux de puits et ainsi diminuer le risque sanitaire pour les populations qui utilisent ces eaux souterraines sans aucun traitement préalable.

#### 4- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acra A., Raffoul Z., et Karahagopian Y. (1984):** Solar disinfection of drinking water and oral rehydration solutions: guidelines for household application in developing countries. Department of Environmental Health. Beirut.
- Acra A., Jurdi M., Mu'Allem H., Karahagopian Y., et Raffoul Z. (1990):** Water disinfection by solar radiation. Assessment and application. IDRCTS66e. International Development Research Centre, Ottawa, Canada.
- Ait Melloul A., et Hassani L. (1999):** Antibiotic resistance of *Salmonella* strains isolated from children living in the wastewater spreading area of Marrakesh city (Morocco). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 15: 91-96.
- A.F.N.O.R. (1998):** Association française de normalisation: Installations classées pour la protection de l'environnement, Paris. ISBN 2-12-214311-8.
- Benckekroun S., Imzilen B., et Hassani L. (2003):** Solar inactivation of mesophilic *Aeromonas* by exogenous photooxidation in high rate algal pond treating wastewater. *Journal of Applied Microbiology.* 94 : 531-538.
- Bouhoum K., Habbari Kh., et Jana M. (1997):** Etude épidémiologique des helminthiases intestinales chez l'enfant de la zone d'épandage des eaux usées de la ville de Marrakech. In "Conception, naissance et petite enfance au Maghreb". *Cahier de l'IREMAN, Institut de recherche et d'étude sur le monde arabe et musulman, CNRS-Univ. Aix-Marseille,* 9/10: 275-291.
- Boulanouar M., Yacoubi-khebiza M., Messouli M., et Coineau N. (1995):** Un nouveau Microcharbon (*Isopoda, Janiroidea*) du Maroc - Origine et biogéographie historique. *Contrib. Zool. (Bijdr. Dierk).* 65 : 53-64.
- Boutin C., et Dias N. (1987):** Impacte de l'épandage des eaux usées de la ville de Marrakech sur la nappe phréatique. *Bull. Fac. Sci. Marrakech, Ser. Biol.* 3 : 5-27.
- Boutin C. (1993):** L'eau des nappes phréatiques superficielles, une richesse naturelle vitale mais vulnérable. L'exemple des zones rurales du Maroc. *Sciences de l'eau.* 6 : 357-365.
- Burch J., et Thomas K. (1998):** Water disinfection for developing countries and potential for solar thermal pasteurization. *Solar Energy.* 64 : 87-97.

- Caslake L.F., Connolly D.J., Menon V., Duncanson C.M. (2004).** Disinfection of contaminated water by using solar irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 1145-1150.
- Ciochetti D., et Metcalf R. (1984):** Pasteurization of naturally contaminated water with solar energy. *Appl. Environ. Microbiol.* 47 (2) : 223-228.
- Conroy R., Elmore-Meegan M., Joyce T., McGuigan K., et Barnes, J. (1999):** Solar disinfection of drinking water reduces diarrhoeal disease - an update. *Arch. Dis. Child.* 81: 337-338.
- Davies C., et Evison L. (1991):** Sunlight and the survival of enteric bacteria in natural waters. *J. Appl. Bacteriol.* 70 : 265-274.
- El Omari L. (1975):** Note géothermique concernant le périmètre urbain de Marrakech et ses environs. Rap. SRG/ MAR / N° 36 *Min. du Comm. De l'ind. Des Mines et de la Mar. March. Dactyl.*, 9p + 5 cartes H.T.
- Hakkou R. (2001):** La décharge publique de Marrakech: caractérisation des lixiviats, étude de leur impact sur les ressources en eau et essais de traitement. Thèse Doctorat d'Etat. Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences et Techniques, Marrakech, 141p.
- International Development Research Center (IDRC) (1998):** Science for Humanity. Water disinfection using solar radiation. Ottawa, Canada.
- Lesne J., Baleux B., Bousaid A., et Hassani L. (1991):** Dynamics of non O1 *Vibrio cholerae* in experimental sewage stabilization ponds under arid Mediterranean climate. *Wat. Sci. Technol.* 22: Part 2.
- Lipp E.K., Huq A., et Colwell R.R. (2002):** Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. *Clin. Microbiol. Rev.* : 757-770.
- Lyakhloufi S., Ouazzani N., Er Rouane S., Hassani L., et EL Hebil A. (1999):** Impact de l'utilisation des eaux usées urbaines brutes sur la qualité de l'eau d'une nappe alluviale près de Marrakech (Maroc), *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse.* 135 : 59-70.

- Mezrioui N., Oufdou K., et Baleux B. (1995):** Dynamics of non-O1 *Vibrio cholerae* and fecal coliforms in experimental stabilization ponds in the arid region of Marrakesh, Morocco, and the effect of pH, temperature and sunlight on their experimental survival. *Can. J. Microbiol.* 41: 489-498.
- Mezrioui N., et Oufdou K. (1996):** Abundance and antibiotic resistance of non-O1 *Vibrio cholerae* strains in domestic wastewater before and after treatment in stabilization ponds in an arid region (Marrakesh, Morocco). *FEMS. Microbiol. Ecol.* 21: 277-284.
- Reed R.H. (1997):** Solar inactivation of faecal bacteria in water: the critical role of oxygen. *Lett. Appl. Microbiol.* 24 : 276-280.
- Reed R., Mani S., et Meyet V. (2000):** Solar photo-oxidative disinfection of drinking water: preliminary field observations. *Lett. Appl. Microbiol.* 30: 432-436.
- Rincon Benavides A.G. (2005):** Solar disinfection of water by photocatalytic processes. physico-chemical and biological aspects. Thesis of federal polytechnique school of Lausanne. 139p.
- Rijal G., et Fujioka R. (2001):** Synergistic effect of solar radiation and solar heating to disinfect drinking water sources. *Wat. Sci. Technol.* 43 : 155-162.
- Rojko C. (2003):** Solar Disinfection of drinking water. Degree of Master of Science. Faculty of Worcester polytechnic institute. 83p.
- Wegelin M., et Sommer B. (1997):** Solar water disinfection (SODIS) - destined for worldwide use. *Waterlines.* 16: 30-32.
- WHO (World Health Organization) (1997):** Guidelines for drinking-water quality, 2<sup>nd</sup> ed.