



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**Université ZIANE ACHOUR de DJELFA**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**



**Département de Biologie**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**Magister en Biologie**

Spécialité : **Contrôle de la qualité et analyses alimentaire**

**Thème :**

*Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux  
thermales de Hammam El-Charef, Hammam Zelfana et l'eau minérale  
de Zamzam ainsi que leur activité antibactérienne et anti oxalo-  
calcique*

**Réalisé par :**

**Wahiba BENCHEIKH**

**Devant le jury composé de :**

<b>P<sup>r</sup> CHOUKRI A.,</b>	<b>Professeur,</b>	<b>U.Z.A. Djelfa,</b>	<b>Président</b>
<b>D<sup>r</sup> MAAOUI A.,</b>	<b>Maître de Conférences (A),</b>	<b>U.G. Guelma,</b>	<b>Examineur</b>
<b>D<sup>r</sup> SAILA A.,</b>	<b>Maître de Conférences (B),</b>	<b>U.Z.A. Djelfa,</b>	<b>Examineur</b>
<b>D<sup>r</sup> CHIEB T.,</b>	<b>Maître de Conférences (B),</b>	<b>U.Z.A. Djelfa,</b>	<b>Examineur</b>
<b>D<sup>r</sup> BENSATAL A.</b>	<b>Maître de Conférences (B),</b>	<b>U.Z.A. Djelfa,</b>	<b>Promoteur</b>
<b>D<sup>r</sup> HAKEM A.</b>	<b>Maître de Conférences (A),</b>	<b>U.Z.A. Djelfa,</b>	<b>Co-promoteur</b>

**Promotion 2012**

# *Remerciements*

Ce travail à été effectué au sein du laboratoire d'analyse de l'ADE (Algérienne Des Eaux) de l'unité de Laghouat, au laboratoire de chimie du département de biologie, université de Djelfa et au laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Djelfa.

Je tiens à remercier M. MECHRAOUI et M. KHIRI, de l'ADE de Laghouat, pour l'accueil dans leur laboratoire et pour leur aide efficace durant l'analyse physicochimique et biologique des échantillons.

Je tiens à remercier aussi M. BAKHTI, chef de département de biologie, pour son accueil et son aide toujours efficace.

Je voudrais remercier M. ABERKAN, M<sup>lle</sup>. BENCHERIF, de l'hôpital de Djelfa, pour leur accueil et leur aide durant les analyses biologiques.

A cette occasion, j'aimerais exprimer mes sincères remerciements et ma gratitude à M. BENSATAL A. maître de conférences à l'université de Djelfa, pour avoir dirigé ce travail, pour ses discussions fructueuses et ses nombreux conseils durant la réalisation de ce travail.

J'aimerais aussi remercier vivement M. HAKEM A., maître de conférences à l'université de Djelfa, pour accepter d'être mon co-promoteur de mémoire et pour ses orientations toujours efficaces.

Je tiens à remercier M. CHOUKRI A., professeur et recteur de l'université de Djelfa, pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Je voudrais exprimer mes remerciements à, M. MAAOUI A. maître de conférences à l'université de Guelma, à M. SAILA A. maitre de conférences à l'université de Djelfa et M. CHIEB T. maître de conférences à l'université de Djelfa, pour accepter de juger et discuter le contenu de ce manuscrit.

# *Dédicace*

A ma chère maman

A mes chers : Mimi, Sinan et Soussou

A mes chères sœurs, amis et collègues : Sarah B., Saidani Amel et Zineb, Saadia B., Djemaa B, Faiza T., Mira B., Sanaa H., BenSaada A., Djarou L., Halbaoui T., Tarik B., Muhammed Qasim Hassan, Ricardo Moralis Cervantes, Andres Igaris

A vous tous, je dédie ce travail

# *Sommaire*

Liste des tableaux.....	(i)
Liste des figures.....	(ii)
Liste des photos.....	(iii)
Liste des abréviations.....	(iii)
Introduction.....	1

## - Partie Bibliographique-

### **Chapitre I: Eaux minérales**

I.1- Eaux minérales.....	3
I.1.1- Définitions.....	3
I.1.1.1- L'eau minérale naturelle.....	3
I.1.1.2- L'eau thermale.....	3
I.1.2- Classification des eaux minérales.....	4
I.1.3- Usages thérapeutiques des eaux minérales.....	5
I.2- Caractérisations des eaux minérales .....	7
I.2.1- Caractéristique des eaux thermo-minérales de Hammam El-Charef et hammam Zelfana .....	7
I.2.1.1- Eau minérale thermale de Hammam El-Charef.....	7
I.2.1.1 a) Climat de la région d'étude (Djelfa) .....	8
I.2.1.1 b) Caractéristiques de l'eau thermale de Hammam El-Charef .....	8
I.2.1.2- Eau minérale thermale de Hammam Zelfana .....	9
I.2.1.2 a) Climat de la région d'étude (Zelfana).....	10
I.2.1.2 b) Caractéristiques de l'eau thermale de Hammam Zelfana .....	10
I.2.2- Eau minérale de Zamzam .....	11
I.2.2.1- Climat de la région d'étude (Arabie Saoudite) .....	12
I.2.2.2- Caractéristiques de l'eau minérale de Zamzam .....	12

### **Chapitre II: Généralités sur l'activité antibactérienne et la lithiase urinaire**

II.1- Généralités sur l'activité antibactérienne.....	13
II.1.1- Souches à tester.....	13
II.1.2- Test de l'activité antibactérienne.....	14
II.2- Généralité sur la lithiase urinaire.....	16
II.2.1- Définition.....	16
II.2.2- Calculs lithiasiques .....	16
II.2.3- Différents types de lithiase.....	18

II.2.4- Facteurs causales.....	19
II.2.4.1- Influence de la qualité de l'eau de boisson .....	20
II.2.5- Cristallisation oxalique.....	21
II.2.5.1- Etapes de la formation des calculs (Cristallisation).....	21
II.2.6- Inhibiteurs de cristallisation.....	22
II.2.6.1- Inhibiteurs de la germination cristalline.....	23
II.2.6.2- Inhibiteurs de la croissance cristalline.....	24
II.2.6.3- Inhibiteurs de stabilisation de la phase cristalline.....	25
II.2.6.4- Inhibiteurs de l'agrégation cristalline.....	25
II.2.7- Etude de la cristallisation avec et sans inhibiteurs par turbidimétrie.....	26
II.2.7.1- Pourcentage d'inhibition .....	26
II.2.7.2- Allure générale des courbes turbidimétriques.....	27

## – Partie expérimentale –

### I. Matériel et méthodes

I.1- Objectifs .....	28
I.2- Méthodologie.....	30
I.2.1- Prélèvements.....	30
I.2.2- Méthodes d'analyse.....	30
I.2.2.1- Détermination des paramètres physicochimiques.....	30
I.2.2.1.1- Température (°C).....	31
I.2.2.1.2- pH.....	31
I.2.2.1.3- Turbidité (T).....	31
I.2.2.1.4- Conductivité (C).....	31
I.2.2.1.5- Minéralisation (M).....	32
I.2.2.1.6- Taux des solides dissouts (TDS).....	32
I.2.2.1.7- Salinité (S).....	32
I.2.2.1.8- Dureté totale (TH).....	32
I.2.2.1.9- Dosage de calcium [Ca <sup>++</sup> ].....	33
I.2.2.1.10- Dosage de magnésium [Mg <sup>++</sup> ].....	35
I.2.2.1.11- Dosage de chlorure [Cl <sup>-</sup> ].....	35
I.2.2.1.12- Dosage de l'alcalinité [HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ].....	37
I.2.2.1.13- Dosage des nitrates [NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ].....	38
I.2.2.1.14- Dosage des sulfates [SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ].....	38
I.2.2.1.15- Dosage des ions de fer [Fe <sup>++</sup> ].....	39
I.2.2.1.16- Détermination du résidu sec [Rs].....	39

I.2.2.2-	Détermination de la qualité microbiologique.....	40
I.2.2.2.1-	Recherche des germes aérobies mésophiles totaux (FAMT).....	41
I.2.2.2.2-	Recherche des coliformes totaux et fécaux.....	41
I.2.2.2.3-	Recherche des streptocoques fécaux.....	44
I.2.2.2.4-	Recherche des clostridium sulfitoréducteurs.....	44
I.2.2.3-	Étude de l'activité antibactérienne.....	47
I.2.2.3.1-	Souches bactériennes testées.....	47
I.2.2.3.2-	Ensemencement et placement des disques.....	48
I.2.2.4-	Étude de la cristallisation oxalo-calcique.....	51
I.2.2.4.1-	Étude turbidimétrique.....	51
I.2.2.4.1.1-	Étude sans inhibiteur.....	51
I.2.2.4.1.2-	Étude avec l'inhibiteur (10, 50 et 100%).....	53
I.2.2.4.2-	Étude microscopique de la cristallisation oxalo-calcique.....	54
I.2.2.4.2.1-	Étude sans inhibiteur.....	55
I.2.2.4.2.2-	Étude avec inhibiteur (10% et 100%).....	55

## **II. Résultats et discussion**

II.1-	Résultats.....	57
II.1.1-	Résultats des analyses physico-chimiques.....	57
II.1.2-	Résultats des analyses microbiologiques.....	59
II.1.3-	Résultats de l'activité antibactérienne.....	62
II.1.4-	Résultats de l'activité anti oxalo-calcique.....	68
II.1.4.1-	Résultats des analyses au spectrophotomètre U.V/Visible.....	68
II.1.4.1.1-	Essais sans inhibiteur.....	68
II.1.4.1.2-	Essais avec inhibiteur.....	69
II.1.4.1.2.1-	Eau de Hammam El-Charef.....	69
II.1.4.1.2.2-	Eau de Hammam Zelfana.....	72
II.1.4.1.2.3-	Eau de Zamzam.....	74
II.1.4.2-	Résultats obtenus au microscope.....	79
II.1.4.2.1-	Essais sans inhibiteur.....	79
II.1.4.2.2-	Essais avec inhibiteur.....	81
II.2-	Discussion.....	85

Conclusion.....	87
-----------------	----

Annexes

Glossaire médicale

# *Liste des Tableaux*

<b>Tableau 1.</b> Indications d'utilisation des différents types d'eaux minérales.....	6
<b>Tableau 2.</b> Types et fréquences des lithiases.....	17
<b>Tableau 3.</b> Principales causes des calculs rénaux .....	20
<b>Tableau 4.</b> Inhibiteurs de germination cristalline .....	23
<b>Tableau 5.</b> Inhibiteurs de croissance cristalline .....	24
<b>Tableau 6.</b> Stabilisants de la phase cristalline .....	25
<b>Tableau 7.</b> Inhibiteurs de l'agrégation cristalline .....	25
<b>Tableau 8.</b> Dates des prélèvements des eaux minérales et leurs destinations.....	28
<b>Tableau 9.</b> Solutions mères et filles de chlorure de calcium et oxalate du sodium.....	53
<b>Tableau 10.</b> Résultats des paramètres chimiques des eaux minérales naturelles (Hammam El-Charef et Zelfana, eau de Zamzam).....	57
<b>Tableau 11.</b> Concentrations des cations et la dureté totale dans les eaux minérales de Hammam El-Charef et Zelfana et l'eau minérale de Zamzam.....	58
<b>Tableau 12.</b> Concentrations des anions dans les eaux minérales naturelles de Hammam El-Charef et Zelfana, de Zamzam.....	58
<b>Tableau 13.</b> Caractérisation microbiologiques des eaux minérales de Hammam El-Charef, Hammam Zelfana et de Zamzam.....	59
<b>Tableau 14.</b> Activité antibactérienne des eaux minérales de Hammam El-Charef, de Hammam Zelfana et l'eau de Zamzam, sur les souches bactériennes testées.....	62
<b>Tableau 15.</b> Activité antibactérienne des mélanges des eaux minérales de Hammam El-Charef, de hammam Zelfana et l'eau de Zamzam.....	64
<b>Tableau 16.</b> Zones d'inhibition de deux antibiotiques (gentamicine et chloramphénicol) vis-à-vis des bactéries à tester.....	65
<b>Tableau 17.</b> Résultats obtenus sans inhibiteur.....	69
<b>Tableau 18.</b> Résultats obtenus avec inhibiteur (l'eau de Hammam El-Charef).....	71
<b>Tableau 19.</b> Résultats obtenus avec inhibiteur (l'eau de Hammam Zelfana).....	74
<b>Tableau 20.</b> Résultats obtenus avec inhibiteur (l'eau de Zamzam).....	76

# *Liste des Figures*

<b>Figure 1.</b> Hammam El-Charef .....	7
<b>Figure 2.</b> Situation géographique de la commune de Zelfana (Ghardaia).....	7
<b>Figure 3.</b> Localisation du puits de Zamzam.....	11
<b>Figure 4.</b> Visualisation des zones d'inhibition selon la méthode de diffusion des disques.....	14
<b>Figure 5.</b> Zones d'inhibition selon la méthode d'E-test.....	15
<b>Figure 6.</b> Allure générale des courbes turbidimétriques.....	27
<b>Figure 7.</b> Diagramme montrant le protocole expérimental.....	29
<b>Figure 8.</b> Détermination de la dureté totale par titration.....	33
<b>Figure 9.</b> Dosage de calcium par titration .....	34
<b>Figure 10.</b> Dosage de chlorure par titration .....	36
<b>Figure 11.</b> Dosage de $\text{HCO}_3^-$ .....	37
<b>Figure 12.</b> Recherche et dénombrement des germes aérobies totaux.....	42
<b>Figure 13.</b> Recherche et dénombrement des coliformes (totaux et fécaux).....	43
<b>Figure 14.</b> Recherche des streptocoques fécaux.....	45
<b>Figure 15.</b> Recherche des <i>clostridium</i> sulfitoréducteurs.....	46
<b>Figure 16.</b> Différentes étapes de l'étude de l'activité antibactérienne.....	49
<b>Figure 17.</b> Préparation de la solution de NaCl (0,15mol/l).....	51
<b>Figure 18.</b> Préparation de la solution de chlorure de calcium (7 mmol/l).....	52
<b>Figure 19.</b> Préparation de solution de l'oxalate du sodium à (3 mmol/l).....	52
<b>Figure 20.</b> Etapes de l'étude de cristallisation sans inhibiteur.....	53
<b>Figure 21.</b> Etapes de l'étude de la cristallisation avec inhibiteur.....	54
<b>Figure 22.</b> Etapes d'observation des cristaux sous microscope optique.....	55
<b>Figure 23 :</b> Etapes d'observation l'inhibition des cristaux sous microscope optique.....	56
<b>Figure 24.</b> Histogramme de l'activité antibactérienne de nos inhibiteurs vis-à-vis <i>E. coli</i> .....	66
<b>Figure 25.</b> Histogramme de l'activité antibactérienne de nos inhibiteurs vis-à-vis <i>P. aerogenosa</i> .....	66
<b>Figure 26.</b> Histogramme de l'activité antibactérienne de nos inhibiteurs vis-à-vis <i>Pr. mirabilis</i>	67

<b>Figure 27.</b> Courbe de cristallisation sans inhibiteur.....	68
<b>Figure 28.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (10% de l'eau de Hammam El-Charef).....	69
<b>Figure 29.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (50% de l'eau de Hammam El-Charef).....	70
<b>Figure 30.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (100% de l'eau de Hammam El-Charef).....	70
<b>Figure 31.</b> Courbe de cristallisation avec et sans inhibiteurs "Eau de Hammam El-Charef" .....	71
<b>Figure 32.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (10% de l'eau de Hammam Zelfana).....	72
<b>Figure 33.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (50% de l'eau de Hammam Zelfana).....	72
<b>Figure 34.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (100% de l'eau de Hammam Zelfana).....	73
<b>Figure 35.</b> Courbe de cristallisation avec et sans inhibiteur "Eau de Hammam Zelfana" .....	73
<b>Figure 36.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (10% de l'eau de Zamzam).....	74
<b>Figure 37.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (50% de l'eau de Zamzam).....	75
<b>Figure 38.</b> Courbe de cristallisation avec inhibiteur (100% de l'eau de Zamzam).....	75
<b>Figure 39.</b> Courbe de cristallisation avec et sans inhibiteur "Eau de Zamzam" .....	76
<b>Figure 40.</b> Courbe de cristallisation sans et avec inhibiteur (50 et 100%).....	77
<b>Figure 41.</b> Courbe de la cristallisation sans et avec inhibiteur (à 100%).....	78
<b>Figure 42.</b> Courbe de cristallisation sans et avec inhibiteur (à 50%).....	78
<b>Figure 43.</b> Courbe de cristallisation sans et avec inhibiteur (L'eau de Hammam El-Charef et Zelfana à 100% et l'eau de Zamzam à 10%).....	79

# *Liste des Photos*

<b>Photo 1.</b> Calcul de type WHEWELLITE.....	17
<b>Photo 2.</b> Calcul de type WEDDELLITE.....	18
<b>Photos 3.</b> Souches bactériennes à 37°/18h cultivées sur une gélose nutritif.....	47
<b>Photo 4.</b> Gélose MH avec 5 disques contenant l'échantillon à tester.....	50
<b>Photo 5.</b> Milieu TGEA pour la recherche des germes aérobies mésophile.....	60
<b>Photo 6.</b> Milieu BCPL pour la recherche des coliformes totaux et fécaux.....	60
<b>Photo 7.</b> Milieu Roth pour la recherche des streptoque fécaux.....	61
<b>Photo 8.</b> Milieu VF pour la recherche des clostridium sulfito-réductrices.....	61
<b>Photo 9.</b> Zone d'inhibition des eaux de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana vis-à-vis <i>E. coli</i>	62
<b>Photo 10.</b> Zone d'inhibition des eaux de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana vis-à-vis <i>Pr. mirabilis</i> .....	63
<b>Photo 11.</b> Zone d'inhibition de l'eau de Zamzam vis-à-vis: a) <i>P. aerogenosa</i> , b) <i>E. coli</i> .....	63
<b>Photo 12.</b> Zone d'inhibition de mélange de hammam El-Charef et Zelfana vis-à-vis : a) <i>E coli</i> , b) <i>Pr. mirabilis</i> .....	64
<b>Photo 13.</b> Zone d'inhibition de mélange des trois eaux minérales vis-à-vis: a) <i>P. aerogenosa</i> , b) <i>E. coli</i> .....	65
<b>Photo 14.</b> Sans inhibiteur.....	80
<b>Photo 15.</b> Avec inhibiteur de l'eau de Hammam El-Charef à concentration 100% et 10%.....	81
<b>Photo 16.</b> Avec inhibiteur de l'eau de Hammam Zelfana à concentration 100% et 10%.....	82
<b>Photo 17.</b> Avec inhibiteur de l'eau de Zamzam à concentration 100% et 10%.....	83

# *Liste des abréviations*

**+-:** Faible inhibition  
**+**: Inhibition moyenne  
**++:** Inhibition remarquable  
**+++:** Forte inhibition  
**φ:** Diamètre (mm)  
**°C:** Degrés Celsius  
**C:** Conductivité ( $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ )  
**Cha :** Eau de Hammam El-Charef  
**Ca<sup>++</sup>:** ion calcium  
**CaC<sub>2</sub>O<sub>4</sub>:** Oxalate de calcium  
**Ch-ph :** Chloramphénicol  
**C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>-2</sup>:** Oxalate  
**cm:** centimètre  
**Cv:** Coefficient de variation  
**D/C:** Double concentration  
**e :** equivalent atomique  
**E:** Etape  
**EDTA:** Ethylène diamine tétra-acétique  
**Ex:** Exemple  
**Fe:** Fer  
**h:** heure  
**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>:** bicarbonate  
**GN:** Gentamicine  
**gts:** gouttes  
**M:** Molarité (mol/l)  
**méq/l:** milliequivalent gramme par litre  
**Mg<sup>++</sup>:** ion magnésium  
**mg:** milligramme  
**mm:** millimètre  
**mmol/l:** milli mole par litre  
**mn:** minute  
**N:** Normalité (ég g/l)  
**ND:** Non déterminer  
**NO<sub>3</sub><sup>-2</sup>:** ion nitrate

**NET:** Noir erichrome

**pd:** Pendant

**pH:** Potentiel d'hydrogène

**R:** Coefficient de régression

**S/C:** Simple concentration

**SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>:** ion sulfate

**T:** Température (°C)

**t:** Temps (mn)

**TDS:** Taux des solides dissous

**TH:** Dureté totale (Total Hardness) (eq/l, mg/l)

**μS:** microseimens

**V:** Volume (ml)

**Z:** Eau de Zamzam

**Ze :** Eau de Hammam Zelfana

# *Introduction*

## *Introduction*

Les eaux minérales naturelles sont des eaux qui proviennent des nappes souterraines. Elles sont caractérisées par leurs puretés microbiologiques et leurs compositions chimiques constantes au sein d'une même nappe [1]. Elles sont connues depuis toujours pour leurs pouvoirs thérapeutiques, qui sont liés à la nature des éléments minéraux qui les contiennent [2].

Parmi les maladies traitées par ces eaux, on trouve l'infection urinaire et la cristallisation oxalo-calcique (calculs rénaux) [2]. Cette dernière résulte de la précipitation des calculs oxalo-calciques au niveau des voies excrétrices urinaires, laquelle est la plus fréquente (70%) [3-7].

Certaines variétés des eaux minérales naturelles jouent un rôle essentiel à l'encontre de la formation des calculs rénaux. Grâce à leur richesse en ions magnésium, sulfate et certains oligo-éléments, qui sont considérés comme des inhibiteurs de la cristallisation oxalo-calcique [2, 8].

Plusieurs travaux ont été effectués dans l'étude de l'effet inhibiteur des eaux minérales sur la formation des calculs oxalo-calcique [9-11]. Les différents résultats trouvés ont montré que l'augmentation des concentrations en  $Fe^{++}$ ,  $Mg^{++}$  et  $F^{-}$  défavorise la précipitation de l'oxalate de calcium, dans plusieurs types d'eaux minérales [9]. De plus l'étude spécifique sur l'eau de Zamzam a prouvé que sa richesse en différents sels minéraux la rend un milieu inhibiteur de formation oxalo-calcique [10] et aussi un bon germicide [10, 12, 13].

Le travail de ce mémoire consiste à l'étude de l'activité antibactérienne et le pouvoir inhibiteur vis-à-vis de la formation des cristaux oxalo-calcique de trois types d'eaux minérales, à savoir: les eaux thermale de Hammam El-Charef et Zelfana et l'eau de Zamzam.

A cet égard, le mémoire présente deux volets :

**Le premier** visant à étudier l'activité antibactérienne des différentes eaux minérales naturelles (celle de hammam El-Charef, hammam Zelfana et Zamzam), vis-à-vis des bactéries à Gram négatives tels que: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Shigella* sp. et une bactérie à Gram positif comme *Staphylococcus aureus*. Dans cette étude, nous avons utilisé la méthode de diffusion de disques, où ces derniers seront remplacés par des disques de papier Whatman trempés par les différentes eaux minérales à tester [14-18].

**Le deuxième** visant à étudier l'effet inhibiteur de formation des cristaux oxalo-calcique des différentes eaux minérales étudiées. Nous avons utilisé la méthode spectrophotométrique pour suivre la formation de l'oxalate de calcium qui présente un précipité colloïdal dans les solutions étudiées. Les courbes trouvées permettent de définir la formation d'oxalate de calcium, d'une façon continue au cours du temps (model turbidimétrique). Ces courbes montrent trois phases qui sont intéressantes à savoir: la nucléation, la croissance et l'agrégation cristalline dans l'étude cinétique de cristallisation [9].

# *Partie bibliographique*

# *I. Eaux minérales*

## I.1- Eaux minérales

### I.1.1- Définitions

**I.1.1.1- L'eau minérale naturelle** : D'après le législateur algérien : *l'eau minérale naturelle* : "est une eau microbiologiquement saine provenant d'une nappe ou d'un gisement souterrain, exploité à partir d'une ou plusieurs émergences naturelles ou forées, à proximité desquelles elle est conditionnée" [1]. Ces eaux minérales naturelles peuvent posséder des propriétés thérapeutiques favorables à la santé humaine [1, 19, 20]. Elles sont des eaux souterraines ayant une composition chimique constante dans la durée [21, 22]. L'eau minérale naturelle est rattachée à un seul gisement souterrain et a une action bénéfique sur l'organisme [22].

Les eaux des nappes souterraines très profondes présentent généralement une excellente qualité au point de vue microbiologique [6]. Leur composition est assez constante au sein d'une même nappe. Dans la plupart des cas, l'eau souterraine ne contient pas d'oxygène dissous [23]. Elles sont généralement exemptes de contaminants chimiques (les nitrates ou produits xénobiotiques) [24].

*L'eau minérale naturelle* est une eau qui se distingue nettement de l'eau de boisson ordinaire du fait qu'elle :

- possède une teneur assez élevée en certains sels minéraux, d'oligo-éléments et d'autres constituants [24];
- provient directement de nappes souterraines [24];
- est constante dans sa composition et stable dans son débit et sa température, compte tenu des cycles de fluctuations naturelles mineures [24];
- est caractérisée par une pureté microbiologique et la composition chimique de ses constituants essentiels [24] et enfin,
- n'est soumise à aucun traitement [25].

**I.1.1.2- L'eau thermale:** Selon la législation algérienne **l'eau thermale** est défini comme suit: "Les eaux thermales sont des eaux captées à partir d'une émergence naturelle ou d'un forage et qui, en raison de la nature spéciale de leurs principes, de la stabilité de leurs caractéristiques physiques et de leur composition chimique, peuvent avoir des propriétés thérapeutiques" [26].

Les eaux minérales naturelles outre leur caractéristique, peuvent avoir des propriétés thérapeutiques favorables à la santé humaine [1].

L'eau thermale est une eau dont la température est supérieure à la température moyenne des eaux de nappe de la région [27].

A côté de ces définitions, d'autres termes peuvent apparaître comme «**eau thermo-minérale**» ou d'autres dénominations qui ne sont pas reconnues [28].

### **I.1.2- Classification des eaux minérales:**

Les eaux minérales sont classées par leur composition chimique (quantité et nature des minéraux contenus sous forme ionique), la température et le pH [24, 29].

#### **A. Composition chimique :**

Elles sont classées en fonction de leur composition chimique en eaux [24, 29]:

- sulfurées sodiques ou calciques;
- sulfatées;
- chlorurées sodiques ou salées;
- bicarbonatées gazeuses;
- à minéralisation spécial (exemple: eaux ferrugineuses).

#### **B. Température:**

Selon les différentes degrés de température, on distingue les eaux [24, 29]:

- hyperthermales dont la température est supérieure à 50 °C;

- mésothermales ou thermales dont la température est comprise entre 35-50 °C;
- hypothermales dont la température est située entre 20-35°C;
- froides dont la température est inférieure à 20 °C.

### **I.1.3- Usages thérapeutiques de l'eau minérale :**

De nos jours, l'eau souterraine a les principales destinations ou usage suivants: domestique, agropastoral, industriel et la production minière. De son côté, son énergie géothermique est exploitée pour la production de courant électrique et pour le chauffage [30].

Pour ce qui concerne son usage thérapeutique, encore appelée crénothérapie (créno: du grec crênê "source") [24], certaines eaux souterraines sont dotées de propriétés curatives et possèdent par conséquent des applications en médecine humaine en tant qu'eaux thermales ou minérales [31].

Par ailleurs, l'utilisation de l'eau minérale comme complément alimentaire est très vaste notamment chez les personnes présentant un déficit en ion calcium (hypocalciurie) et aussi chez les patients d'hypertension [32-34].

En outre, elle est préconisée contre les maladies cardiovasculaires, grâce à sa richesse considérable en ion calcium, suivi par le magnésium et le phosphate [33,35, 36].

L'intérêt de thermalisme est préconise pour une douzaine orientations médicales [17], comme l'indique le tableau 1. Ces orientations sont fortuitement liées à la nature des produits minéraux présents dans l'eau thermal [2, 24, 29, 33, 35-44].

Tableau 1: Indications d'utilisation des différents types d'eaux minérales

Maladies	Mode d'utilisation
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Troubles urinaires:</b></li> <li>• Lithiase, cystites récidivantes, prostatite</li> <li>• Douleurs pelvipéritonéales.</li> <li>• Diurèse, pyélonéphrite.</li> </ul>	Usage interne "Absorption d'eau, douches inversées, "et externe "bains"
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Maladies digestives:</b></li> <li>• Colopathie.</li> <li>• Trouble hépatobiliaires.</li> </ul>	Cure de boisson: <b>entéroclise</b> "par contact direct de l'eau avec la muqueuse digestive"
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Maladies de la nutrition:</b></li> <li>• Obésité. • Goutte, diabète non insulino-dépendant.</li> </ul>	Usage externe
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Maladies cardio artérielles et phlébologie:</b></li> <li>• Insuffisance veineuse chronique, avec ou sans troubles trophiques (ulcères variqueux).</li> <li>• Séquelles de phlébite, voire de lymphoedème, hypertension, artérites et troubles du rythme cardiaque</li> </ul>	Eaux tièdes: Bains, douches, exercices de marche, massages de drainage
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Indications gynécologiques:</b></li> <li>• Douleurs pelviennes chroniques, infections chroniques.</li> </ul>	Balnéation, applications de cataplasmes de boues et administration locale (douches, irrigations...).
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Affections des muqueuses buccales:</b></li> <li>• Parodontopathies, stomatites chroniques et aphtoses).</li> </ul>	Bains buccaux et douches.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Dermatologie:</b></li> <li>• Eczéma atopique.</li> <li>• dermatoses chroniques au premier rang, psoriasis et dermatite atopique chronique.</li> </ul>	Douches, bains et pulvérisations
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Rhumatologie:</b></li> <li>• Lombalgie chronique, coxarthrose et gonarthrose.</li> <li>• Arthrose (des mains, pieds) et rhumatismes inflammatoires.</li> </ul>	Cure externe utilisant principalement des eaux chaudes: balnéation, d'applications de boues, de douches, de massages et d'exercices.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Affections respiratoires chroniques:</b></li> <li>• Asthme, trachéite, bronchite chronique.</li> <li>• Rhino- sinusite, otite chronique ou récidivante et pharyngite chronique.</li> </ul>	Inhalation, humages, aérosols, douches pharyngées, gargarismes et exercices respiratoires.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Situations neurologiques:</b></li> <li>• Séquelles paralytiques d'origine centrale ou périphérique neuromusculaires et neurovégétative.</li> </ul>	Usage externe

Source: [2, 24, 29, 33, 35-44]

## I.2- Caractérisations des eaux minérales

### I.2.1- Caractéristique des eaux thermo minérales de Hammam El-Charef et Zelfana :

L'Algérie est considérée parmi les pays riches en eaux minérales, grâce aux nombreuses sources qui existent dans le Nord de l'Algérie, alors que dans le Sud du pays se trouve également un important réservoir géothermique assurant exclusivement l'alimentation en eau potable, appelé Continental Intercalaire (nappe albiennaise) [8].

#### I.2.1.1- Eau minérale thermale de Hammam El-Charef:

La Wilaya de Djelfa est située dans les hauts plateaux, dans la partie centrale de l'Algérie du Nord à égale distance de ses frontières Est et Ouest. Elle est située à 300 km au Sud d'Alger, à 110 Km au Nord de Laghouât et 80 Km au Sud-Ouest de Boussaâda [45].

Elle se compose de 36 Communes regroupées en 12 Dairas parmi lesquelles la commune d'El-Charef; A 7 Km au Nord-est de cette ville, se situe la source thermale de Hammam El-Charef qui fait l'objet de notre étude (Figure 1) [45].



**Figure 1:** Hammam El-Charef  
"Altitude 1.11 Km: 34°38'22.44"N, 2°50'26.96"E élév. 1062 m"  
**Source:** [Google Earth 2011, image 16/3/2008]

### I.2.1.1.1- Climat de la région d'étude (Djelfa) :

La Wilaya de Djelfa chevauche sur trois étages bioclimatiques. Son climat est de type aride au Nord, aride à semi-aride inférieur sur la partie centrale et aride à sub-saharien au Sud; les hivers sont plutôt froids et rigoureux en comparaison avec les étés qui sont chauds et secs [45].

L'aridité du climat de la région d'étude se traduit par d'importants écarts de températures entre la moyenne des minimas et celle des maximas (8 à 21 °C) et par une pluviométrie insuffisante, de l'ordre de 317 mm par an et une irrégularité parfois très marquée de 150 à 380 mm [45].

### I.2.1.1.2- Caractéristiques de l'eau thermale de Hammam El-Charef :

La composition chimique des eaux souterraines est dépendante de la composition lithologique des couches traversées et du temps de séjour des eaux. Cette interaction influe sur la teneur de certains éléments minéraux majeurs tels les ions de calcium, les ions de magnésium et les ions de sulfate. [46].

Selon **CHIBANE et al. (2010)**, les ressources en eaux souterraines dans cette région proviennent de quatre aquifères distincts, il s'agit des:

- Grès Barrémiens;
- Grès de l'Albien;
- Calcaires karstiques du Turonien et les dépôts de comblement Néogène-quaternaire [45].

L'eau de Hammam El-Charef, provient d'aquifères profonds et qui indiquent que l'on est en présence d'eaux anciennes qui se sont formées dans des périodes plus humides que celles d'aujourd'hui dont l'âge pourra être confirmé par la datation au carbone 14 [47].

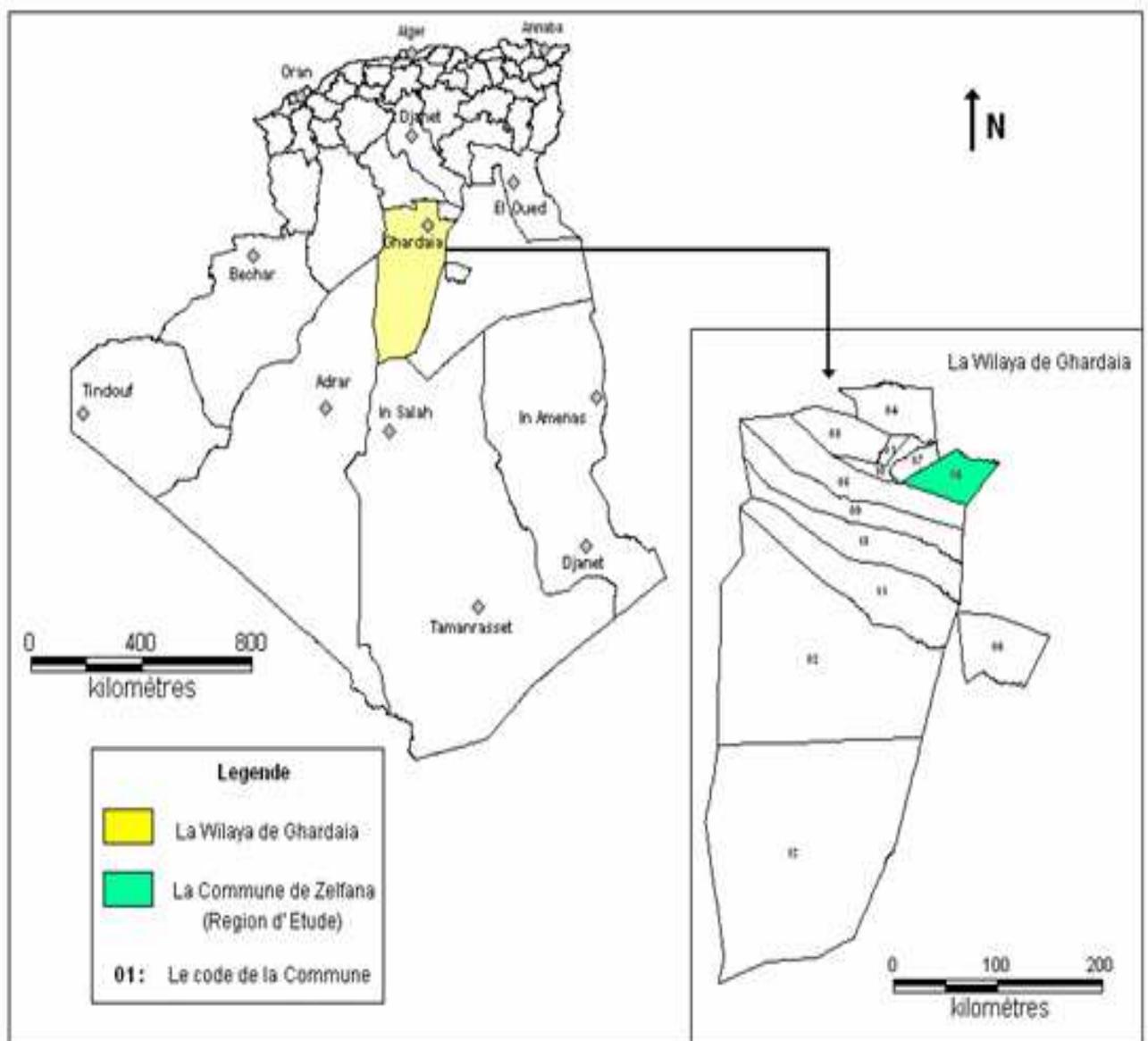
Les eaux de cette nappe ont des conductivités variant de 430 à 1410  $\mu\text{S}/\text{cm}$  [19]. Malgré cette variabilité, elles se répartissent en deux familles principales; chlorurée et sulfatée calcique et la magnésienne [43].

D'après l'analyse chimique réalisée en 2001 sur l'eau d'El-Charef [47], les concentrations de quelques éléments minéraux étaient comme suit: 280 mg/l pour les Sulfates, 261.34 mg/l pour le Calcium et 57.95 mg/l pour le Magnésium. Le pH varie de 6.50 à 6.80. Quant à la température, elle varie de 25 à 35 °C et la conductivité se situe à 2541  $\mu\text{s}/\text{cm}$ .

### I.2.1.2- Eau minérale thermique de Hammam Zelfana:

La Wilaya de Ghardaïa se situe dans le Sahara Nord-central algérien (Fig.2). Elle comporte 13 communes parmi lesquelles la commune de Zelfana, dont l'eau thermique qui fait également l'objet de notre étude [48]. Cette commune est située au Sud-est de Ghardaïa et s'étend sur une superficie de 2220 km<sup>2</sup>, à 480 mètres d'altitude [48].

Zelfana située à quelque 65 km de Ghardaïa et réputée pour ses eaux thermales aux diverses propriétés curatives [48].



**Figure 2 :** Situation géographique de la commune de Zelfana (Ghardaïa) [48].

### **I.2.1.2.1- Climat de la région d'étude (Zelfana) :**

La région de Zelfana se caractérise par un climat saharien de type sec. Les hivers sont courts et rigoureux et les étés sont longs et chauds [49]. Les précipitations annuelles sont très faibles allant de 100 à 200 mm/an et les températures extrêmes peuvent atteindre 50°C [49].

Ces caractéristiques climatiques se répercutent directement sur l'hydrographie saharienne entraînant la rareté des eaux superficielles et l'importance des eaux souterraines. Ces régions sont connues par leur climat aride caractérisé par le manque de précipitation (160 mm /an) [49].

### **I.2.1.2.2- Caractéristiques de l'eau thermale de Hammam Zelfana:**

Les eaux thermales de Zelfana sont captées à partir du continental intercalaire. Les caractéristiques de profondeur, de température et de salinité sont spécifiques au type de la formation géologique du continental intercalaire dans la région d'étude [48]. Le réservoir de ce dernier présente à (Zelfana) un gradient du Sud-ouest vers le Nord-est de 400 à 1000 m de profondeur [48]. Hammam Zelfana présente à lui seul un débit de l'ordre de 360 l/s [48].

Selon **CHIBANE et al. (2010)**, la qualité chimique des eaux souterraines du Sahara septentrional (Ghardaïa) est du type sulfatochlorurées et elle est fortement minéralisée dont la concentration est de 200,50 mg/l pour le calcium, 170,95 mg/l pour le magnésium et 610,530 mg/l pour le sulfate [45].

Les eaux thermales de la nappe sont de type chlorurées sodiques se caractérisant par une salinité moyenne de l'ordre de 1g/l [48] et une température atteignant 40°C [50].

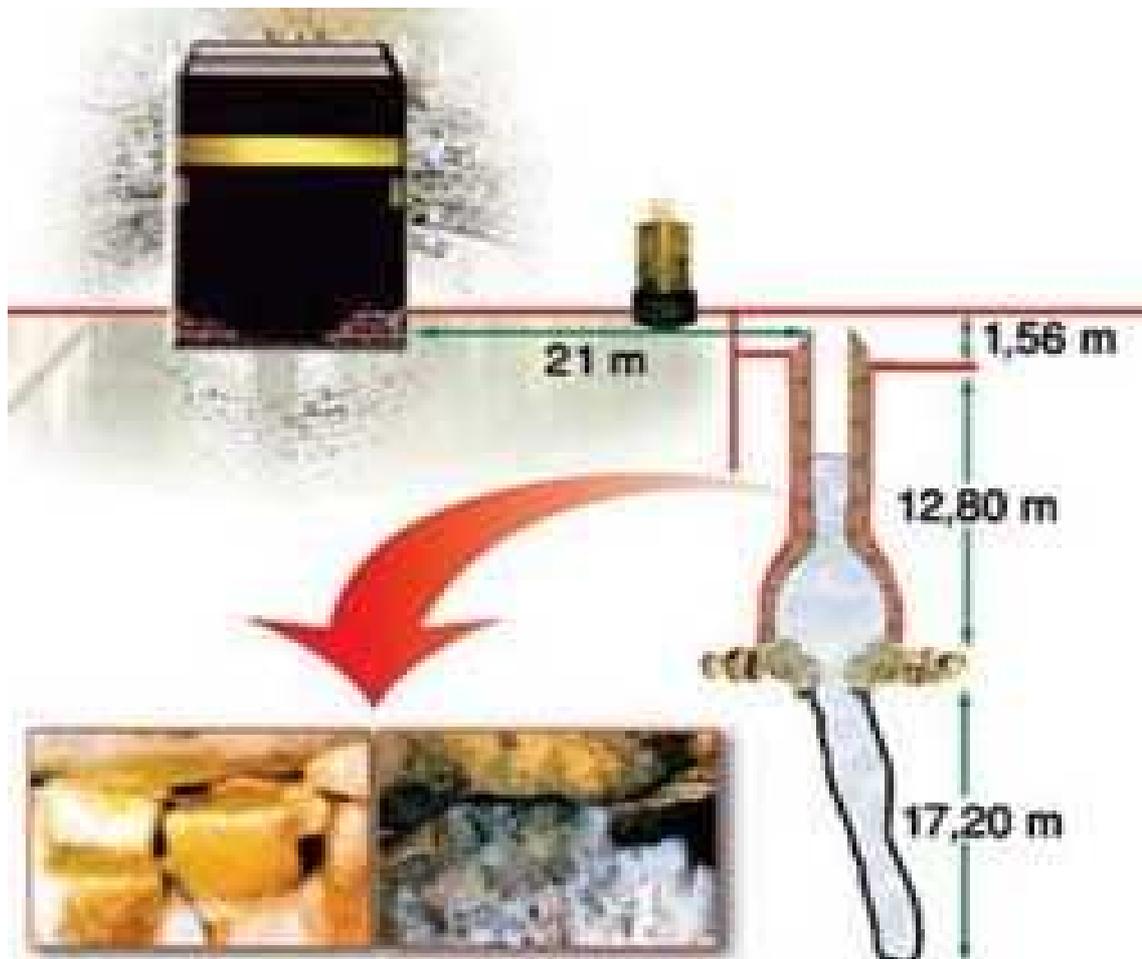
D'après les analyses chimiques réalisées en 2001 sur l'eau de Zelfana [47], les résultats montrant que le niveau des concentrations des ions sont comme suit : 290 mg/l pour les ions de sulfate, 159 mg/l pour les ions de calcium, 52,52 mg/l pour l'ion de magnésium. Le pH varie de 7,43 à 6,80, la température oscille entre de 40 et 42°C et la conductivité est de 1915  $\mu\text{s}/\text{cm}$ .

### I.2.2- Eau minérale de Zamzam

La ville de Mecque est située en Arabie Saoudite à 70 Km au sud de Geddah à côté de la mer rouge, à l'attitude  $21^{\circ}26'48''N$  et longitude de  $39^{\circ}53'46''E$  avec élévation de 1399m à la surface de la mer.

Le puits de Zamzam qui fait également l'objet de notre étude est situé dans la ville de la Mecque, plus précisément à l'intérieur de la grande mosquée sainte "Haram sacré" à environ 20 mètres du côté Est de la Kaaba [51-58].

Le puits de Zamzam s'enfonce jusqu'à une profondeur d'environ 31,5 m de profondeur, avec un diamètre interne s'étendant de 1,08 à 2,66 mètres [10].



**Figure 3:** Localisation de puits de Zamzam.

### I.2.2.1 Climat de la région d'étude (l'Arabie Saoudite) :

Le climat à l'Arabie Saoudite est désertique sec en hiver avec une faible précipitation, les températures sont élevées pendant toute l'année et peuvent grimper jusqu'à la barre de 50°C en été [12].

### I.2.2.2 Caractéristiques de l'eau minérale de Zamzam:

La qualité chimique de l'eau de Zamzam est du type sulfato-calcique. Elle est connue par sa conductivité élevée, sa forte minéralisation environ 2000 mg/l et un pH alcalin [54, 58]. L'analyse chimique de quelques éléments minéraux donne les concentrations de l'ordre de 114 mg/l pour le calcium, 27.97 mg/l pour le magnésium, 147.50 mg/l pour les ions de chlore, 285 mg/l pour les ions de carbonate et 610,530 mg/l pour les ions de sulfate. Le taux des solides dissous se situe à 1011 mg/l.

Les microbes ne peuvent pas survivre dans l'eau de Zamzam parce qu'elle contient une concentration en fluorure avoisinant 0.72 mg/l, qui a une action germicide efficace contre les germes pathogènes [12, 13].

D'après l'OMS, l'eau de Zamzam contient des qualités curatives dues à son contenu plus élevé en sels minéraux [54, 13].

En outre, elle peut jouer également un rôle critique dans l'inhibition de la formation des cristaux oxalo-calciques à cause de leur contenu en sels minéraux ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , et  $\text{SO}_4^{--}$ ) [10].

*II. Généralité sur l'activité  
antibactérienne et la lithiase urinaire*

## II.1- Généralités sur l'activité antibactérienne

### II.1.1- Souches testées

Ce sont généralement des souches bactériennes responsables des intoxications alimentaires résultant de l'ingestion d'un aliment contaminé par:

a) *Escherichia coli* : C'est une Enterobacteriaceae, bactérie à Gram négative vivant couramment dans l'intestin de l'homme et de l'animal à sang chaud. Elle est responsable des gastroentérites, des diarrhées, des méningites et parfois provoque également des infections au niveau du tractus urinaire [59].

b) *Pseudomonas aerogenosa* : Elle appartient à la famille des Pseudomonaceae, c'est une bactérie à Gram négative, en forme de bâtonnet, aérobie stricte, non sporulée et très mobile grâce à un cil polaire. En outre, c'est un germe aquophile et ubiquiste rencontré dans différents supports de contamination comme : les sols, les végétaux et les eaux (douces et marines). Elle est responsable des infections nosocomiales [59].

c) *Staphylococcus aureus* : Elle appartient à la famille de Micrococcaceae, c'est une bactérie en forme sphérique "cocci" à Gram positive immobile, aérobie ou anaérobie facultative, catalase(+), coagulase(+) et oxydase(-). C'est un germe ubiquiste, affectant aussi bien l'homme et d'autres mammifères. Elle est responsable des infections pyogènes de la peau, des muqueuses, mais aussi osseuses et digestives [59].

d) *Salmonella typhi* : C'est une Enterobacteriaceae, bactérie en forme de bâtonnet à Gram négative, anaérobie facultative. Elle est responsable de la fièvre typhoïde [59].

e) *Shigella sp.* : C'est une Enterobacteriaceae bactérie en forme de bâtonnet à Gram négative. Elle est responsable de la shigellose qui est une infection de l'intestin [59].

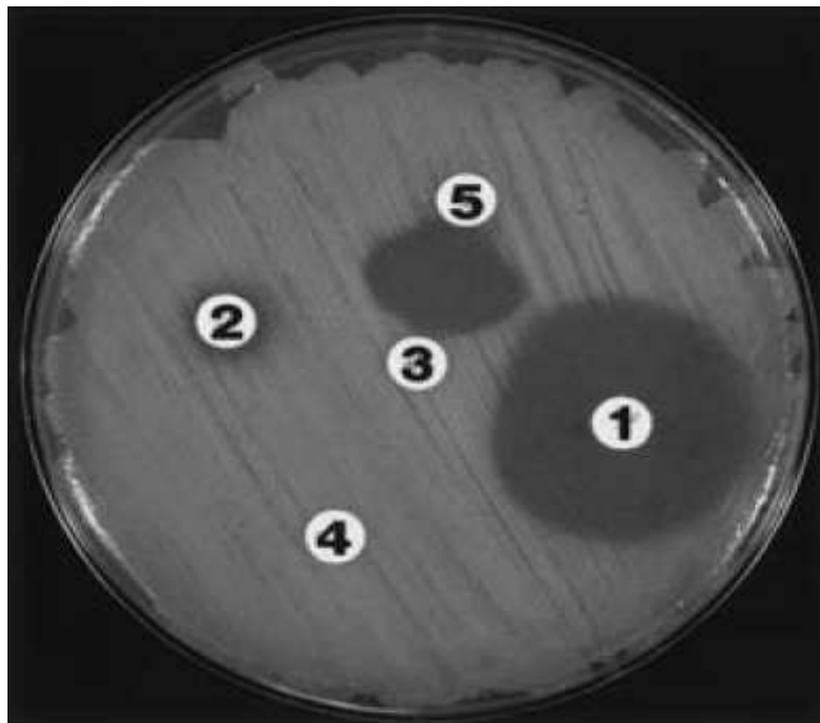
f) *Proteus mirabilis* : Elle appartient à la famille des Enterobacteriaceae caractérisée par leur grande mobilité et peut induire des infections des voies urinaires (dans 60% des cas d'infections urinaires), des infections des voies respiratoires et cutanées [59].

### II.1.2 - Test de l'activité antibactérienne

Les effets inhibiteurs des différentes espèces de plantes aromatiques et des épices sont connus depuis longtemps. Récemment, des études ont montré l'activité antimicrobienne de plusieurs aliments comme le miel et les eaux minérales.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne, parmi lesquelles nous citons :

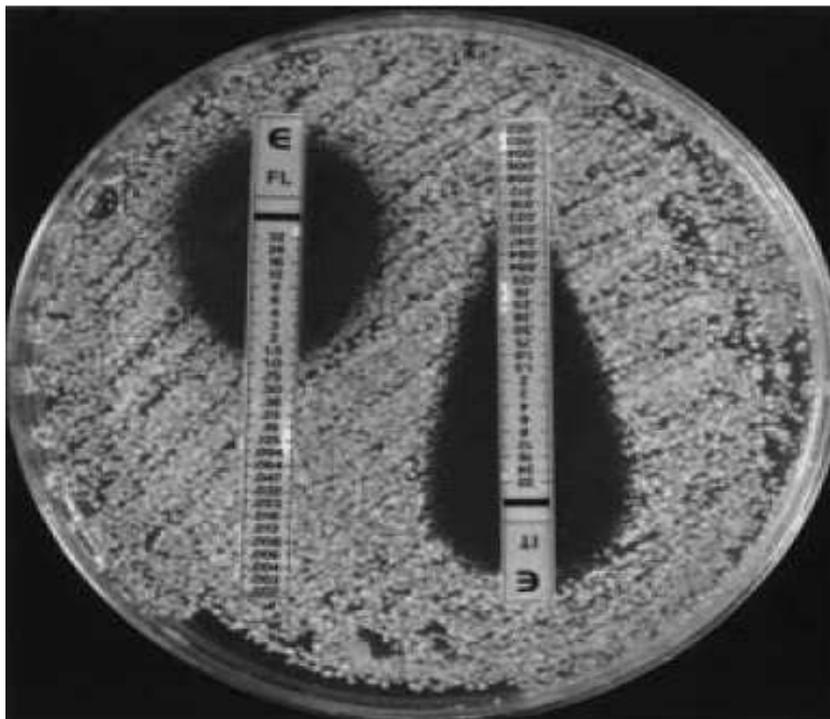
a) **Méthode de diffusion des disques:** C'est la méthode la plus utilisée où l'ensemencement de la souche bactérienne se fait par inondation d'une gélose Muller-Hinton et les disques de papier filtre imbibés dans les échantillons à tester sont placés à la surface de la gélose. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, des zones d'inhibition apparaissent autour des disques [60-63], comme montre la figure 4.



**Figure 4 :** Visualisation des zones d'inhibition selon la méthode de diffusion des disques [5].

b) **Epsilon test:** Elle est semblable à la méthode précédente sauf cette fois-ci que les disques sont remplacés par des bandes en nylon possédant un gradient linéaire antimicrobien

lyophilisé. Cette méthode a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) où la zone (en forme de poire) d'inhibition d'ellipsoïde croisé la bande [63], comme indique la figure 5:



**Figure 5 :** Zones d'inhibition selon la méthode d'E-test [63].

**c) Méthode des puits sur milieu solide:** Après l'étalement de la souche bactérienne sur le gélose de Mueller Hinton (MH), suivi d'une incubation à 37° C pendant 30 mn, des puits ont été creusés stérilement dans le milieu (MH) puis remplis par l'échantillon à tester [64]. Après l'incubation à 37°C pendant 24 heures, une zone d'inhibition autour de ces puits indique la présence d'une activité antibactérienne [64].

**d) Méthode de micro-dilutions:** Elle a été effectuée par des essais de micro-titrage sur des plaques de microtitration. Chaque puits de plaque de microtitration contient la solution à tester et des solutions diluées de bactéries cultivées pendant 12 heures. Ces plaques sont incubées à 37°C pendant 24 heures. La croissance microbienne est évaluée par la mesure de l'absorbance à 620 nm en utilisant un lecteur de microplaque (Multiskan Ascent, Thermo Fisher Scientifique) [65].

**e) Méthode de diffusion sur Agar:** Des suspensions bactériennes sont mélangés avec l'Agar, après la gélification de l'agar, des puits sont créés dans lesquels la solution testée est introduite via des micropipettes jaugées. Après une incubation à 37°C, les diamètres d'inhibition sont mesurés [65].

## II.2- Généralités sur la lithiase urinaire

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente affectant entre 4 et 18% de la population mondiale selon les études et les pays [66-68].

C'est une maladie qui touche les pays développés ainsi que ceux en voie de développement tels la Turquie, l'Inde et le Vietnam [69]. Elle consiste en la présence d'un ou de plusieurs calculs dans les voies excrétrices urinaires (cavités rénales, uretères, vessie et urètre) [70] et dont le rein gauche est plus souvent concerné que celui du côté droit [69].

### II.2.1- Définition:

La lithiase est définie comme le résultat d'une accumulation anormale des cristaux à l'intérieur des voies urinaires. Cette précipitation se fait le plus souvent à partir des constituants normaux de l'urine [71]. La lithiase peut survenir par :

- diminution du volume urinaire;
- augmentation du débit urinaire des substances susceptibles de précipiter;
- variation du milieu chimique et organique [71].

### II.2.2- Calculs lithiasiques:

On entend par les constituants lithiasiques toutes les espèces de molécules, cristallines ou non, identifiées dans les calculs [72]. Ces derniers peuvent avoir différentes combinaisons de sels. La fréquence des urolithiases selon la composition est indiquée dans le tableau 2. Dans la plupart des cas, les calculs sont à base de calcium [4].

Dans les pays industrialisés, l'oxalate de calcium est présent dans plus de 70% des calculs urinaires [3, 5, 73].

L'étude réalisée par **OUSSAMA et al. (2000)**, sur un effectif de 123 hommes et 60 femmes, est identifiée que l'oxalate de calcium était le plus fréquent (86.4%) [67].

Tableau 2 : Types et fréquence des lithiases.

Type	Fréquence (%)	
Oxalate de calcium (1)	36-70	70-88
Phosphate de calcium (2)	6-20	
Mixte (1+2)	11-31	
Struvite	6-20	
Acide urique	6- 17	
Cystine	0,5-3	
Autres	1-4	

Source: [4, 5]

Selon SOULA (2009), 83% des 53 patients consultés présentent des calculs de type oxalo-calcique pur, par contre 5.6% ayant des calculs de type mixte (oxalate et phosphate de calcium) [7].

D'après PARENT *et al.* (1999), l'oxalate de calcium est retrouvé dans les calculs sous deux phases cristallines distinctes : l'oxalate de calcium mono hydraté  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (ou whewellite) (photo 1) et l'oxalate de calcium di-hydraté  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (ou weddellite) (Photo 2) [73].



Photo 1 : Calcule de type WHEWELLITE [16].



**Photo 2 :** Calcule de type WEDDELLITE [16].

### II.2.3- Différents type de lithiase:

Il existe différents catégories de lithiases présentant des compositions différentes en sels minéraux [70].

#### a) Lithiase calcique :

Les lithiases calciques sont beaucoup plus fréquentes; plus de 70% des lithiases rénales dont les calculs sont composés d'oxalate de calcium pur ou de mélange oxalate et phosphate de calcium, rarement de phosphate de calcium pur [74, 75].

On distingue deux types de lithiase calcique :

– Oxalique : Près de 80% des calculs urinaires contiennent de l'oxalate [74]. L'hyperoxalurie se définit comme une élimination urinaire d'oxalate supérieure à 50 mg/24 h sous un régime contrôlé en oxalate. La norme varie entre 20 à 50 mg / 24 heures [72].

– Phosphatique : Elle se définit comme une élimination excessive des phosphates dans les urines. Les valeurs normales oscillent entre 600 à 1000 mg / 24 heures. Toute valeur supérieure à 1200 mg / 24 heures est considérée comme pathologique [72].

- b) Lithiase phospho-ammoniaco-magnésienne: les calculs de phosphates ammoniaco-magnésiens sont souvent d'origine infectieuse 5 à 10% [72, 76, 77].
- c) Lithiase urique: Les calculs dominants sont composés de l'acide urique [72].
- d) Lithiase purique: les calculs sont formés sous l'influence de l'acide purique [72].
- e) Lithiase orotique: Les calculs constituent de l'acide orotique [72].
- f) Lithiase d'urate acide d'ammonium: Ce type de lithiase dépend principalement des conditions d'environnement et des habitudes nutritionnelles, ce qui explique qu'elle est devenue exceptionnelle dans les pays industrialisés [72].
- g) Lithiase cystinique: C'est une variété rare de lithiase héréditaire et ne représente que 1% des calculs urinaires [72, 75-78].

#### **II.2.4- Facteurs causals:**

La lithiase calcique résulte de l'interaction entre des facteurs intrinsèques non modifiables tel que l'âge, le sexe et les maladies héréditaires, et extrinsèques modifiables (nutritionnels, médicaments, climatiques). Le tableau 3 regroupe les facteurs favorisant l'apparition de la lithiase rénale et ses fréquences [5, 7, 67, 68, 69, 72, 78-86].

Tableau 3 : Principales causes des calculs rénaux

Facteurs causals	Fréquence en %
<p><b>1. Intrinsèques:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Influence de l'âge et le sexe: L'homme est un peu plus touché que la femme, chez l'homme les calculs oxalo-calciques représentant 85% du total des calculs rénaux observés à l'âge de 30 à 45 ans, tandis qu'ils représentent environ 50% du total des lithiases chez la femme dans toutes les tranches d'âge.</li> <li>• Maladies génétiques et héréditaire: Malformations de l'appareil urinaire, hypercalciurie familiale, hyperoxalurie primaire, cystinurie congénitale, acidose tubulaire, déficits enzymatiques de la voie des purines, anomalies des canaux chlore.</li> </ul>	<p>~ 10</p> <p>~ 5</p>
<p><b>2. Extrinsèques:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mauvaises habitudes alimentaires: défaut de boisson, excès d'apports en protéines animales, en sel, en produits laitiers, en aliments riches en oxalate ou en purine, excès d'apports ou déficits vitaminiques: vitamine D, vitamine C, vitamine B12</li> <li>• Médicaments : de traitements de l'obésité, ils semblent avoir un effet sur la progression de l'insuffisance rénale.</li> <li>• Infections urinaires et intestinales: entérobactéries notamment <i>Pr. mirabilis</i>, <i>E. coli</i>.</li> <li>• Climatique et variation saisonnière: l'exposition au soleil augmentant la production de vitamine D, ce dernier jeu un rôle majeur pour augmenter l'absorption intestinale du calcium</li> </ul>	<p>~ 60</p> <p>~ 1</p> <p>~ 10</p> <p>~ 10</p>
<p><b>3. Autres facteurs causals</b></p>	<p>~ 4</p>

Source: [5, 7, 67, 68, 69, 72, 78-86].

#### II.2.4.1- Influence de la qualité de l'eau de boisson:

L'influence de la teneur en calcium de l'eau de boisson sur la fréquence de la lithiase calcique a été longtemps discutée [72].

**DJAOUD-HARRACHI et al. (2004)**, ont montré que les eaux de boisson ont un effet préventif sur le risque de cristallisation de l'oxalate de calcium; L'eau très faiblement calcique possède un grand pouvoir inhibiteur sur la cristallisation oxalo-calcique (80,58 %) et elle retarde la croissance des cristaux d'oxalate de calcium [11].

D'après une étude pratique, (en Europe), l'eau calcareuse par rapport à l'eau douce a été associée à une augmentation significative (de 50%) de la concentration urinaire en calcium, en l'absence des changements de l'excrétion d'oxalate. Cette étude suggère que, dans l'approche préventive à la lithiase calcique, la prise de l'eau douce est plus souhaitable à l'eau calcareuse, puisqu'elle a été associée à un risque inférieur pour la répétition des pierres de calcium [87].

D'après l'enquête de **Thomas et Thomas** en **2005**, sur l'eau thermo minérale de "Vittel", ils ont montré que l'orientation primaire de cette eau est de "soigner les reins", et aussi elle peut être bénéfique quelle que soit la pathogénie de la néphropathie grâce à la forte teneur en magnésium [2].

L'étude réalisée en Allemagne (2006) sur 34 patients (Pour la lithiase oxalo-calcique), après l'administration deux types d'eaux minérales l'une était riche en magnésium et autre non, la conclusion montre que l'apport hydrique de magnésium permet la formation des complexes solubles avec l'oxalate [7].

Ainsi que les eaux riches en sulfate de magnésium ont l'avantage d'être diurétiques et laxatives [70].

### **II.2.5- Cristallisation oxalo-calcique:**

La formation d'une lithiase est possible lorsque la concentration des sels lithogènes dépasse leurs solubilités, ce qui entraînera la formation de cristaux. Si ces cristaux demeurent suffisamment petits, ils seront excrétés de façon normale et n'auront pas de conséquence clinique. Dans le cas contraire, la croissance et l'agrégation des cristaux entraîneront la formation de lithiases [4].

#### **II.2.5.1- Etapes de la formation des calculs (Cristallisation):**

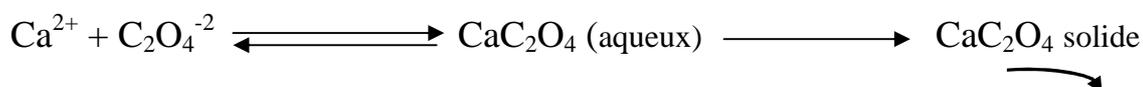
La cristallisation est l'ensemble des processus conduisant à la formation de calculs à partir d'une solution sursaturé [72, 7, 9]. Ces calculs se forment en trois étapes:

– **1<sup>ère</sup> étape : La nucléation**, Elle se caractérise par apparition de petits cristaux de taille inférieur à 1 µm appelés germes cristallines, dont le nombre et la taille des germes sont proportionnellement positifs avec le degré de saturation [5, 7, 9,72].

– **2<sup>ème</sup> étape : La croissance cristalline**, Elle correspond à l'augmentation de la taille des petits cristaux et se transforment en cristaux de taille situé entre 1 à 100 µm [66, 69]. La croissance se fait par adsorption des éléments à partir de la solution dont la sursaturation élevée n'est pas nécessaire mais elle augmente la vitesse de la croissance cristalline [9].

– **3<sup>ème</sup> étape : L'agrégation cristalline**, L'apparition des particules de taille supérieure à 100 microns est marquée. Cette étape est liée au nombre et à la taille des cristaux est proportionnel au degré de sursaturation. C'est un processus rapide: elle se fait par agglutination de plusieurs cristaux qui met en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de charge superficielle des cristaux [7, 72].

La réaction de la précipitation oxalo-calcique s'écrit:



## II.2.6- Inhibiteurs de cristallisation

Il existe normalement, dans l'urine, un équilibre entre promoteurs et inhibiteurs de cristallisation [4]. La formation des calculs résulte d'un déséquilibre entre des deux facteurs (promoteurs et inhibiteurs) de la lithogénèse [7].

– Les ions participant à la formation des espèces insolubles sont appelés promoteurs de la cristallisation [78]: L'oxalate, calcium, phosphate, ammonium, urate, sodium, cystine, dihydroxy-2-8 adénine et xanthine [72].

– Un inhibiteur a pour rôle d'empêcher, de ralentir ou de réduire l'une ou plusieurs phases de cristallisation [72]. Il agit soit par compétition chimique ou par modification de la force ionique [72].

On peut les classer en deux groupes selon leur poids moléculaires (micro et macromoléculaires) et en quatre groupes suivant leur effets sur la cristallisation. Certains produits peuvent exercer simultanément plusieurs actions à des degrés divers [72].

### II.2.6.1- Inhibiteurs de la germination cristalline:

– Le magnésium par compétition avec le calcium, il forme avec l'oxalate des complexes solubles. Il en résulte une diminution de la sursaturation urinaire en oxalate de calcium [71, 88]. D'après **BASAVARAJ et al. (2007)**, le magnésium réduit le nombre de cristaux oxalo-calcique à raison de 50%, dans une solution sursaturée (de concentration 2mmol/l) d'oxalate de calcium [8].

– Le citrate est l'un des principaux inhibiteurs de la cristallisation de l'oxalate et/ou phosphate de calcium [74, 89, 90]. L'étude *in vitro* de **DRONGELON VAN et al. (1998)** montre que l'ion de citrate possède une action inhibitrice très puissante [69]. Il forme un complexe avec les ions de calcium [74], et capable de former avec les ions phosphate un ion complexe phosphocitrate qui possède une activité inhibitrice vis-à-vis des cristaux de phosphate de calcium [91, 92].

– Les sulfates sont décrits comme ayant un effet préventif contre la cristallisation [93]. Le tableau 4 résumé les inhibiteurs de la germination cristalline [72].

**Tableau 4 :** Inhibiteurs de germination cristalline

Inhibiteurs	Effet sur la formation des cristaux	
	Phosphate de Calcium	Oxalate de Calcium
Zinc	+	+
Magnésium	+	+
Aluminium	+++	+
Citrate	++	+++
Isocitrate	++	+
Fluorure	+	ND
Pyrophosphate	+++	+
Macromolécules		++

**Note:** +: Inhibition modéré, ++: Inhibition marqué, +++: Forte inhibition

**Source:** [72]

### II.2.6.2- Inhibiteurs de la croissance cristalline:

- Le citrate et pyrophosphates qui sont de bons exemples d'inhibition de la croissance cristalline [9].
- Les inhibiteurs macromoléculaires tels les glycosaminoglycans, mucoprotéines et mucopolysaccharides qui interviennent directement au niveau des sites de croissance cristallins, selon un mécanisme d'absorption réversible et sont susceptibles d'interférer ainsi avec le processus lithogène [94].
- Les oligo-éléments qui se comportent surtout comme des inhibiteurs de croissance vis-à-vis des cristaux phosphocalciques tels le zinc (puissant inhibiteur), le fer, le plomb, le manganèse, le cadmium, le cobalt et le chrome ou encore le béryllium qui sont efficaces à de très faibles concentrations [71]. Le tableau 5 résume les inhibiteurs de la croissance cristalline [72].

**Tableau 5 :** Inhibiteurs de croissance cristalline

Inhibiteurs	Effet sur la formation des cristaux	
	Phosphate de Calcium	Oxalate de Calcium
Magnésium	+	+
Citrate	+	+-
Citrate-Al (III)	+++	-
Citrate-Fe (III)	++	+
Citrate-Cr (III)	+	-
Isocitrate	++	ND
Phosphocitrate	+++	++
Fluorure	+	ND
Pyrophosphate	++	+-
Glycosaminoglycans	+	++

**Note:** +: Inhibition modéré, ++: Inhibition marqué, +++: Forte inhibition,+-: Inhibition faible,

ND: Non déterminer.

**Source:** [72]

### II.2.6.3- Inhibiteurs de stabilisation de la phase cristalline:

- Les ions magnésium, pyrophosphates et carbonate qui stabilisent les phosphates amorphes de calcium retardent ou bloquent leur transformation en espèces cristallines [86].
- Les acides glycuronique, ascorbique, pyrique, tartrique et lactique qui agissent sur la solubilité du carbonate et du phosphate de calcium [71]. Le tableau 6 résume les stabilisants de la phase cristalline [72].

**Tableau 6 :** Stabilisants de la phase cristalline

Inhibiteurs	Effet sur la formation des cristaux	
	Phosphate de Calcium	Oxalate de Calcium
Magnésium	++	++
Carbonate	++	ND
Pyrophosphate	++	-

**Note:** ++: Inhibition marqué, (-): pas d'inhibition

**Source:** [72]

### II.2.6.4- Inhibiteurs de l'agrégation cristalline:

Parmi les inhibiteurs de l'agrégation cristalline, on distingue les citrates, les pyrophosphates qui perturbent les phénomènes d'attraction électrique entre les ions en bloquant les sites de croissance [9]. Le tableau 7 résume les inhibiteurs de l'agrégation cristalline [72].

**Tableau 7 :** Inhibiteurs de l'agrégation cristalline

Inhibiteurs	Effet sur la formation des cristaux	
	Phosphate de Calcium	Oxalate de Calcium
Citrate	+	+++
Pyrophosphate	+	++
Glycosaminoglycans	+	ND

**Note:** +: Inhibition modéré, ++: Inhibition marqué

**Source:** [72]

### II.2.7- Etude de la cristallisation avec et sans inhibiteurs par turbidimétrie:

La turbidimétrie est une méthode optique cinétique qui mesure la variation de l'absorption en fonction de temps [9]. La cristallisation a été étudiée par le modèle turbidimétrique à cause des avantages suivants:

- simple à mettre en œuvre;
- bonne reproductibilité;
- suivie de la cristallisation d'une façon continue;
- nette représentation pour les trois phases de la cristallisation [9].

Les facteurs agissant sur le modèle turbidimétrique sont [9]:

- la concentration des substances à étudier;
- la vitesse avec laquelle, on ajoute le réactif;
- l'agitation;
- la température;
- la présence de substances étrangères;
- et en fin le pH.

#### II.2.7.1- Pourcentage d'inhibition (I %):

Le pourcentage d'inhibition I (%) est calculé par la formule suivante [95]:

$$I \% = 1 - \frac{P_{AI}}{P_{SI}} \times 100$$

Avec:

I (%): Pourcentage d'inhibition.

$P_{AI}$  : Pente turbidimétrique avec inhibiteur.

$P_{SI}$  : Pente turbidimétrique sans inhibiteur.

### II.2.7.2- Allure générale des courbes turbidimétriques:

Les cristaux formés dans la solution changent en fonction de temps. Au début, il s'agit des germes qui sont des petits cristaux dans la phase de nucléation, ces derniers croissent après un certain moment et s'agrègent [9].

L'allure générale des courbes obtenues par la turbidimétrie est représentée dans la figure 6 :

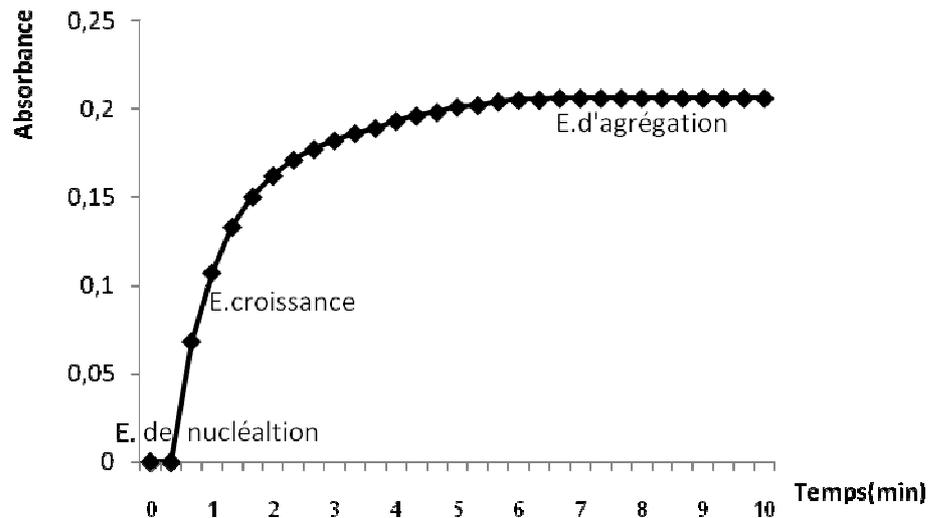


Figure 6 : Allure générale des courbes turbidimétriques.

D'après ABDELMALEK F. (1998), La courbe peut être divisée en trois parties [9]:

- **Première:** Correspond à l'étape de la nucléation cristalline.
- **Deuxième:** Correspond à l'étape de croissance cristalline, caractérisée par la pente turbidimétrique, correspond à la partie linéaire de la courbe.
- **Troisième:** Correspond à l'étape de l'agrégation cristalline.

# *Partie Expérimentale*

# *I. Matériels et méthodes*

## I.1- Objectifs

L'objectif principal de notre travail se résume en la détermination de l'activité anti bactérienne et anti-lithiasique des trois types d'eau minérale : Eaux minérales naturels de Hammam El-Charef, de Hammam Zelfana et de Zamzam", où nous avons travaillé selon les axes suivants : La détermination des paramètres physicochimiques et bactériologiques ; et l'activité antibactérienne, ainsi que l'activité anti-lithiasique des trois eaux minérales.

### ◆ Prélèvements

Les prélèvements qui sont étalés entre juin 2011 et 2012.

**Tableau 8** : Dates des prélèvements des eaux minérales et leurs destinations

Lieux de prélèvement des eaux minérales	Date de prélèvement	Destination	Analyses effectuées
Hammam El-Charef	27/06/2011	Laboratoire de l'ADE à Laghouât	- Paramètres physicochimiques et bactériologiques
	13/03/2012	Laboratoire de l'hôpital de Djelfa	- Activité antibactérienne
	14/04/2012	Laboratoire de l'université de Djelfa	- Activité anti oxalo-calcique
	24/06/2012		
Hammam Zelfana	29/06/2011	Laboratoire de l'ADE à Laghouât	- Paramètres physicochimiques et bactériologiques
	13/03/2012	Laboratoire de l'hôpital de Djelfa	- Activité antibactérienne
	23/04/2012	Laboratoire de l'université de Djelfa	- Activité anti oxalo-calcique
	25/06/2012		
Puits de Zamzam	24/06/2012	Laboratoire de l'université de Djelfa	- Activité anti oxalo-calcique
	06/07/2012	Laboratoire de l'ADE à Laghouât	- Paramètres physicochimiques et bactériologiques
		Laboratoire de l'hôpital de Djelfa	- Activité antibactérienne

Le protocole expérimental de notre étude est représenté sur le diagramme de la figure 7

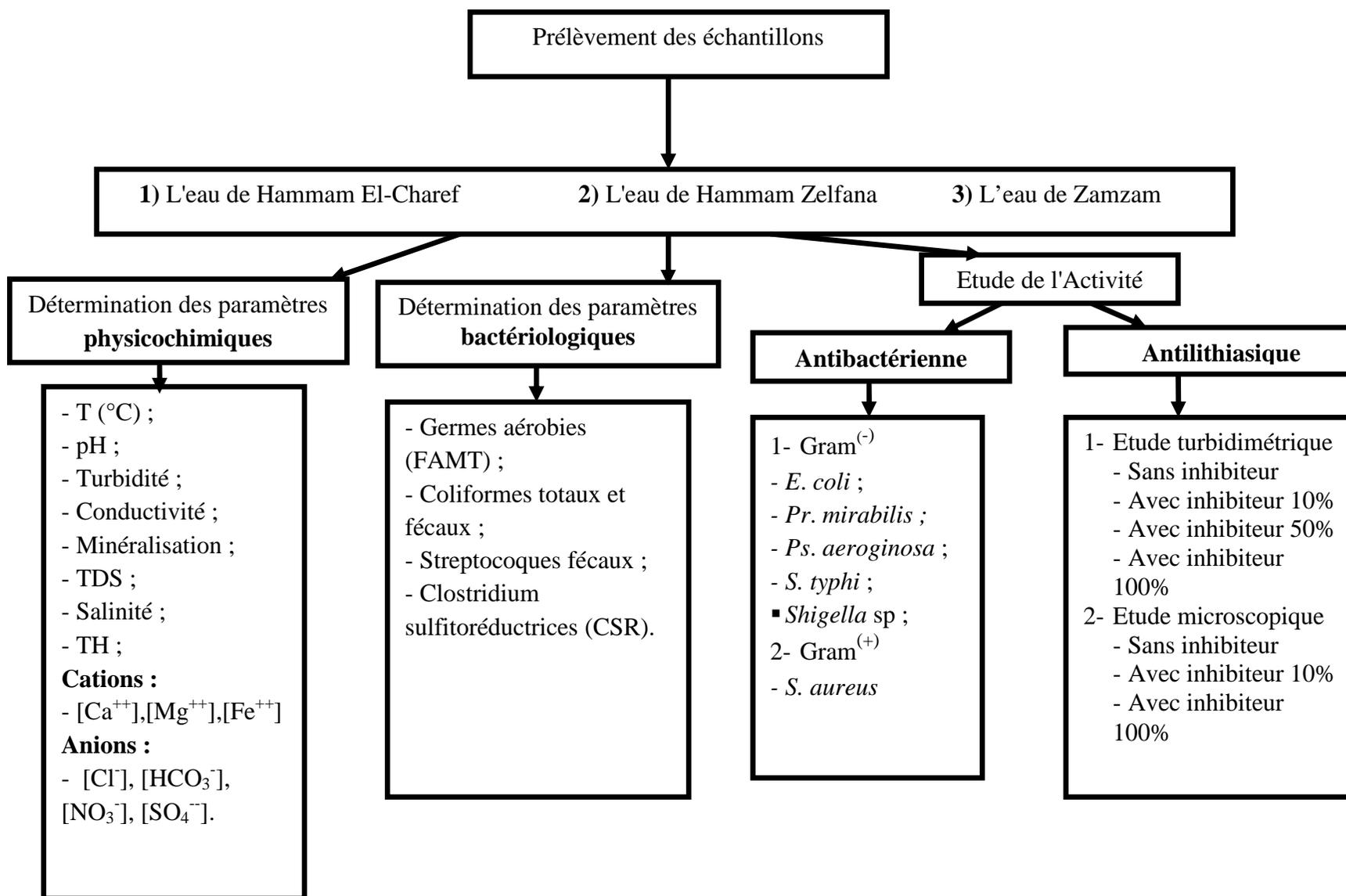


Figure 7 : Diagramme montrant le protocole expérimental.

## **I.2- Méthodologie**

### **I.2.1- Prélèvement :**

Des flacons en polyéthylène sont rincés avec l'acide chlorhydrique dilué (1/10), puis avec de l'eau distillée plusieurs fois ensuite avec de l'eau à analyser lors de prélèvements à plusieurs reprises. Après lavage et rinçage, les tubes sont immédiatement placés à l'obscurité pour la fiabilité des résultats [96-98].

Les flacons sont étiquetés systématiquement en montrant plusieurs paramètres sont relevés au moment de la collecte : l'origine de l'eau, l'adresse, lieu du prélèvement et la date.

- a. Odeur et couleur :** l'examen sensoriel est pris immédiatement et sur place [99].
- b. Température :** elle est mesurée immédiatement est pris au moment de la collecte [99].

### **I.2.2- Méthodes d'analyse**

**I.2.2.1- Détermination des paramètres physicochimiques :** Pour déterminer les différents paramètres physico-chimiques des trois eaux minérales, nous avons utilisé l'appareillage et les produits chimiques suivants :

- **Appareillage :**

- balance analytique (AND, GR200) ;
- agitateur chauffant (FALC) ;
- spectrophotomètre à vis (Hach, obyssey) ;
- multi paramètres (156 Hach) ;
- turbidimètre. (HACH, 2100N) ;
- pH mètre + thermomètre (HANNA 991001) ;
- bain-Marie.

- **Produits chimiques :**

- indicateur Noir Erichrome (NET) ;
- solution tampon (pH=10, pH=12) ;

- solution (EDTA) ( $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$ ,  $N=0.02N$ ) ;
- indicateur de  $Ca^{++}$  (Calcons+NaCl) ;
- solution de chlorure de barrium ( $BaCl_2$ , 150g/l) ;
- chromate de potassium ( $K_2CrO_4$ ) ;
- nitrate d'argent  $AgNO_3$  (0.01N) ;
- acide chlorhydrique (HCl de 0.1N) ;
- hydroxyde de sodium (NaOH,  $N=2N$ ) ;
- salicylate de sodium ( $C_7H_5NaO_3$ , à 0.5%) ;
- acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) ;
- peroxydisulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ , 40 g/l) ;
- solution de phénanthroline -1.10.

**I.2.2.1.1- Température (°C) :** La température de l'eau est un facteur important dans l'environnement aquatique du fait qu'elle régit presque la totalité des réactions physico-chimiques et biologiques [100]. Elle a été déterminée sur les lieux de prélèvement à l'aide d'un thermomètre. On lit directement la température qui est exprimée en degré Celsius.

**I.2.2.1.2- pH :** Ce paramètre mesure la concentration des protons  $H^+$  contenus dans l'eau, et donc l'acidité ou l'alcalinité de l'eau sur une échelle logarithmique de 0 à 14 [46]. Le pH a une influence sur la plupart des mécanismes chimiques et biologiques dans les eaux. Habituellement, les valeurs du pH se situent entre 6 et 8,5 dans les eaux naturelles [100]. Ce paramètre est mesuré par le biais d'un multi-paramètre.

**I.2.2.1.3- Turbidité (T) :** Elle est considérée comme un indicateur indirect de la qualité microbiologique [101, 102]. A l'aide d'un turbidimètre, nous pouvons estimer la présence de matières en suspension finement divisées (argiles limons grains de silice, matières organiques, organismes microscopiques) [101]. On la mesure suivant des étapes : Ainsi, 10 ml d'eau à analyser sont placés dans la cuve, qui placé dans l'appareil de turbidimètre, ensuite on fait une lecture une fois que l'appareil est stabilisé. La turbidité est exprimée en unité "NTU" [103].

**I.2.2.1.4- Conductivité (C) :** La conductivité permet d'apprécier la capacité de l'eau à conduire un courant électrique, donc une mesure indirecte de la teneur de l'eau en ions. Elle s'exprime en micro siemens par centimètre ( $\mu s/cm$ ) [100]. La conductivité est mesurée à l'aide d'un multi paramètre.

**I.2.2.1.5- Minéralisation (M) :** Il existe une relation étroite entre la teneur en sels dissous d'une eau et son conductivité :

- Si la conductivité (C) est comprise entre 333 et 833  $\mu\text{s/cm}$  la formule de l'estimation de la minéralisation s'exprime de la façon suivante :

$$M \text{ (mg/l)} = 0.715920 \times C.$$

- Alors que si la conductivité (C) est située entre 833 et 10000  $\mu\text{s/cm}$ , la formule s'écrit de la manière suivante :

$$M \text{ (mg/l)} = 0.758544 \times C.$$

**I.2.2.1.6- Taux des solides dissous (TDS) :** Il représente la concentration totale des substances dissoutes dans l'eau. Le TDS est composé de sels inorganiques et de quelques matières organiques. Les sels inorganiques communs trouvés dans l'eau incluent les cations tels : ion calcium, ion magnésium, ion potassium et ion sodium et les anions comme les ions carbonate, les ions nitrate, les ions chlore et les ions sulfate. Les sources d'eau minérales contiennent de l'eau avec un taux élevé de solides dissous parce qu'elles se sont formées à travers des roches riches en sels. La mesure de (TDS) est réalisée par un appareil multi-paramètre.

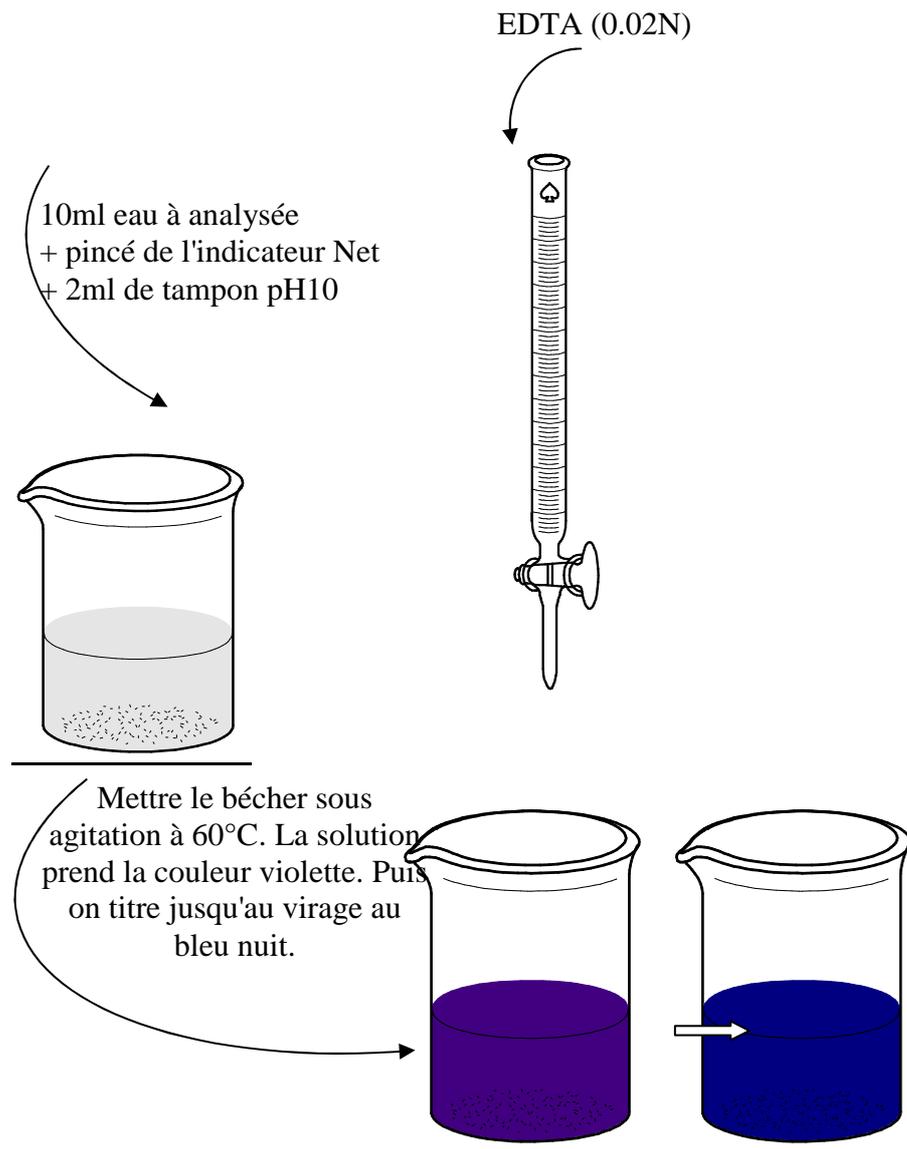
**I.2.2.1.7- Salinité (S) :** La salinité de l'eau est due aux formations salifères telles que le gypse. Elle est également influencée par la lithologie de la nappe et les facteurs climatiques comme les précipitations et les températures [46]. La salinité est mesurée par le multi-paramètre.

**I.2.2.1.8- Dureté totale (TH) :** La dureté d'une eau résulte de la présence de cations bivalents surtout le calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), et le magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ). Au point de vue écologique, une eau douce est plus sensible aux phénomènes biologiques et chimiques susceptibles de modifier son pH [100, 104]. La dureté est déterminée par titration comme représente la figure 8 [105, 106].

Le calcul de la dureté est réalisé d'après l'équation suivante :

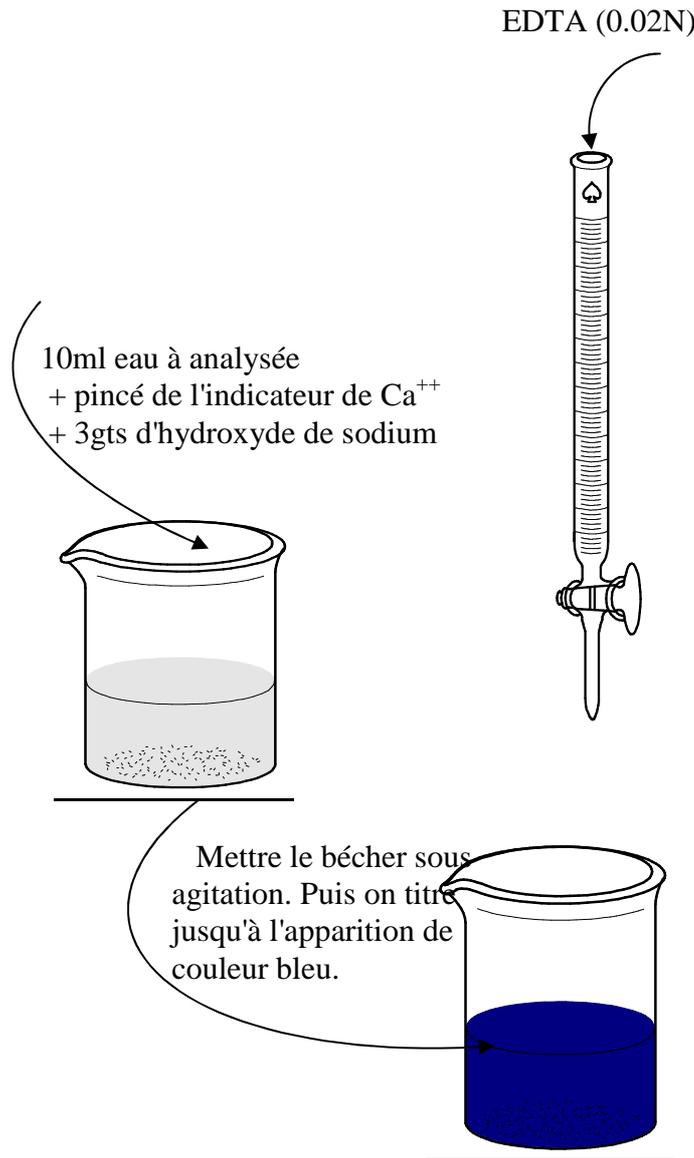
$$\text{TH méq/l} = \frac{(V \times N)_{\text{EDTA}} \times 1000}{V_{\text{eau à analyser}}}$$

Avec : **TH**: dureté totale, **V**: volume, **N**: normalité.



**Figure 8 :** Détermination de la dureté totale par Titration

**I.2.2.1.9- Dosage de calcium  $[Ca^{++}]$  :** Le principe de dosage de calcium est identique à celui de la dureté totale. Toutefois, comme le dosage se fait à un pH élevé (24-106), le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. Par ailleurs, l'indicateur choisi ne se combine qu'avec le calcium. On réalise la titration [105], selon le mode opératoire schématisé dans la figure 9.



**Figure 9 :** Dosage de Calcium par Titration

On calcule la concentration de  $\text{Ca}^{++}$  selon l'équation suivante :

$$[\text{Ca}^{++}] \text{ m\acute{e}q/l} = \frac{(V \times N)_{\text{EDTA}} \times 1000}{V_{\text{eau \grave{a} analyser}}}$$

$$[\text{Ca}^{++}] \text{ mg/l} = \left[ \frac{(V \times N)_{\text{EDTA}} \times 1000}{V_{\text{eau \grave{a} analyser}}} \right] \times \frac{M_{[\text{Ca}^{++}]}}{e}$$

Où :  $M_{\text{Ca}} = 40,08 \text{ g/mol}$ ,  $e = 2$  [97, 98, 105].

**I.2.2.1.10- Dosage de magnésium [Mg<sup>++</sup>]** : Lorsqu'on détermine la dureté totale et la concentration de calcium, on peut facilement déduire la concentration de magnésium, en utilisant la relation suivante :

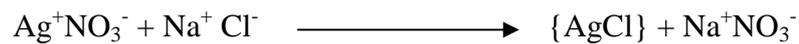
$$[\text{Mg}^{++}] \text{ m\acute{e}q/l} = \text{TH} - [\text{Ca}^{++}]$$

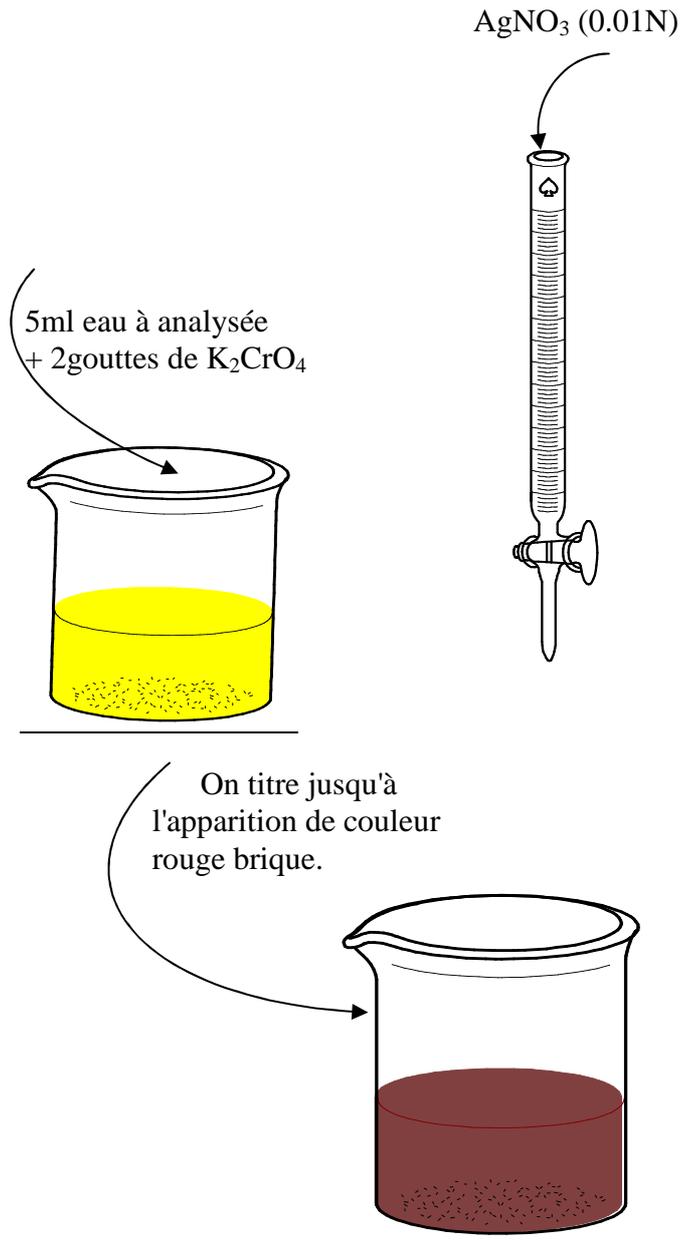
$$[\text{Mg}^{++}] \text{ mg/l} = [\text{TH} - [\text{Ca}^{++}]] \times \frac{M_{[\text{Mg}^{++}]}}{e}$$

Où :  $M_{\text{Mg}} = 24,36 \text{ g/mol}$ ,  $e = 2$  [97, 98].

**I.2.2.1.11- Dosage de Chlorure [Cl<sup>-</sup>]** : Afin de déterminer la concentration du chlore, on fait réagir en milieu neutre, une solution à titrer de nitrate d'argent sur une prise d'essai connue de solution titrée de chlorure de sodium [105] et ce selon le mode opératoire schématisé dans la Figure 10.

La réaction se produit en présence de chromate de potassium :





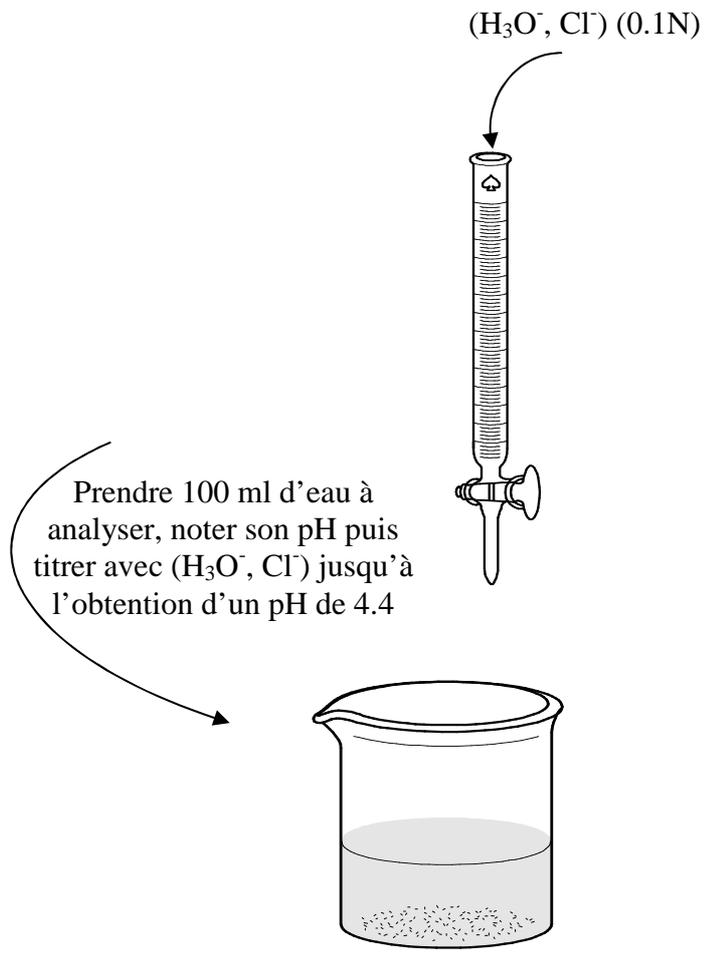
**Figure 10** : Dosage de chlorure par titration

On calcule la concentration d Chlore selon l'équation suivante :

$$[Cl^-] \text{ mg/l} = V(AgNO_3) \times 71 \times F$$

Où : F est la correction du titre d' $AgNO_3$ ,  $F = \frac{1}{V_{AgNO_3}}$

**I.2.2.1.12- Dosage de l'alcalinité  $[\text{HCO}_3^-]$  :** Pour le dosage de l'alcalinité, il faut noter le pH d'eau à analyser, puis titrer avec une solution de  $(\text{H}_3\text{O}^+, \text{Cl}^-)$  à 0.1 N jusqu'à l'obtention d'un pH de 4.4. Si le pH de l'eau est supérieur à 8.3 on titre jusqu'à cette valeur puis, on continue le dosage jusqu'à pH de 4.4 [105] et ce selon le mode opératoire représenté ci-dessous :



**Figure 11 :** Dosage de  $\text{HCO}_3^-$

On utilise la relation suivante :

$$[\text{HCO}_3^-] \text{ mg/l} = V \times 61$$

V : Volume d'acide versé.

**I.2.2.1.13- Dosage des nitrates  $[\text{NO}_3^-]$  :** On utilise pour doser le nitrate la méthode au salicylate de sodium [105]. Plusieurs étapes sont pratiquées pour le dosage :

- 10 ml de l'échantillon +2 gouttes de NaOH à 30% ml + 1ml de salicylate de sodium.
- on évapore au bain marie 75-88°C puis on laisse refroidir.
- reprendre le résidu avec 2ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , après 10 min, on ajoute 15ml d'eau distillée.
- on ajoute 15ml de tartrate double puis lecture au spectrophotomètre à longueur d'onde de 420 nm [105].

$$[\text{NO}_3^-] \text{ méq/l} = \text{La lecture} \times \text{La dilution}$$

$$[\text{NO}_3^-] \text{ mg/l} = [\text{NO}_3^- \text{ méq/l}] \times \frac{M_{[\text{NO}_3^-]}}{e}$$

**I.2.2.1.14- Dosage des sulfates  $[\text{SO}_4^{--}]$  :** La présence des sulfates dans l'eau est liée à la dissolution du gypse [46]. Pour cela, on utilise la méthode spectrophotométrique pour le dosage des sulfates. Cette méthode est réalisée comme suit :

Dans un bécher :

- On prélève à l'aide d'une pipette en verre 1 ml d'eau à analyser.
- On ajoute un pincé de  $\text{BaCl}_2$ .
- Puis on ajoute 9 ml d'eau distillée.
- On verse la solution dans une cuvette graduée et mettre dans l'appareil ( $\lambda = 420\text{nm}$ ), puis on lit au spectrophotomètre à vis [105]. On utilise l'équation ci-dessous :

$$[\text{SO}_4^{--}] \text{ méq/l} = \text{La lecture} \times \text{La dilution}$$

$$[\text{SO}_4^{--}] \text{ mg/l} = [\text{SO}_4^{--} \text{ méq/l}] \times \frac{M_{[\text{SO}_4^{--}]}}{e}$$

**I.2.2.1.15- Dosage des ions de fer [Fe<sup>++</sup>] :** On utilise pour le dosage du fer la méthode spectrométrique à la phénanthroline [105]. Elle est réalisée selon les étapes suivantes [105] :

- 50 ml d'eau à analyser + 0.5 ml d'acide sulfurique 18N.
- On introduit 50ml d'échantillon acidifié dans une fiole : On ajoute 5 ml de peroxydisulfate de potassium et on porte à l'ébullition pendant 40 mn.
- Après refroidissement, on ajoute 2 ml de solution d'acétate d'ammonium, mélanger et vérifier que le pH est de 4.5 (compris entre 3.5 et 5.5).
- Puis on ajoute 2 ml de solution de phénanthroline -1.10.
- après 15 mn, on effectue une lecture directe au spectrophotomètre à longueur d'onde 510 nm.

**I.2.2.1.16- Détermination du résidu sec [Rs] :** La détermination des résidus permet d'estimer la teneur en matière dissoutes et en suspension d'une eau.

- Prélever 100ml d'eau à analyser dans une fiole jaugée et déverser la dans la capsule en porcelaine, porter ce dernier à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.
- Laisser refroidir pendant 15mn au dessiccateur et peser immédiatement et rapidement.

$$\text{Résidu sec Rs. (105°) mg/l} = \frac{(m_1 - m_2) \times 106}{V}$$

**m<sub>1</sub>** : La masse de capsule après le séchage (24h à T=105°C).

**m<sub>2</sub>** : La masse de capsule vide (g).

**V** : Volume d'échantillon (100 ml).

### **I.2.2.2- Détermination de la qualité microbiologique :**

L'analyse microbiologique des trois eaux minérales est basée sur la recherche des germes aérobies total (FAMT), coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), streptocoques fécaux, clostridies sulfitoréductrices [24, 107].

#### **❖ Transport et conservation des échantillons**

Le transport d'échantillons doit être effectué de telle sorte que la composition de l'eau ne soit pas modifiée à son arrivée au laboratoire. Donc il est important d'une part que la durée de transport soit courte et d'autre part pour que l'eau ne subit pas de grande variation de température susceptible de modifier sa population bactérienne.

Pour l'étude du volet microbiologique des eaux, nous avons utilisé l'appareillage, les milieux de cultures et les produits suivants :

#### **• Appareillage :**

- étuve (EN500) ;
- verreries (tube à vis, bécher...etc.) ;
- anse de platine, et écouvillons ;
- bain marie (FALC) ;
- pipette pasteur;
- vortex.

#### **• Milieux de culture et produits utilisés**

- gélose TGEA ;
- Milieu Roth D/C et S/C ;
- Milieu BCPL D/C et S/C, avec cloche Durham ;
- Milieu VF ;

- Bouillon nutritif ;
- Alun de fer ;
- Sulfite de sodium ;
- Eau physiologie stérile et eau distillée stérile ;
- Disques de papier whattman stériles (de 6 mm de diamètre).

#### **I.2.2.2.1- Recherche des germes aérobies mésophiles totaux (FAMT) :**

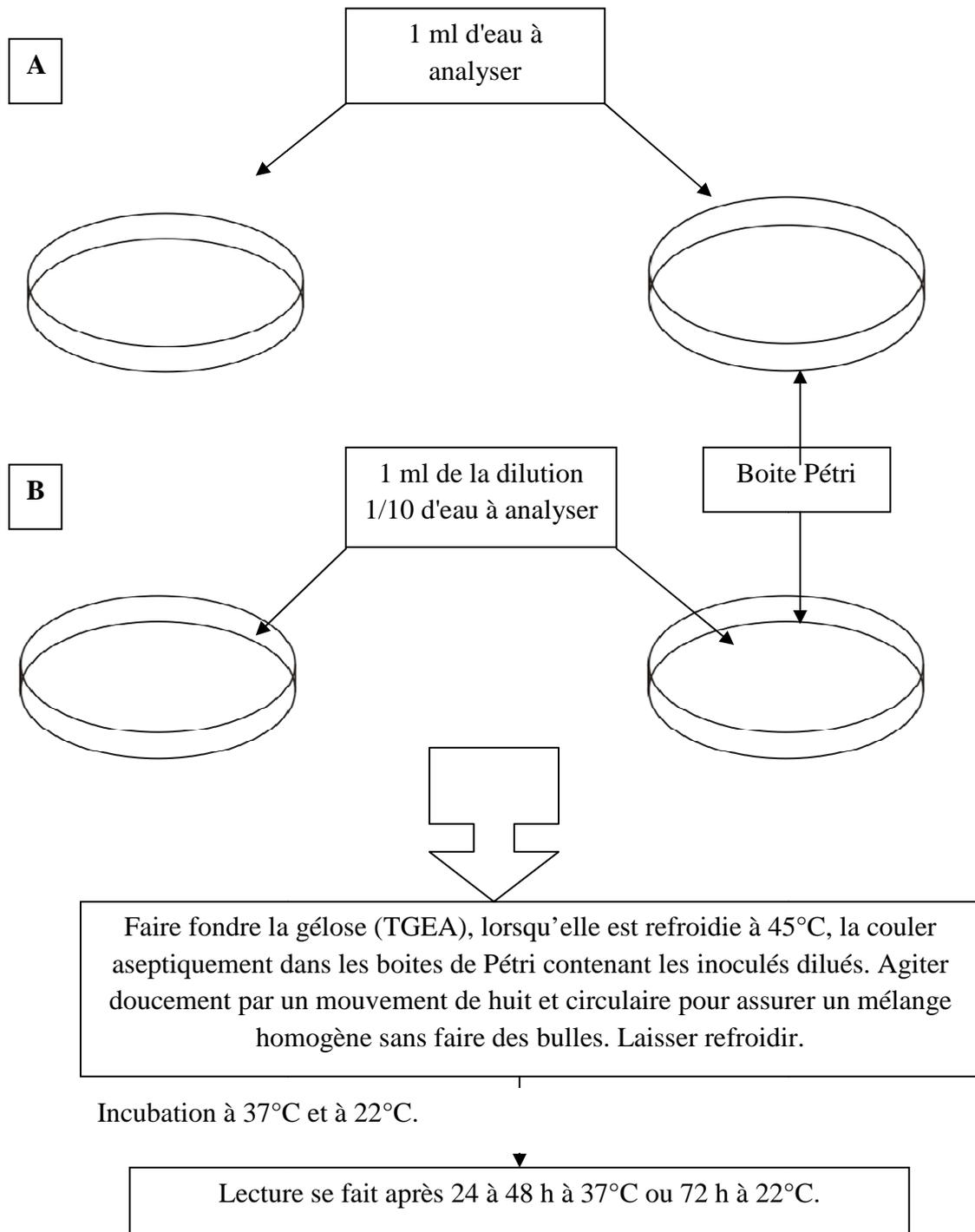
La flore aérobie mésophile totale (ou germes totaux) regroupe l'ensemble des bactéries, les levures et/ou les moisissures [108], qui forment des colonies dans les conditions définies selon la méthode schématisée dans la figure 12 [105].

#### **I.2.2.2.2- Recherche des coliformes totaux et fécaux :**

– *Coliformes totaux* se présentent sous forme de Bacilles Gram négatifs (BGN), non sporogones, oxydase négative, aéro-anaérobies facultatifs. Les coliformes les plus communs sont : *Escherichia*, *Entérobactérie*, *Citrobactérie*, *Serratia*, et *Klebsiella*, avec *Escherichia coli* étant les plus abondants dans l'intestin des humains et d'autres animaux à sang chaud. Elles sont identifiables par leur capacité de fermenter le lactose avec la production d'acides et de gaz, en 24 à 48 heures à 37°C [107, 109].

– *Coliformes fécaux* (FC) font partie des coliformes totaux et sont représentés principalement par : *Escherichia coli*, *Entérobactérie* et *Klebsiella*. Ils habitent les intestins des animaux à sang chaud puisqu'ils peuvent cultiver et fermenter le lactose à une température relativement élevée (45°C) d'où elles également appelé "Coliformes thermo tolérantes" [107]. Le nombre élevé des coliformes fécaux dans l'eau est considéré comme indice de contamination fécale [109].

Le mode opératoire de la recherche et de dénombrement des coliformes totaux et fécaux est réalisé selon la méthode liquide qui est basée sur deux étapes à savoir, test de présomption et test de confirmation (figure 13) [105].



**Figure 12 :** Recherche et dénombrement des germes aérobies totaux

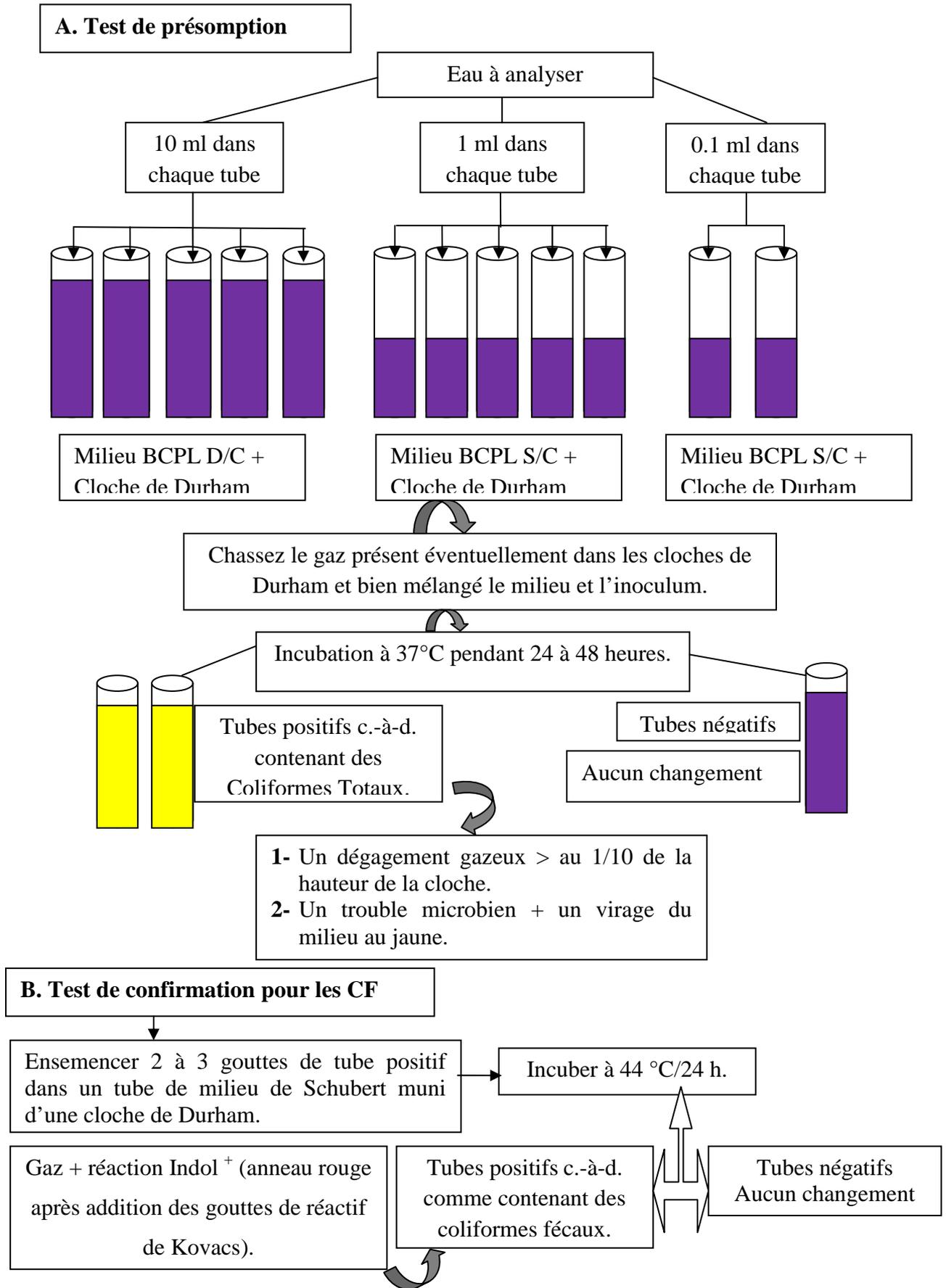


Figure 13 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

#### **I.2.2.2.3- Recherche des streptocoques fécaux :**

Ce sont des cocci Gram positifs et peuvent vivre également plus longtemps dans l'eau que les coliformes fécaux. Ils sont employés comme étant indicateurs de contamination fécale dans l'eau [109].

Le groupe inclut beaucoup d'espèces de bactéries dans le genre streptocoque comme, *S. faecalis*, *S. bovis*, *S. equines*, *S. avium*, *S. faceium*, et *S. gallinarum*, qui sont normalement trouvés dans les résidus et l'intestin des animaux à sang chaud [109].

Le mode opératoire de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux est réalisé par deux étapes : test de présomption sur un milieu ROTH et test de confirmation sur milieu EVA LISTKY, (figure 14) [105].

#### **I.2.2.2.4- Recherche des clostridium sulfitoréducteurs :**

Cette méthode est utilisée pour la recherche des microorganismes bacilles à Gram positif anaérobies stricts caractérisées par la résistance de leurs spores et par un équipement enzymatique réduise les sulfites en sulfures [105]. Ces spores peuvent survivre dans l'eau et dans l'environnement pendant plusieurs mois [105].

Le mode opératoire de recherche et dénombrement des Clostridium sulfitoréducteurs est schématisé dans la figure 15 [97, 98, 105, 110].

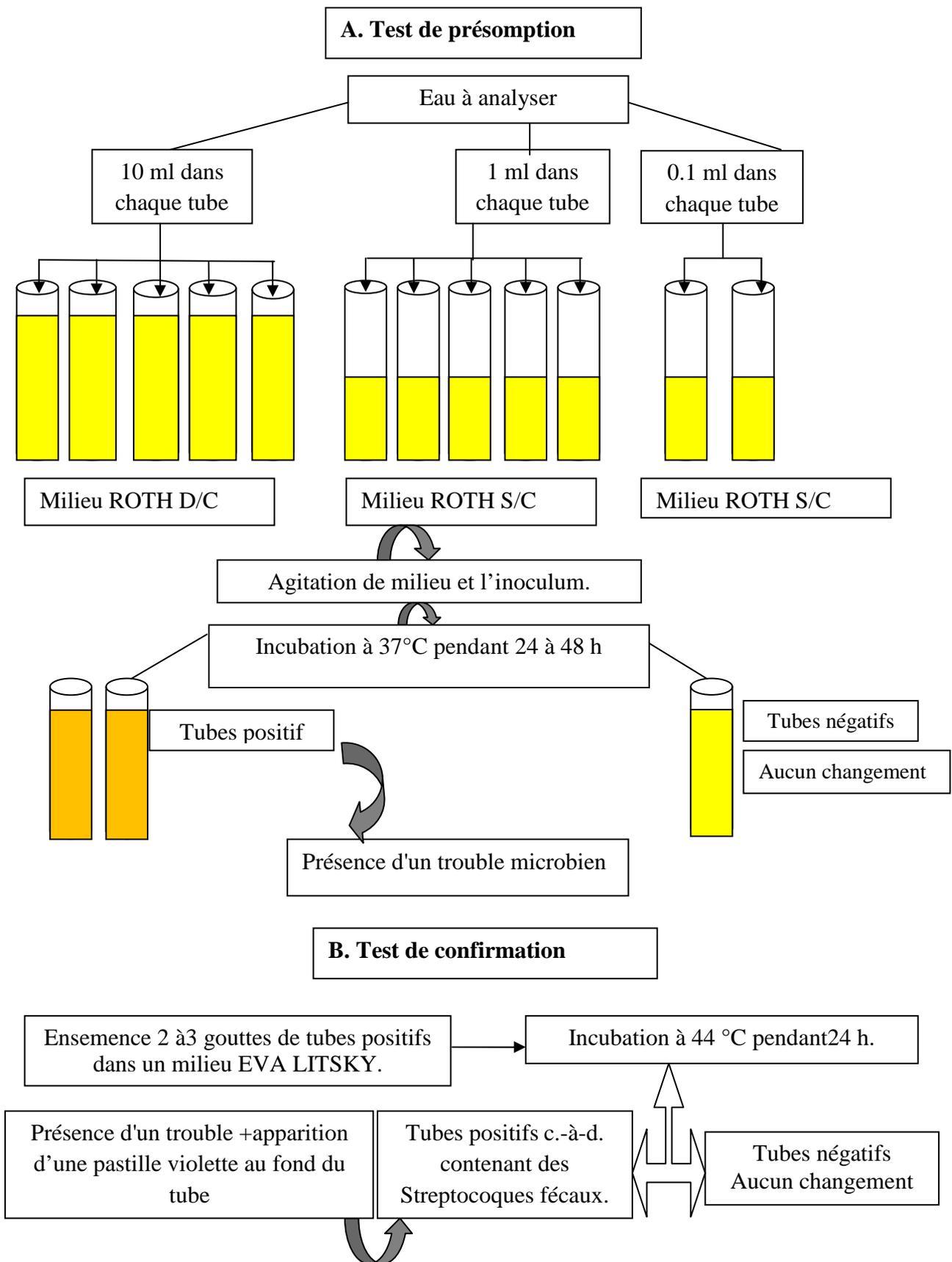
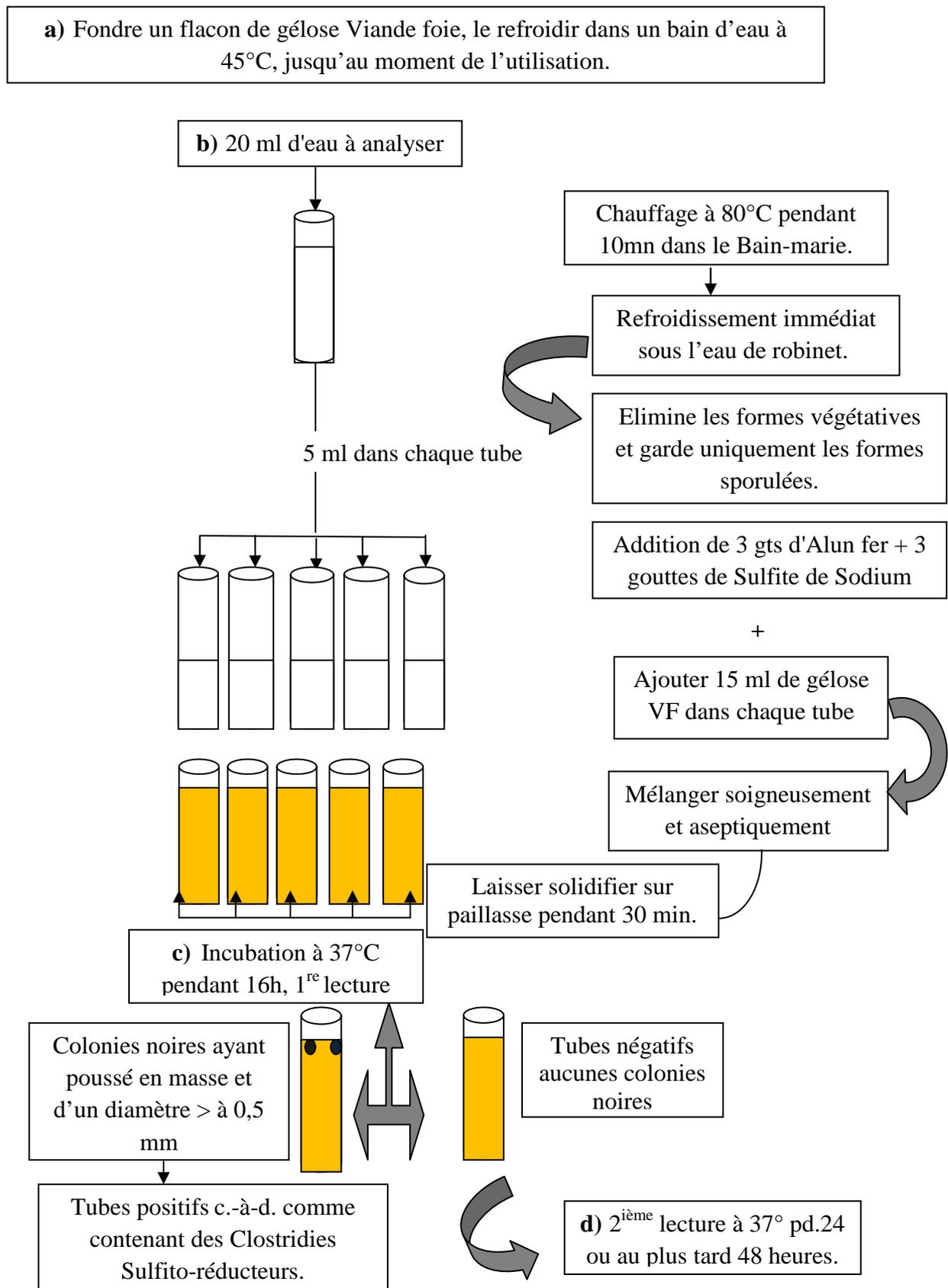


Figure 14 : Recherche et recherche des streptocoques fécaux



**Figure 15 :** Recherche des clostridium sulfitoréducteurs

### I.2.2.3- Étude de l'activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne est évaluée par la méthode de diffusion de disque [14-18], où les disques d'antibiotiques sont remplacés par des disques imprégnés par les eaux à tester.

**I.2.2.3.1- Souches bactériennes étudiées :** Les souches bactériennes à tester proviennent des échantillons humaines et sont représentées par les :

- Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*. (qui sont souvent responsables de la lithogénèse) [5, 7]
- Bactérie à Gram positif : *Staphylococcus aureus*.

Les souches bactériennes provenant des échantillons de selle humaine sont : *Salmonella typhi*, *Shigella* sp.

Ces bactéries sont fournies par le laboratoire bactériologique de l'Hôpital de Djelfa, identifiées préalablement par la Galerie biochimique classique et conservés à -20°C.



**Photos 3 :** Souches bactériennes à 37°/18h cultivées sur gélose nutritive

– **Milieu de culture :**

La gélose Muller-Hinton est utilisée exclusivement pour l'antibiogramme [5, 111].

– **Préparation des disques :**

La stérilisation des papiers filtres est réalisée à 121°C pendant 15 minutes [112].

- les disques de papier Whattman (6 mm de diamètres) sont imprégnés préalablement par l'échantillon de l'eau à tester [14, 15] ;
- et d'autres disques sont imprégnés par l'eau distillée stérile (disque témoin).

– **Préparation de l'inoculum :**

- à partir d'une culture pure de 18 h sur milieu d'isolement, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- on décharge l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% ;
- homogénéise la suspension bactérienne ;
- ensemencement dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum [18].

**I.2.2.3.2- Ensemencement et placement des disques :**

Elle se fait suivant les étapes représentées sur la figure 16 [15, 18, 113].

La manifestation de l'activité antibactérienne est observée par la présence d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné d'échantillon [14].

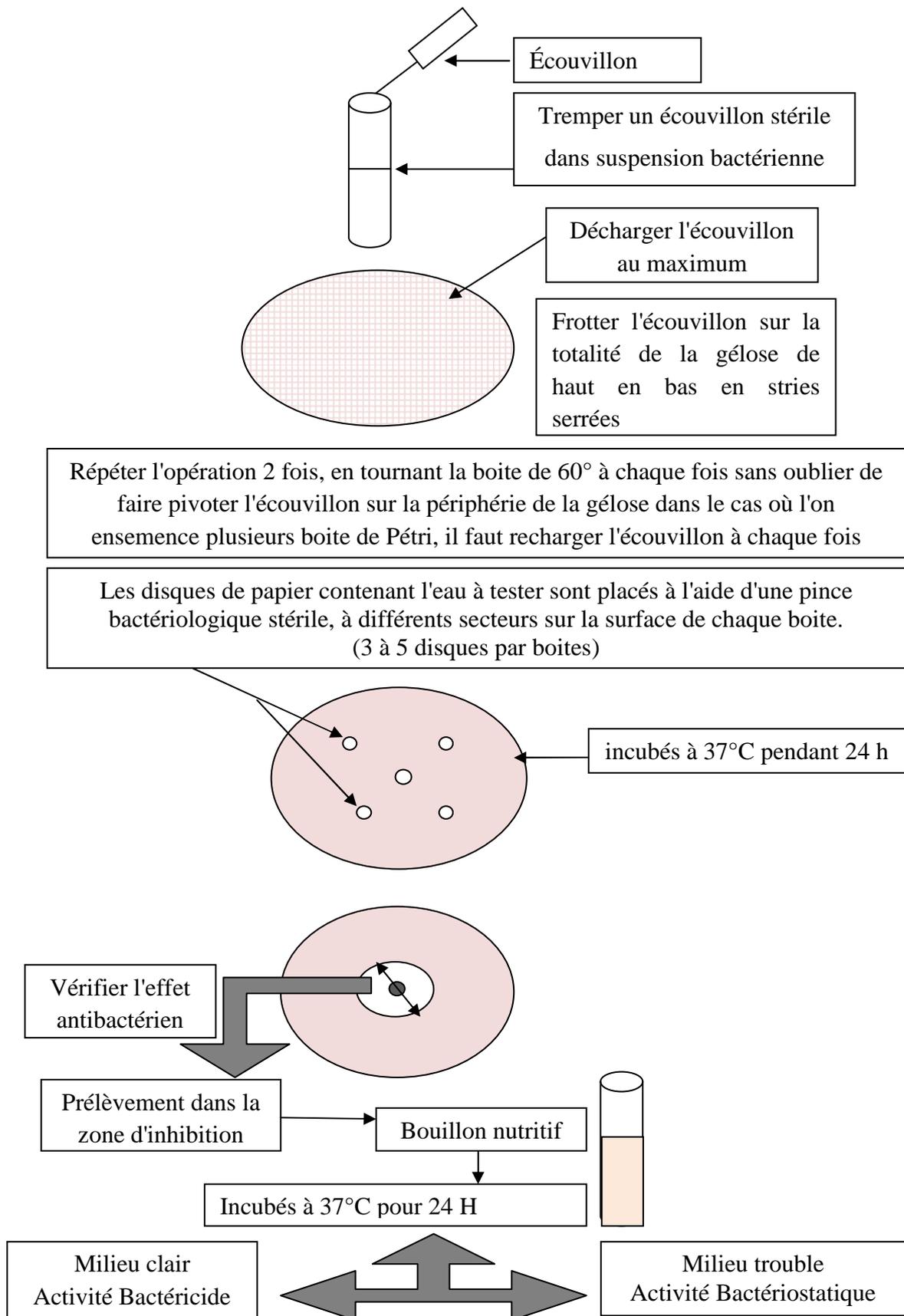
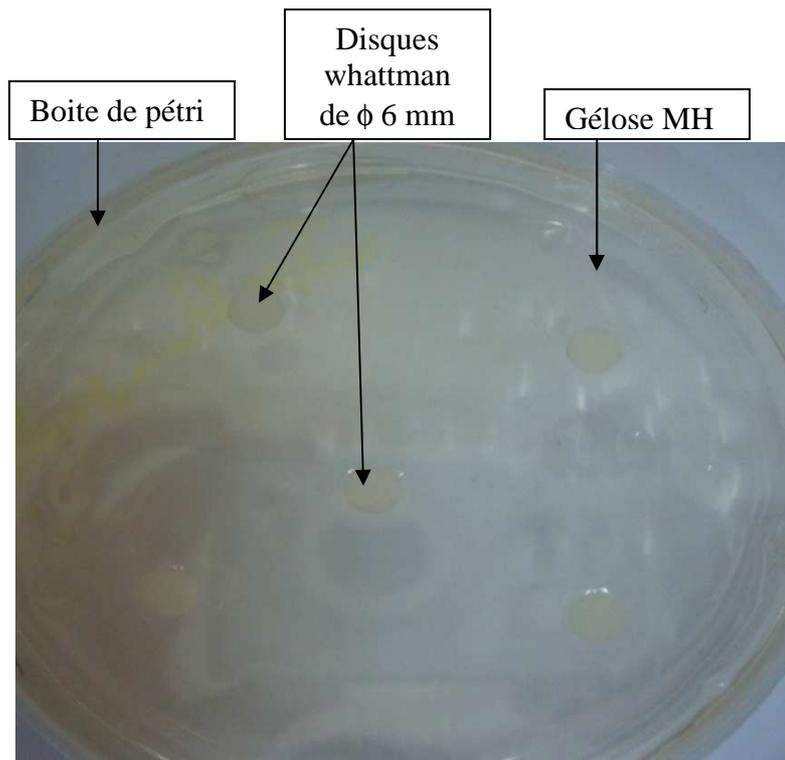


Figure 16 : Différentes étapes d'étude de l'activité antibactérienne



**Photo 4 :** Gélose MH avec 5 disques contient l'échantillon à tester

Les diamètres d'inhibition sont mesurés en mm grâce à une règle graduée. Les bactéries sont classées dans l'une des catégories : Sensible, intermédiaire ou résistante.

- $\phi \leq 8$  : germe résistant, les disques n'ont aucun effet ;
- $8 < \phi \leq 14$  mm. : germe de sensibilité limité ;
- $14 < \phi \leq 20$  mm. : germe de sensibilité intermédiaire ;
- $\phi > 20$  mm. : germe sensible.

### I.2.2.4- Étude de la cristallisation oxalo-calcique

#### I.2.2.4.1- Étude turbidimétrique :

La formation de l'oxalate de calcium à 30°C et pH 6.5 a été étudié par le modèle turbidimétrique en fixant la longueur d'onde de spectrophotomètre UV à 620 nanomètre [9, 95].

##### • Appareillages :

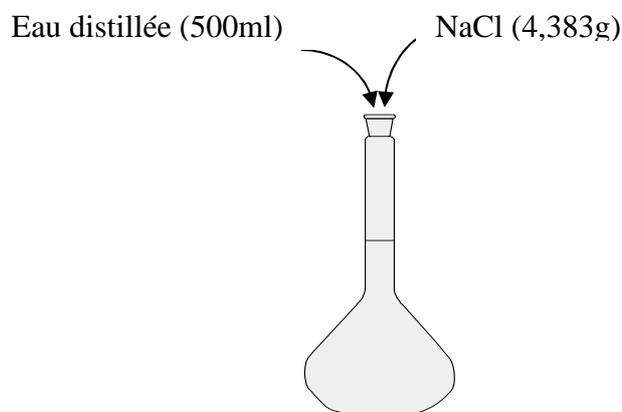
- spectrophotomètre BECKMAN UV-Visible de marque DU Série 520, fixé à  $\lambda=620$  nm ;
- cuves de plastique d'un centimètre de trajet optique ;
- balance (Scaltec) ;
- pH mètre (HANNA) ;
- thermomètre (HANNA).

##### • Produits utilisées :

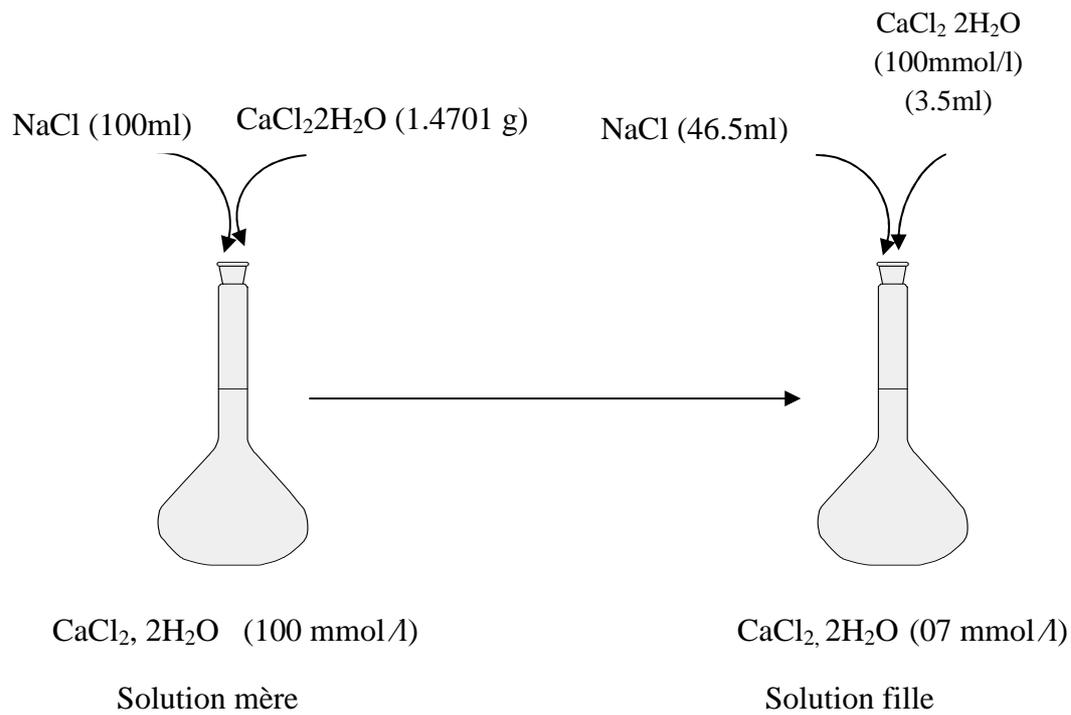
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  : Chlorure de calcium di-hydraté (FLUKA) ;
- $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  : Oxalate de sodium (Panreac) ;
- $\text{NaCl}$  : Chlorure de sodium (FLUKA) ;

#### I.2.2.4.1.1- Étude sans inhibiteur :

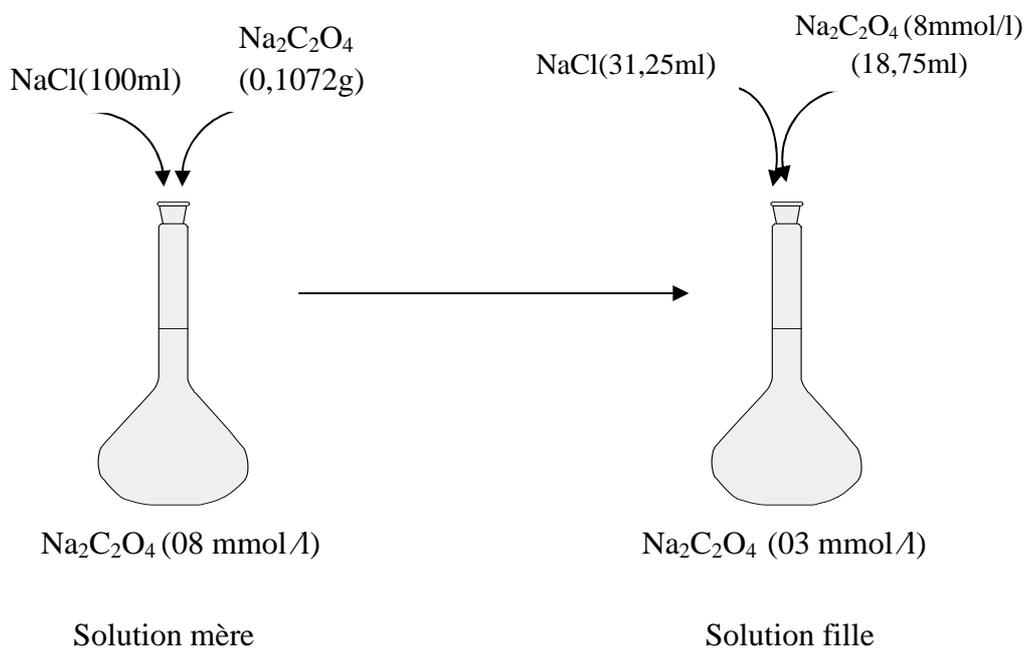
Nous avons préparé des solutions cristallisables comme le  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ , et le  $\text{NaCl}$  (0,15M) comme un solvant. Les figures (17-19).



**Figure 17** : Préparation de la solution de  $\text{NaCl}$  (0,15mol/l)



**Figure 18** : Préparation de la solution de Chlorure de calcium (7 mmol/l)



**Figure 19** : Préparation de solution de l'oxalate du sodium à (03 mmol/l)

**Tableau 9** : Solutions mères et filles de chlorure de calcium et oxalate du sodium

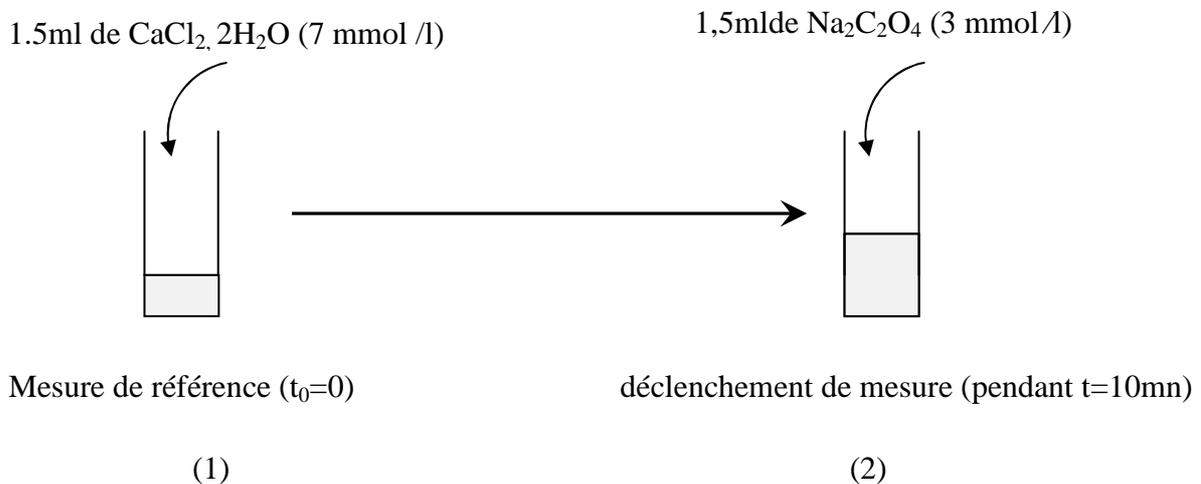
	Concentration en $\text{Ca}^{2+}$ (mmol/l)	Concentration en $\text{C}_2\text{O}_4^{-2}$ (mmol/l)
Solutions mères	100	08
Solutions filles	07	03

- **Mode opératoire :**

Un volume de 1,5 ml de chlorure de calcium di-hydraté est transféré dans la cuve de spectrophotomètre et on fait la lecture blanche ( $t=0$ ).

Puis on ajoute 1,5 ml d'oxalate de sodium au volume précédent, ensuite la mesure est immédiatement commencée pendant une période de 10 mn. Chaque essai est répété quatre fois [95].

Le nombre d'essais effectués permet d'estimer la moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation (CV) qui doit rester inférieur à 10 [9].

**Figure 20** : Etapes de l'étude de cristallisation sans inhibiteur

#### I.2.2.4.1.2- Étude avec l'inhibiteur (10, 50 et 100%) :

Nous avons préparé les solutions inhibitrices diluées à 10, 50 et 100%. Cette préparation se fait grâce à un solvant approprié, c'est la solution de chlorure de sodium à concentration (0,15 mol/l).

Dans une cuve en plastique, on mit un mélange de 1 ml de chlorure de calcium di-hydraté avec 1 ml de la solution inhibant puis on prit une lecture blanche à  $t=0$ .

Puis on ajoute un volume de 1 ml de l'oxalate de sodium et la mesure est immédiatement entamée pendant une période de 10 mn. Le pourcentage de l'inhibition a été calculé par l'utilisation de la formule suivante :

$$I \% = 1 - \frac{P_{AI}}{P_{SI}} \times 100$$

Où :

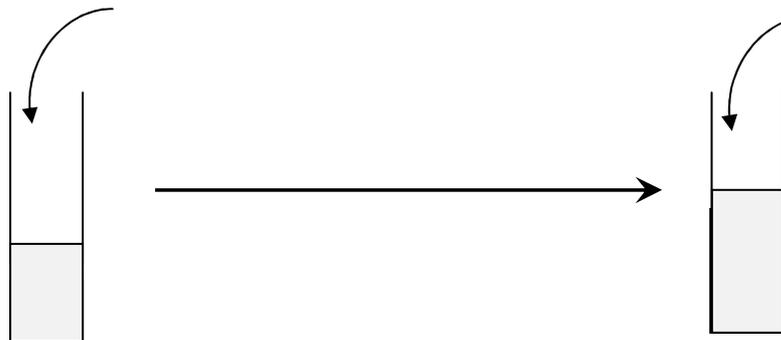
$I\%$  : Pourcentage d'inhibition.

$P_{AI}$  : Pente turbidimétrique avec l'inhibiteur.

$P_{SI}$  : Pente turbidimétrique sans inhibiteur.

1 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (7 mmol /l)+  
1 ml de solution inhibitrice

1,5 ml de  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  (3 mmol /l)



**Figure 21** : Etapes de l'étude de la cristallisation avec inhibiteur

#### I.2.2.4.2- Étude microscopique de la cristallisation oxalo-calcique :

Pour valider les résultats de l'étude de la cristallisation oxalo-calcique sans et avec inhibiteur, nous avons mis au point une deuxième technique complémentaire en utilisant le microscope optique.

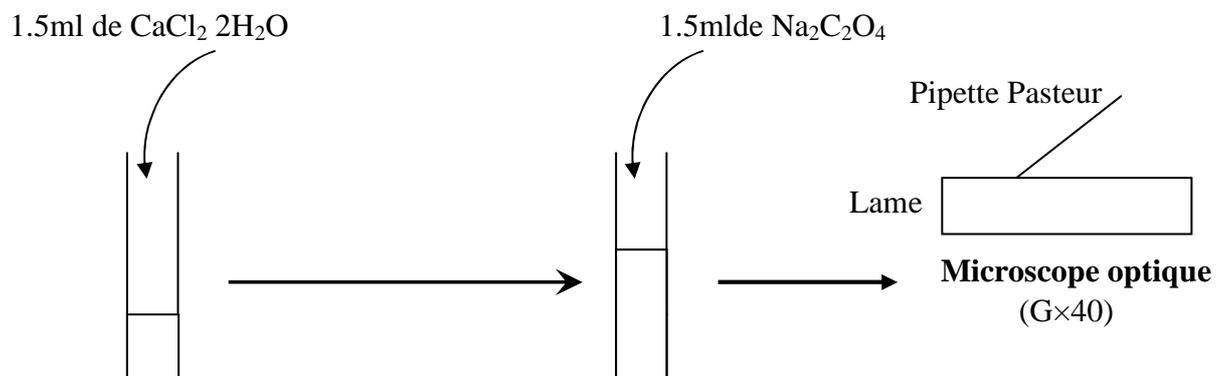
**• Appareillages et produits :**

- microscope optique de marque MOTIC à objectif ( $\times 40$ ) couplé avec un appareil photo-numérique ;
- cuve en plastique ;
- les solutions cristallisables ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) ;
- les solutions inhibitrices (eau de Hammam El-Charef et Zelfana, eau de Zamzam) ;
- les pipettes Pasteur ;
- les lames et lamelles.

**I.2.2.4.2.1- Étude sans inhibiteur :**

Un volume de 1,5 ml de solution de chlorure de calcium est versé dans la cuve de mesure puis on ajoute 1,5 ml de la solution d'oxalate de sodium.

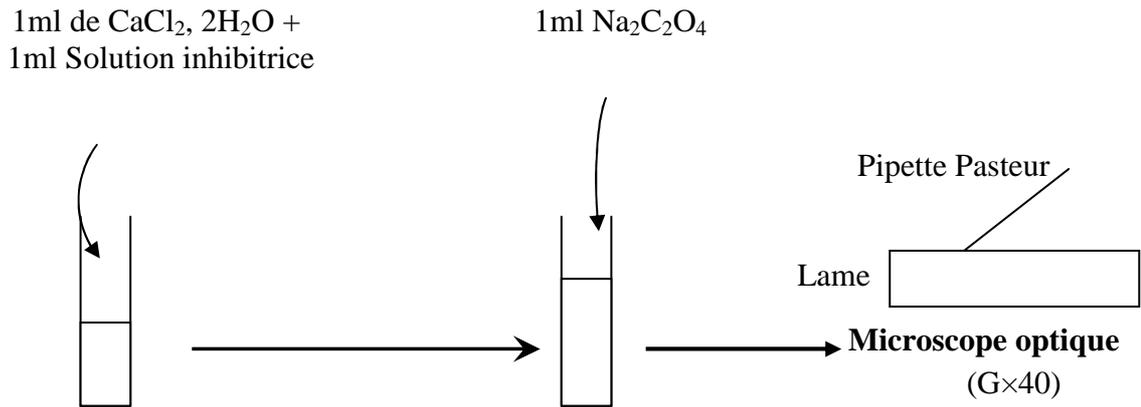
Au temps  $t_0$  et  $t_1$ , on place une goutte du mélange par le biais d'une pipette sur la lame qui est directement placée sous l'objectif du microscope ( $G \times 40$ ).



**Figure 22 :** Etape d'observation des cristaux sous microscope optique

**I.2.2.4.2.2 Étude avec inhibiteur (10 et 100%) :**

En présence d'inhibiteur, le volume de la solution de chlorure de calcium 1 ml, on ajoute 1 ml de la solution inhibitrice dans la cuve pour prendre la mesure de référence, puis on verse 1 ml de la solution d'oxalate de sodium, puis on prend par la pipette au temps  $t_0$  et  $t_1$  une goutte de mélange ainsi obtenu :



**Figure 23 :** Etape d'observation de l'inhibition des cristaux sous microscope optique

## *II. Résultats et discussion*

## II.1 - Résultats

### II.1.1- Résultats des analyses physico-chimiques :

Les résultats des analyses physico-chimiques sont rapportés dans les tableaux 10, 11 et 12.

**Tableau 10 :** Résultats des paramètres chimiques des eaux minérales naturelles (Hammam El-Charef et Zelfana, eau de Zamzam)

Paramètres chimiques	El-Charef	Zelfana	Zamzam	Unité	Normes OMS
Couleur	Abs.	Abs.	Abs.	/	/
Température	45,1-46,4	45-45,2	/	°C	/
pH	6,9	6,5	7,6	/	6,5-8,5
Turbidité	0,8	0,4	0,1	NTU	5NTU
Conductivité	2750	2770	1014	µS/Cm	2000 µS/Cm
Minéralisation	2085,996	2101,167	769,163	mg/l	1500mg/l
Taux des solides dissouts	1374	1383	507	mg/l	1000mg/l
Salinité	1,4	1,4	0,5	‰	/
Résidu Sec	910	947	863	mg/l	2000 mg/l

D'après les résultats obtenus, on remarque que le pH est neutre pour les trois types d'eaux ce qui est conformes aux normes de l'OMS. Quant à la turbidité sa valeur est comprise entre 0.1 et 0.8 NTU, ce qui donne une idée préalable sur la pureté des eaux au point de vue microbiologique.

Pour ce qui est de la conductivité, la minéralisation et le taux des solides dissouts, les résultats obtenus sont assez élevées pour les eaux minérales de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana en comparaison avec ceux indiqués par l'OMS.

Le tableau 11 résume les résultats de la dureté totale et les concentrations des Cations ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ) des eaux analysées.

**Tableau 11 :** Dureté totale et concentrations du calcium, de magnésium dans les eaux minérales de Hammam El-Charef et Zelfana et l'eau minérale de Zamzam

Cations	El-Charef	Zelfana	Zamzam	Unité	Normes OMS
Dureté totale (TH)	610	720	300	mg/l	500mg/l
Calcium $\text{Ca}^{++}$	177,1	168,33	96,12	mg/l	200mg/l
Magnésium $\text{Mg}^{++}$	41,9	78,44	14,6	mg/l	150mg/l
Fer $\text{Fe}^{++}$	0,07	0,06	0,11	mg/l	1 mg/l

Les eaux de Hammam El-Charef et Zelfana sont très dures par rapport à l'eau de Zamzam (610 et 720 contre 300 mg/l respectivement). Cela s'explique par les concentrations élevées en ion calcium (168-177 mg/l) et en ion magnésium (41-78 mg/l) dans les eaux thermales, et des concentrations moyennes en ion calcium (96 mg/l) et en ion magnésium (14 mg/l) dans l'eau minérale de Zamzam.

Quant aux concentrations des anions, ces valeurs sont consignées dans le tableau 12.

**Tableau 12 :** Concentrations des anions dans les eaux minérales de Hammam El-Charef, Hammam Zelfana et l'eau de Zamzam

Anions	El-Charef	Zelfana	Zamzam	Unité	Normes OMS
Sulfates $\text{SO}_4^{--}$	384	434,784	518,4	mg/l	400mg/l
Chlorure $\text{Cl}^-$	405,7	300,4	234,3	mg/l	/
Carbonates $\text{HCO}_3^-$	262,75	180,12	211,06	mg/l	/
Nitrates $\text{NO}_3^-$	5,2	16,75	7,96	mg/l	50 mg/l

D'après les résultats obtenus, le taux de sulfate est élevé dans l'eau de Zamzam (518.4 mg/l) par rapport aux normes de l'OMS (400mg/l) et ceux de l'Algérie (450mg/l) de l'eau potable. En revanche, l'eau de Hammam El-Charef contient (384 mg/l) du sulfate, ce qui est conforme aux normes de l'OMS et algérienne, alors que l'eau de Hammam Zelfana contient 434.784 mg/l du sulfate, ce qui est seulement conforme avec les normes locales. Ces différentes concentrations en sulfates signifient

que les roches gypseuses sont les plus dominantes dans la région de puits de Zamzam que celle de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana.

Concernant le reste des concentrations des anions, les résultats sont conformes aux normes autorisés par l'OMS.

### II.1.2- Résultats des analyses microbiologiques :

Les résultats des analyses microbiologiques obtenus sont consignés dans le tableau 13 et les photos 4, 5, 6 et 7.

**Tableau 13** : Résultats des analyses microbiologiques des eaux minérales de Hammam El-Charef, Hammam Zelfana et de Zamzam

	<b>El-Charef</b>	<b>Zelfana</b>	<b>Zamzam</b>
<b>Germes totaux</b>	-	-	-
<b>Coliformes totaux (CT)</b>	-	-	-
<b>Coliformes fécaux (CF)</b>	-	-	-
<b>Streptocoques fécaux</b>	-	-	-
<b>Clostridies Sulfitoréducteurs</b>	-	-	-

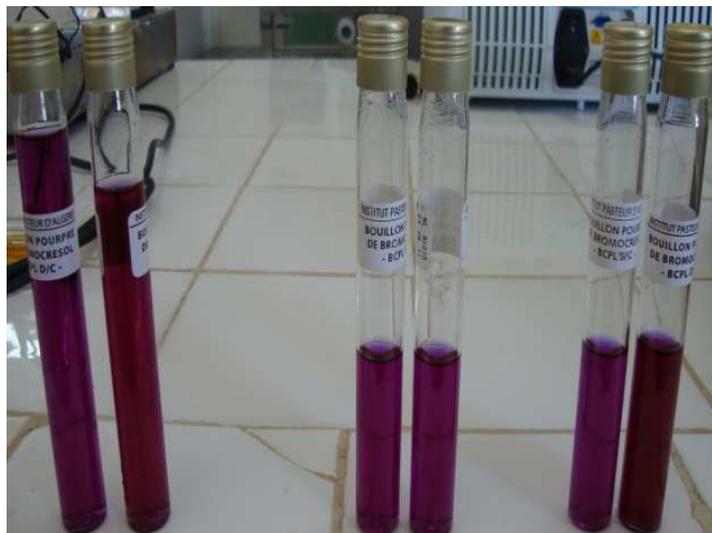
(-): Absence

Les analyses microbiologiques révèlent une absence des germes microbiens dans les trois eaux minérales étudiées. Il n'y a pas une formation des colonies sur le milieu TGEA après une incubation préalable à 22°C et 37°C pendant 72 h et 48 h respectivement (photo 5).



**Photo 5 :** Milieu TGEA pour la recherche des germes aérobies mésophile

Le milieu BCPL reste inchangeable après une incubation à 37°C pendant 24 h, donc absence des coliformes totaux, d'où absence des coliformes fécaux (photo 6).



**Photo 6 :** Milieu BCPL pour la recherche des Coliformes totaux et fécaux

Après une incubation à 37°C pendant 24 h, aucun trouble microbien n'a été observé dans le milieu ROTH, on observe aucun trouble après l'incubation, (absence des streptocoques fécaux) (photo 7).



**Photo 7 :** Milieu Roth pour la recherche des Streptocoque fécaux

Sur l'ensemble des tubes examinés, on note absence de formation des colonies noires dans le milieu Viande-Foie, donc l'absence des clostridies sulfito-réducteurs dans les eaux minérales étudiées (photo 8).



**Photo 8 :** Milieu Viande-Foie pour la recherche des Clostridium sulfito-réductrices

L'absence des contaminants microbiologiques due à la pureté naturelle des eaux minérales souterraines [1, 20-21].

### II.1.3- Résultats de l'activité antibactérienne :

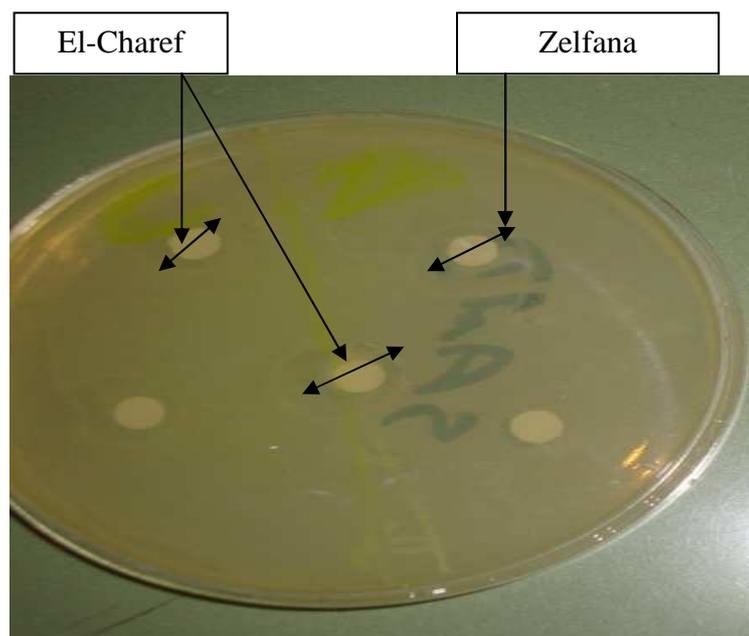
Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des trois eaux sont consignés dans les tableaux 14 et 15 et les photos (8, 9, 10, 11 et 12) et les figures (24, 25 et 26).

**Tableau 14 :** Activité antibactérienne des eaux de Hammam El-Charef, de Hammam Zelfana et de l'eau de Zamzam, sur les souches bactériennes testées.

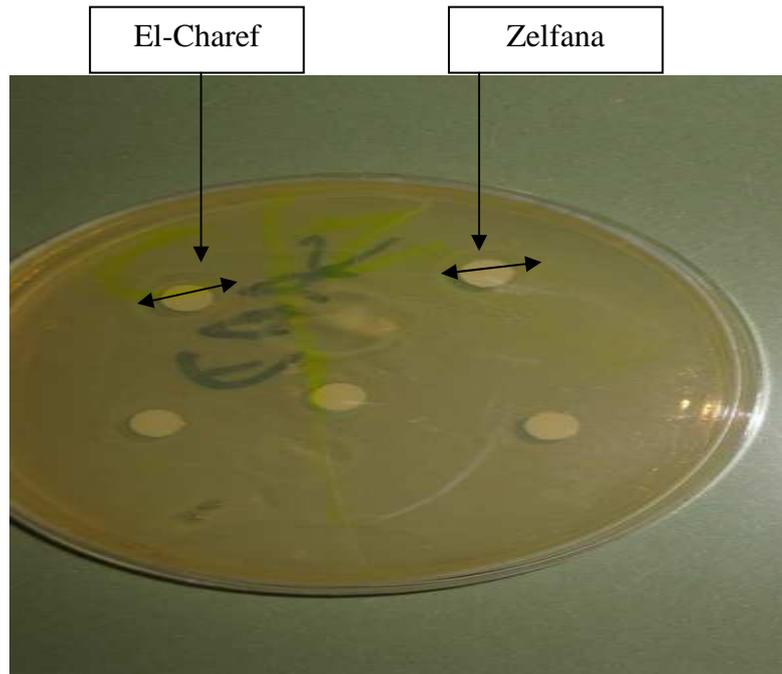
Il est à mentionner que le diamètre  $\phi$  de disque "6mm" est compris (ou inclus) dans les mesures des diamètres des halos dont le diamètre est mesuré en millimètre (mm)

<b>Bactéries</b>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aerogenosa</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>S. typhi</i>	<i>Shigella</i> sp.
<b>Inhibiteurs</b>						
Eau de Hammam El-Charef (Cha)	10	08	10	11	12	13
Eau de Hammam Zelfana (Ze)	10	08	10	12	11	12
Eau de Zamzam (Z)	22	14	17	16	13	13

Le test de l'activité antibactérienne montre une activité intermédiaire presque identique pour les eaux de Hammam El-Charef et de Hammam Zelfana (photos 9 et 10), ceci aussi bien pour l'espèce *E. coli*. et *Pr. mirabilis*.

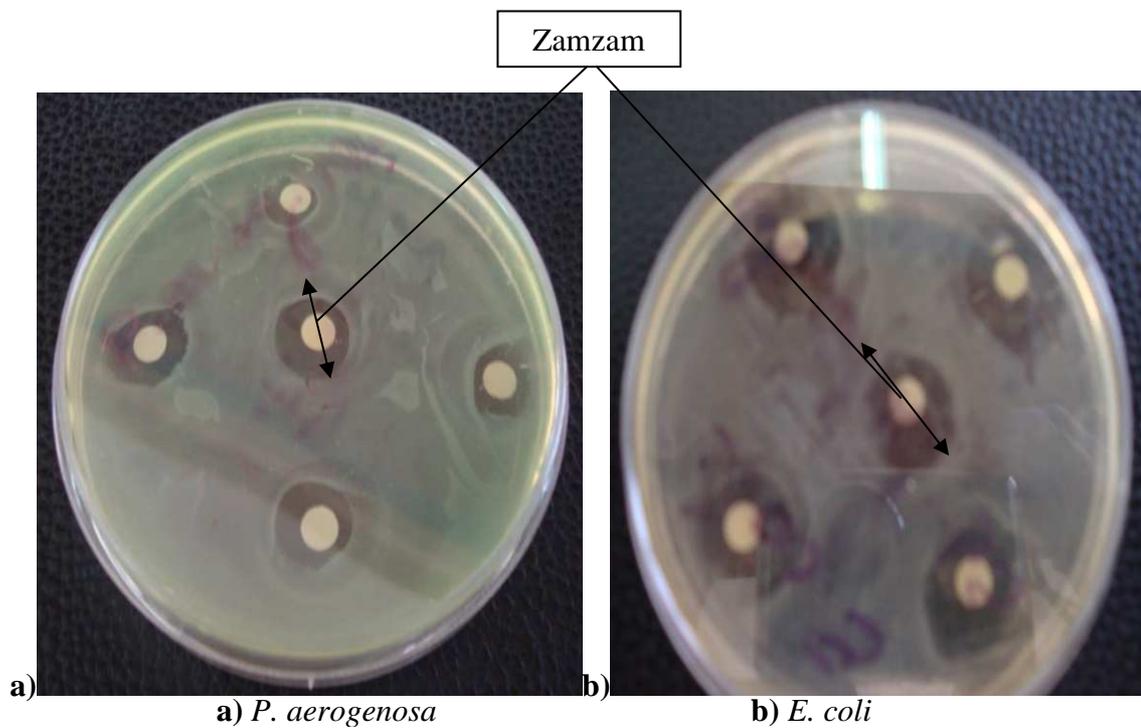


**Photo 9 :** Zone d'inhibition des eaux de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana vis-à-vis *E. coli*



**Photo 10 :** Zone d'inhibition des eaux de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana vis-à-vis *Pr. mirabilis*

Indéniablement, la zone d'inhibition la plus élevée apparaît dans l'eau de Zamzam vis-à-vis de *E. coli*, elle est de : 22 mm (photo 11) et une activité intermédiaire contre les autres bactéries.



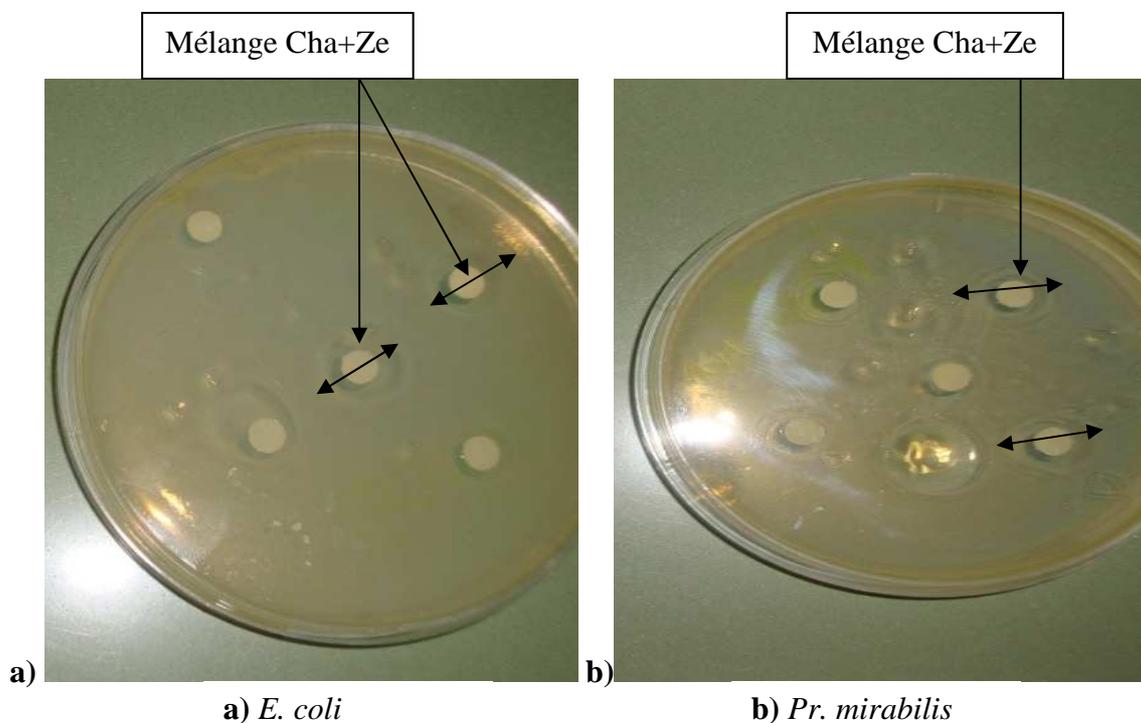
**Photo 11 :** Zone d'inhibition de l'eau de Zamzam vis-à-vis: **a)** *P. aerogenosa*, **b)** *E. coli*

Les résultats de la lecture des zones d'inhibitions des disques imprégnés préalablement par un mélange des eaux: de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana et un autre mélange des eaux: de Hammam El-Charef, Hammam Zelfana et de Zamzam, sont figurés dans le tableau 15.

**Tableau 15 :** Activité antibactérienne des mélanges des eaux de Hammam El-Charef, de Hammam Zelfana et de Zamzam sur les bactéries pathogènes

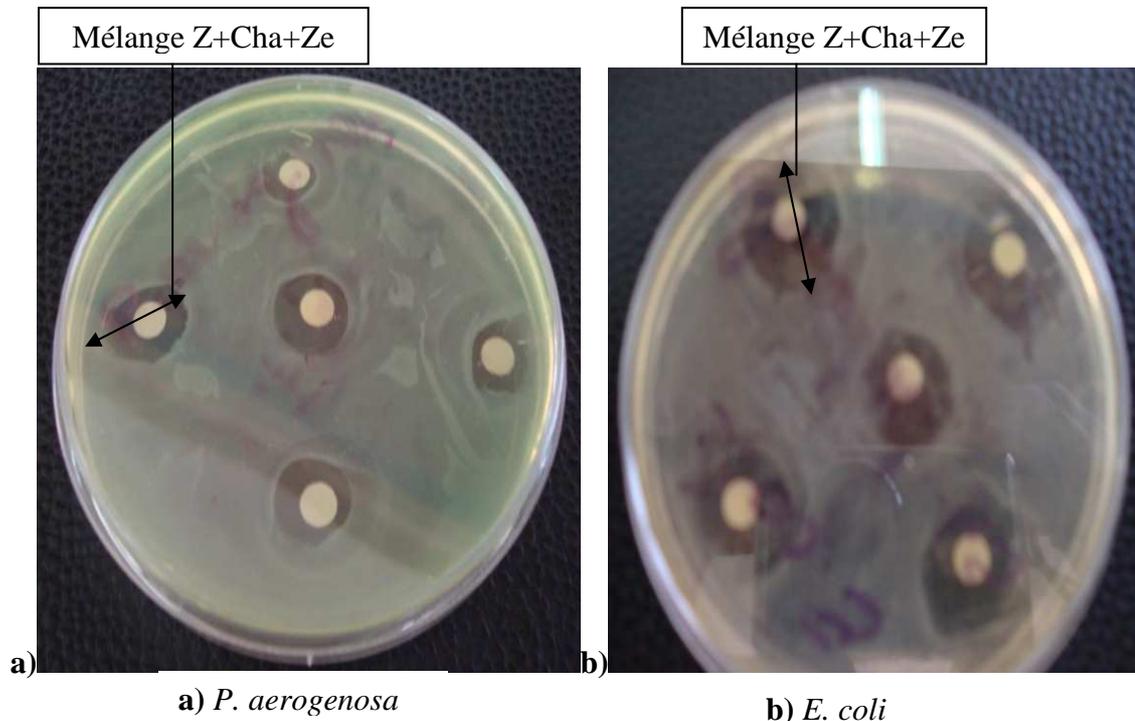
<b>Bactéries</b>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aerogenosa</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>S. typhi</i>	<i>Shigella</i> sp.
<b>Mélange des inhibiteurs</b>						
Mélange (Cha+Ze)	14	11	12	16	12	13
Mélange (Z+Cha+Ze)	24	14	20	18	15	13

Après la lecture des boîtes de Pétri, nous remarquons une augmentation nette du diamètre de la zone d'inhibition dans les disques imprégnés par le mélange 1/1 des eaux de Hammam El-Charef avec Zelfana qui atteint un  $\phi$  de 16 mm vis-à-vis *Pr. mirabilis*, 14 mm pour *E. coli* contre 12 mm et 11 mm pour *S. typhi* et *S. aureus* respectivement (photos 12 a et 12 b).



**Photo 12 :** Zone d'inhibition de mélange de Hammam El-Charef et Zelfana vis-à-vis : **a) *E. coli***, **b) *Pr. mirabilis***

Par ailleurs, le mélange 1/1/1 des trois eaux minérales augmente considérablement la zone d'inhibition. Il semble que l'addition de l'eau de Zamzam aux deux précédant eaux minérales améliore nettement l'effet inhibiteur du premier mélange contre les germes où la valeur du diamètre d'inhibition atteint 24 mm contre 20 mm pour *E. coli* et *P. aerogenosa* respectivement (photo 13).



**Photo 13 :** Zone d'inhibition de mélange des trois eaux minérales vis-à-vis: **a)** *P. aerogenosa*, **b)** *E. coli*

En outre, nous avons comparé les résultats de l'activité antibactérienne des eaux en comparaison avec ceux de l'action antibiotiques (gentamicine et chloramphénicol) vis-à-vis les mêmes bactéries dont les résultats sont résumés dans le tableau 16.

**Tableau 16 :** Zones d'inhibition de deux antibiotiques (gentamicine et chloramphénicol) vis-à-vis des bactéries à tester

<b>Bactéries</b>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aerogenosa</i>	<i>Pr. mirabilis</i>	<i>S. typhi</i>	<i>Shigella</i> sp.
<b>Antibiotiques</b>						
Gentamicine	25	25	31	10	20	6
Chloromphénicol	30	25	12	28	31	6

La zone d'inhibition de mélange des eaux de Hammam El-Charef et de Hammam Zelfana atteint le 16 mm vis-à-vis *Pr. mirabilis*, donc une activité inhibitrice supérieur à gentamicine contre la même bactérie.

Aussi pour la zone d'inhibition de mélange des trois eaux minérales atteint le 18 mm vis-à-vis *Pr. mirabilis* et de 20 mm vis-à-vis *P. aerogenosa*, ce qui est supérieur à l'effet de chloramphénicol contre cette dernière.

Les figures 24, 25 et 26 représente les histogrammes de diamètre d'inhibition des bactéries les plus sensibles vis-à-vis de l'eau de Zamzam et le mélange de trois eaux. Elles expliquent les tableaux 14, 15 et 16 et elles nous permettent de noter l'inhibiteur le plus efficace.

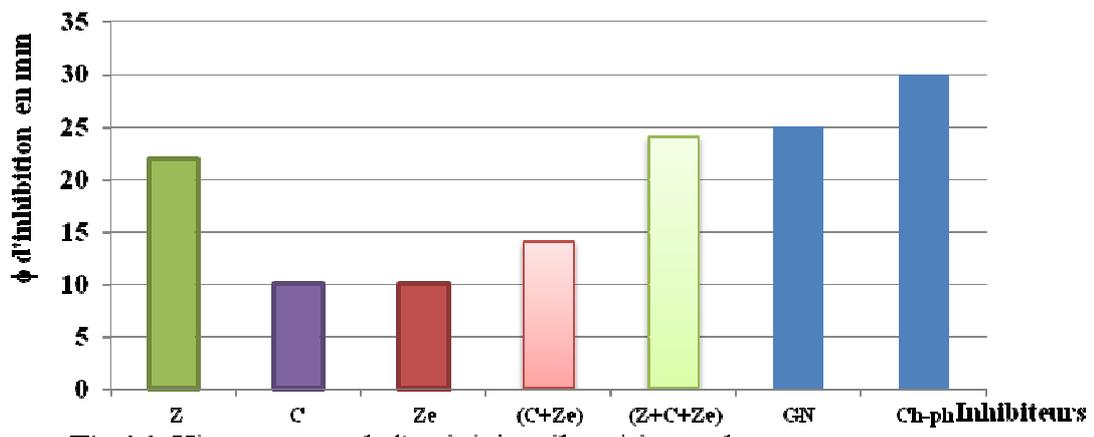


Figure 24: Histogramme de l'activité antibactérienne des inhibiteurs vis-à-vis de *E. coli*

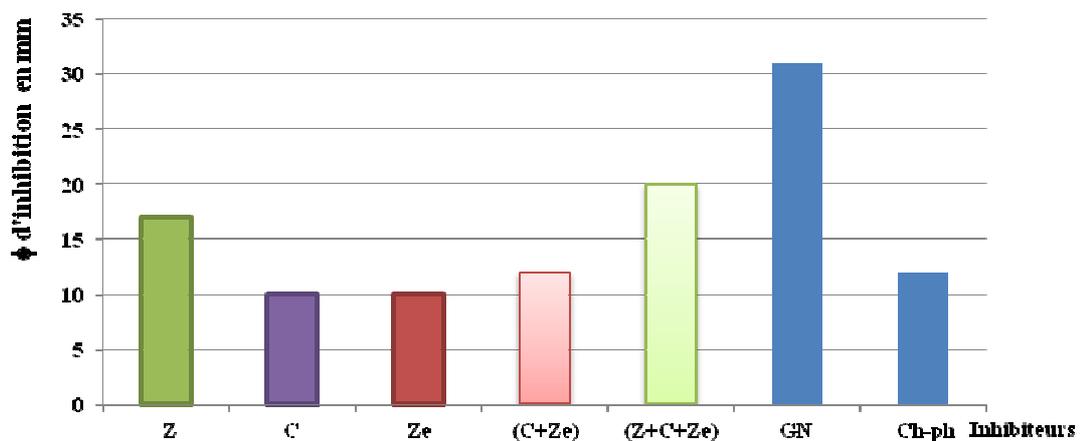
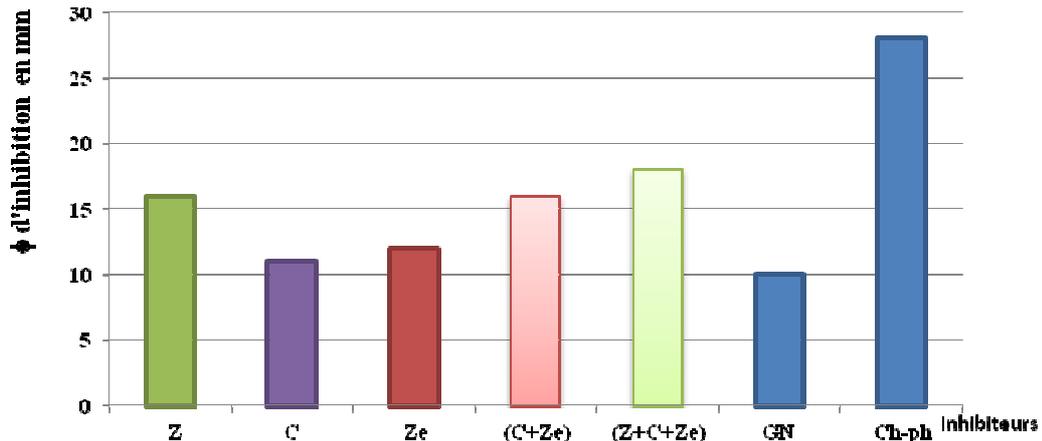


Figure 25: Histogramme de l'activité antibactérienne des inhibiteurs vis-à-vis de *P. aerogenosa*



**Figure 26:** Histogramme de l'activité antibactérienne des inhibiteurs vis-à-vis de *Pr. mirabilis*

Lorsqu'on a vérifié le type d'inhibition des eaux, on prit en considération seulement les zones d'inhibitions supérieures à 14 mm parce qu'il est facile de faire un prélèvement à l'aide d'un écouvillon dans cette zone. L'eau de Zamzam est une eau ayant une action bactéricide vis-à-vis de: *E. coli*, *Pr. mirabilis* et *P. aerogenosa*

L'effet inhibiteur de mélange des eaux de Hammam El-Charef avec Hammam Zelfana vis-à-vis *Pr. mirabilis* est de type bactéricide, grâce à l'absence de troubles après l'incubation dans le bouillon nutritif à 37°C pendant d 24h, c'est-à-dire une inhibition irréversible vis-à-vis cette bactérie à Gram<sup>(-)</sup>. Par contre, le mélange entre les deux eaux minérales (Cha+Ze) semble d'être bactériostatique pour *E. coli* du fait qu'on a noté la présence de troubles après incubation, cette inhibition étant réversible de la croissance grâce à la présence de troubles dans le bouillon nutritif après incubation.

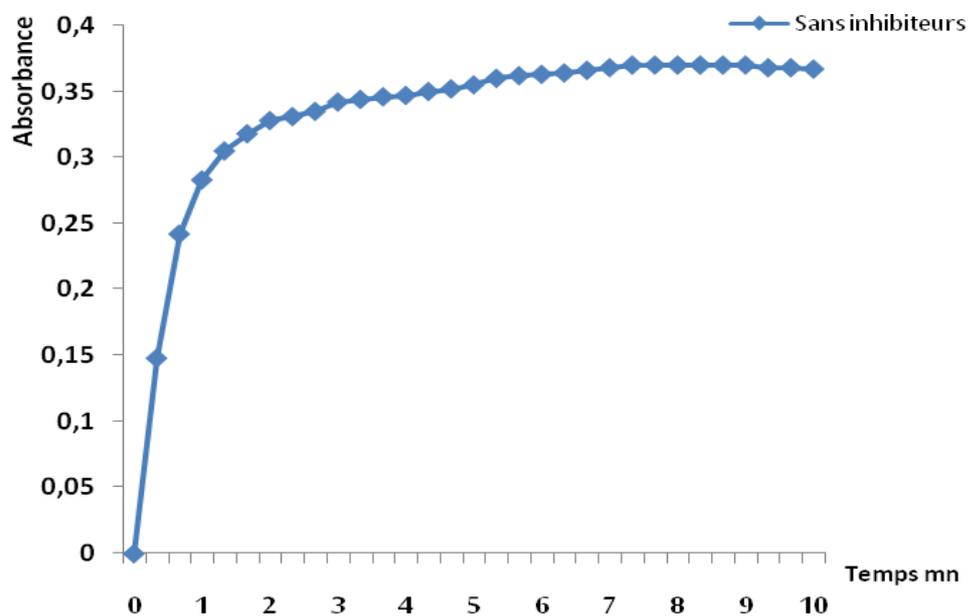
Pour les résultats du mélange des trois eaux minérales (Z+Cha+Ze), l'inhibition semble être bactéricide à l'encontre des toutes bactéries Gram<sup>(-)</sup>, à l'exception de bactérie à Gram<sup>(+)</sup> tels que : *S. aureus* où l'inhibition fait apparaitre toujours l'effet bactériostatique. Cette résistance de *S. aureus* vis-à-vis du mélange des trois eaux est expliquée par la paroi bactérienne épaisse de cette bactérie à Gram<sup>(+)</sup> et les réticulations importantes de peptidoglycane, Alors que les bactéries Gram<sup>(-)</sup> sont moins riches en peptidoglycane, ce qui facilite la pénétration de l'eau chargé en éléments susceptibles d'entraîner l'inhibition de la croissance des bactéries ou la lyse des bactéries.

## II.1.4- Résultats de l'activité anti oxalo-calcique :

### II.1.4.1- Résultats obtenus par spectrophotomètre U.V/Visible :

**II.1.4.1.1- Essais sans inhibiteur:** Les essais sans inhibiteurs sont effectués pour des concentrations de l'ordre de 07 mmol/l de chlorure de calcium et de 03 mmol/l d'oxalate de sodium.

La figure 27 montre la variation de l'absorbance en fonction du temps pour l'essai sans inhibiteur, on observe que l'absorbance atteint un niveau supérieur à 0,35.



**Figure 27 :** Courbe de cristallisation sans inhibiteurs.

D'après la courbe (figure 27), il y a deux étapes :

- La première correspond à la croissance cristalline : cette étape est caractérisée par la pente turbidimétrique où l'absorbance augmente jusqu'à une valeur maximale.
- La deuxième correspond à l'agrégation cristalline.

L'étape de germination n'est pas lisible à cause de la forte concentration en ions oxalate et calcium.

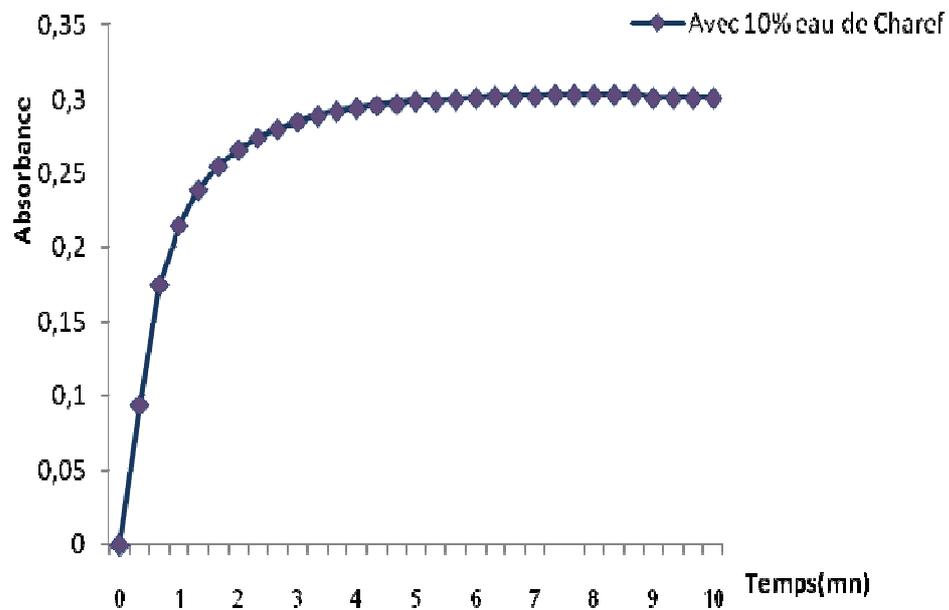
Les valeurs de la pente, de la régression linéaire R et du coefficient de la variation (Cv) sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 17 : Résultats obtenus sans inhibiteurs

Concentration en mmol/l	Pente	R	Cv%
$[\text{Ca}^{+2}] = 0,07 \text{ mmol/l}$ et $[\text{C}_2\text{O}_4^{-2}] = 0,03 \text{ mmol/l}$	0,2757	0,911	3,99

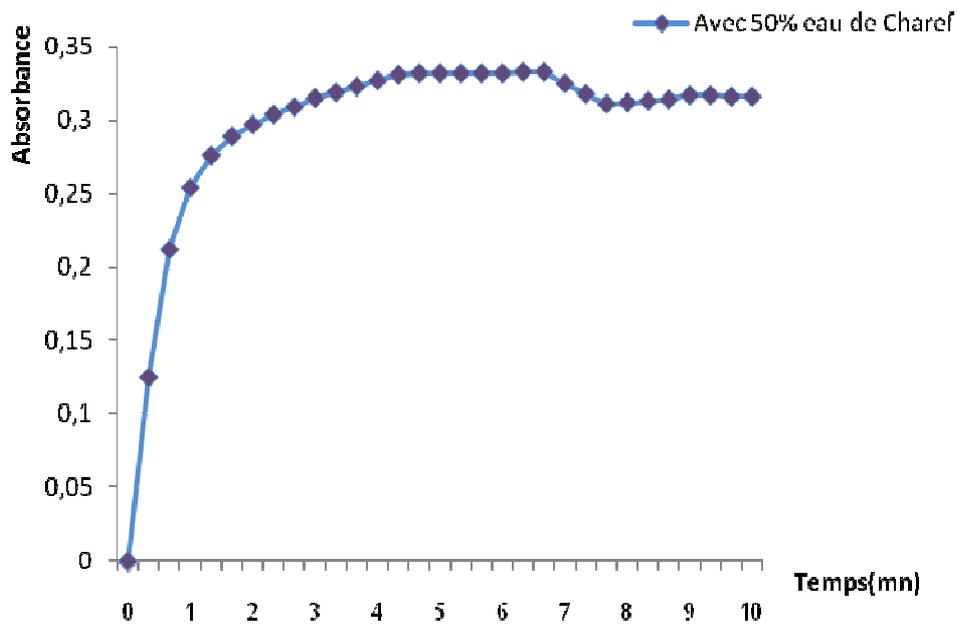
#### II.1.4.1.2- Essais avec inhibiteur:

**II.1.4.1.2.1- Eau de Hammam El-Charef :** Les figures (28, 29, 30 et 31) et le tableau 18 donnent les résultats de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur de l'eau de Hammam El-Charef soit : 10, 50 et 100%.



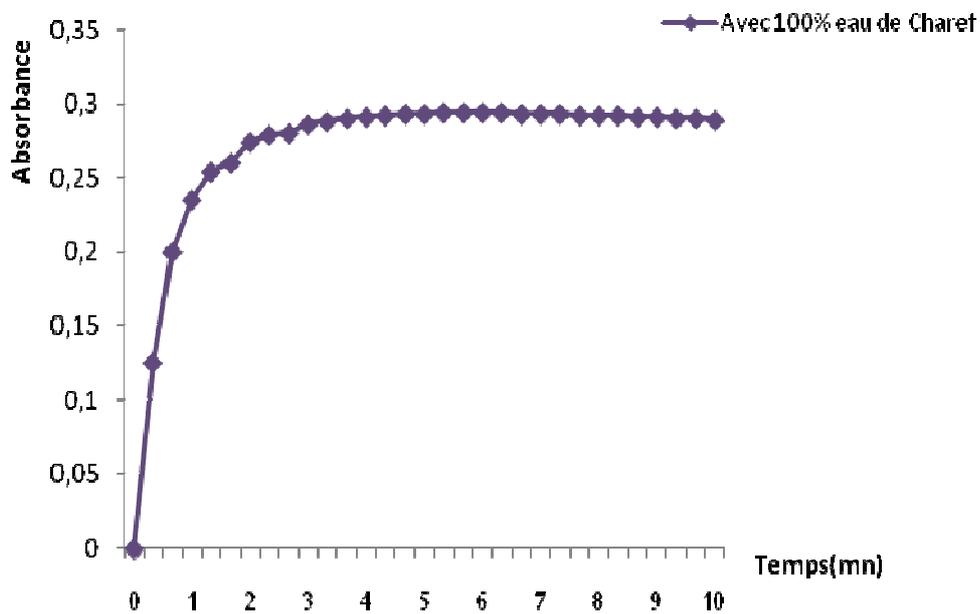
**Figure 28 :** Courbe de cristallisation avec inhibiteur (10% de l'eau de Hammam El-Charef)

L'absorbance maximale correspond à 10% de l'inhibiteur de Hammam El-Charef (figure 28) est de 0,3 et se stabilise à cet valeur à partir de la 5<sup>ième</sup> minute.



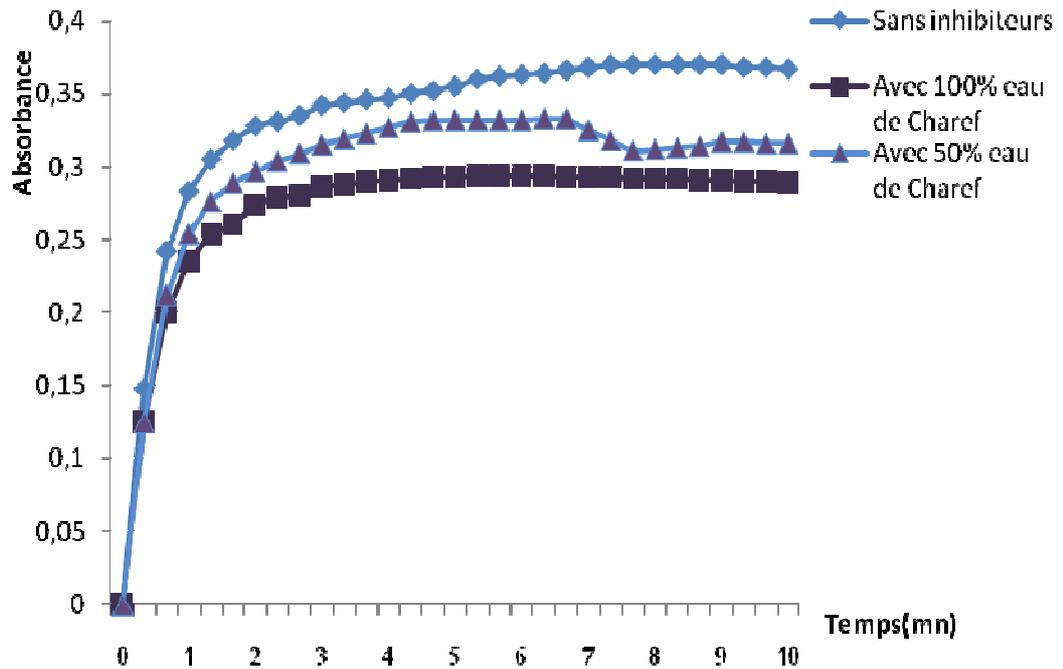
**Figure 29 :** Courbe de cristallisation avec inhibiteur (50% de l'eau de Hammam El-Charef)

Dans la figure 29, l'absorbance est située entre 0.32 et 0,34 et diminue à 0,3 dès la 6<sup>ème</sup> minute.



**Figure 30 :** Courbe de cristallisation avec inhibiteur (100% de l'eau de Hammam El-Charef)

La figure 30 montre une absorbance maximale de 0.3.



**Figure 31 :** Courbe de cristallisation avec et sans inhibiteurs "Eau de Hammam El-Charef"

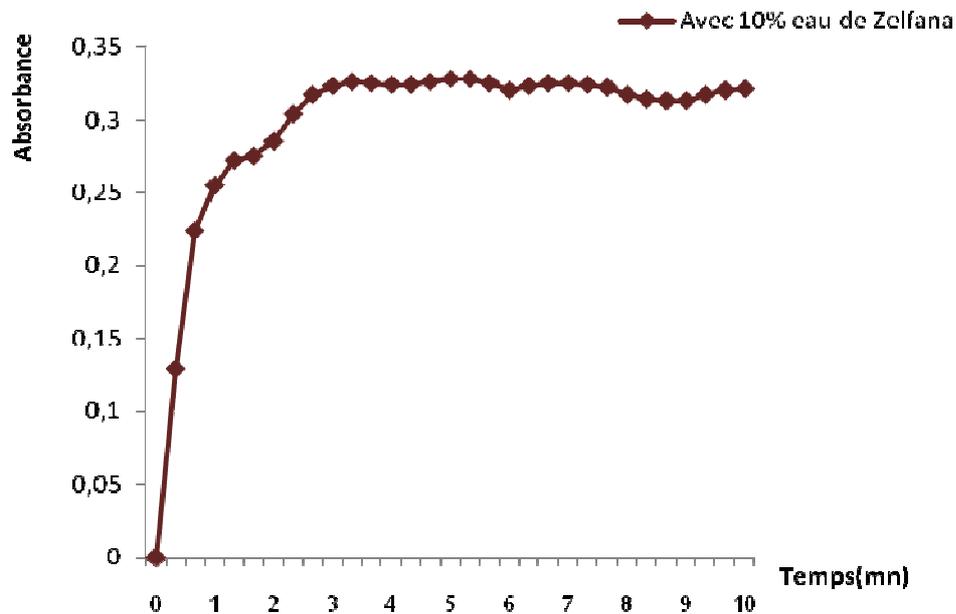
Lorsqu'on recueille les trois courbes de cristallisation (figure 31), on observe nettement la différence de l'absorbance maximale entre eux.

**Tableau 18 :** Résultats obtenus avec inhibiteur (l'eau de Hammam El-Charef)

Concentration d'inhibiteur (%)	Pente	R	Cv%	I%
10	0,2378	0,968	4,82	13,74
50	0,2159	0,978	3,58	21,69
100	0,1814	0,958	6,02	34,20

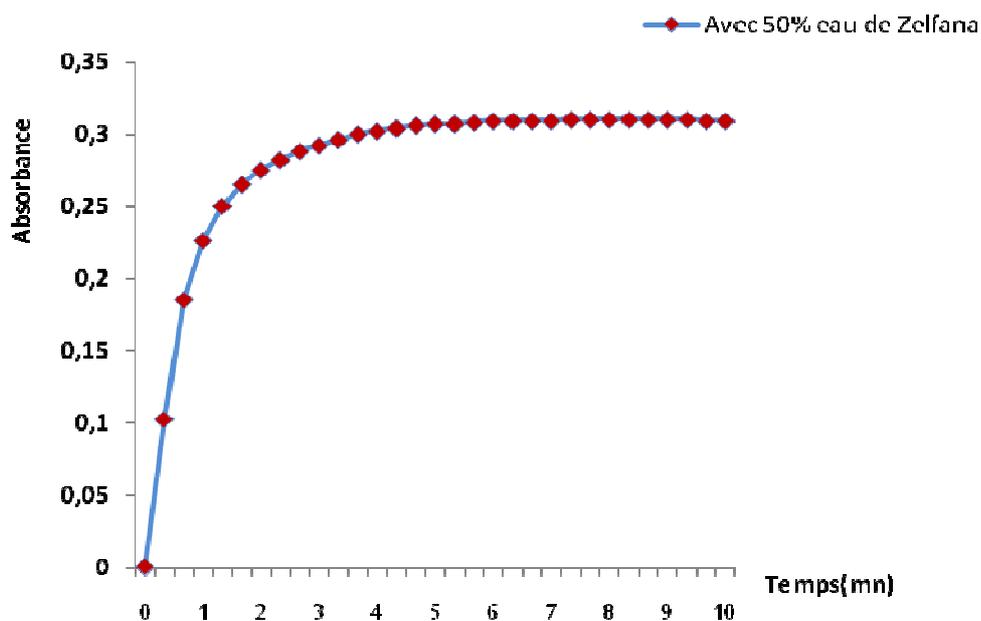
On remarque que le pourcentage d'inhibition augmente avec les concentrations de l'inhibiteur mais d'une façon relativement faible.

**II.1.4.1.2.2- Eau de Hammam Zelfana:** Les figures (32, 33, 34 et 35) et le tableau 19 représentent les résultats du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur de l'eau de Hammam Zelfana 10, 50 et 100% où on note les mêmes remarques avec l'inhibiteur précédent.



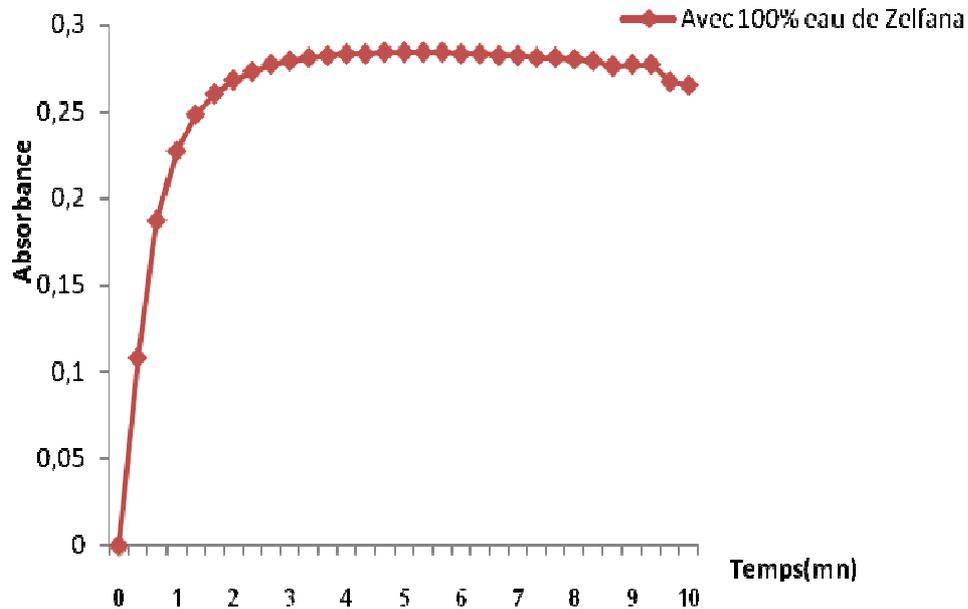
**Figure 32 :** Courbe de cristallisation avec inhibiteur (10% de l'eau de Hammam Zelfana)

On remarque dans la figure 32 une fluctuation de l'absorbance entre 0,32 et 0,33.



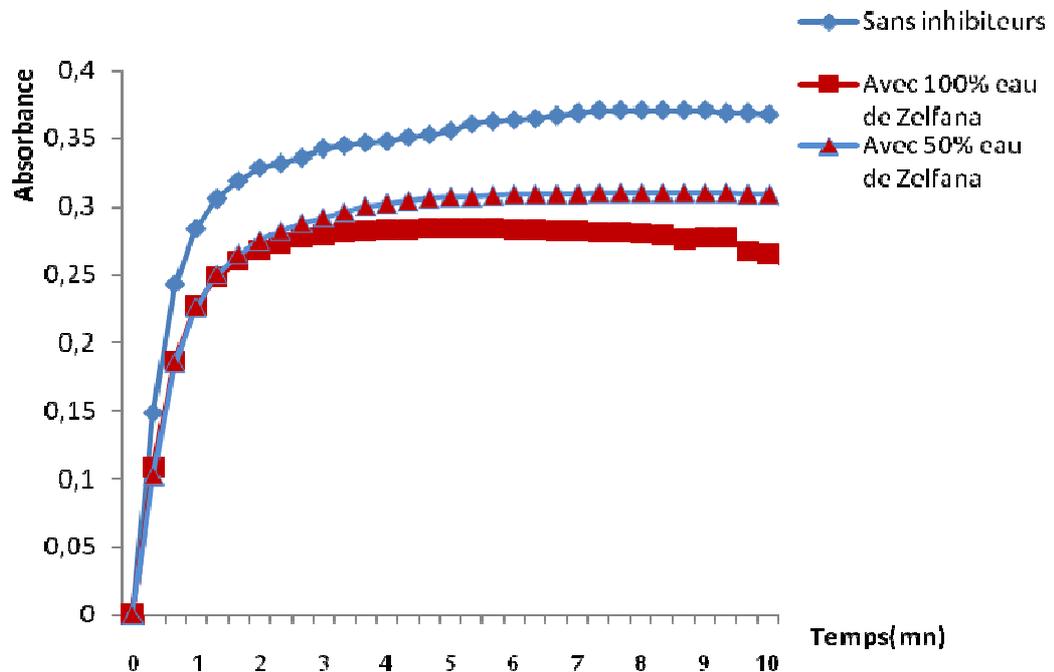
**Figure 33 :** Courbe de cristallisation avec inhibiteur (50% de l'eau de Hammam Zelfana)

L'absorbance maximale est de 0,3 (figure 33), elle devient stable à partir de la 5<sup>ème</sup> minute.



**Figure 34 :** Courbe de cristallisation avec inhibiteur (100% de l'eau de Hammam Zelfana)

La figure 34 montre que l'absorbance maximale est inférieure à 0,28, entre la 2<sup>ème</sup> et la 8<sup>ème</sup> minute, et diminue dès la 9<sup>ème</sup> minute jusqu'à 0,25.



**Figure 35 :** Courbe de cristallisation avec et sans inhibiteur "Eau de Hammam Zelfana"

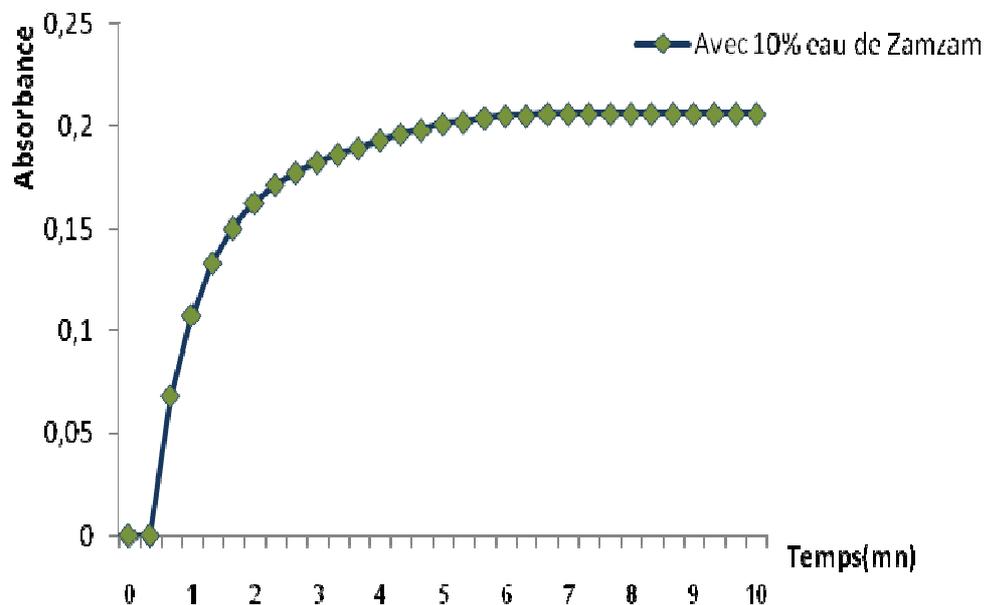
La figure 35 montre assez bien la diminution de l'absorbance maximale avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur.

Les résultats des essais effectués avec l'eau de Hammam Zelfana sont reportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 19** : Résultats obtenus avec inhibiteur (l'eau de Hammam Zelfana)

Concentration d'inhibition (%)	Pente	R	Cv%	I%
10	0,2165	0,976	1,96	21,47
50	0,1961	0,962	5,60	28,87
100	0,1786	0,964	5,41	35,22

**II.1.4.1.2.3- Eau de Zamzam** : Les figures (36-39) et le tableau 20 représentent les résultats obtenus avec inhibiteur de l'eau de Zamzam à des concentrations 10, 50 et 100%.



**Figure 36** : Courbe de cristallisation avec inhibiteur (10% de l'eau de Zamzam)

L'étape de germination est visualisée dans la figure 36 où l'absorbance atteint la valeur de 0,2.

La figure 37 montre la diminution de l'absorbance maximale à 0,19 avec un 50% de l'inhibiteur.

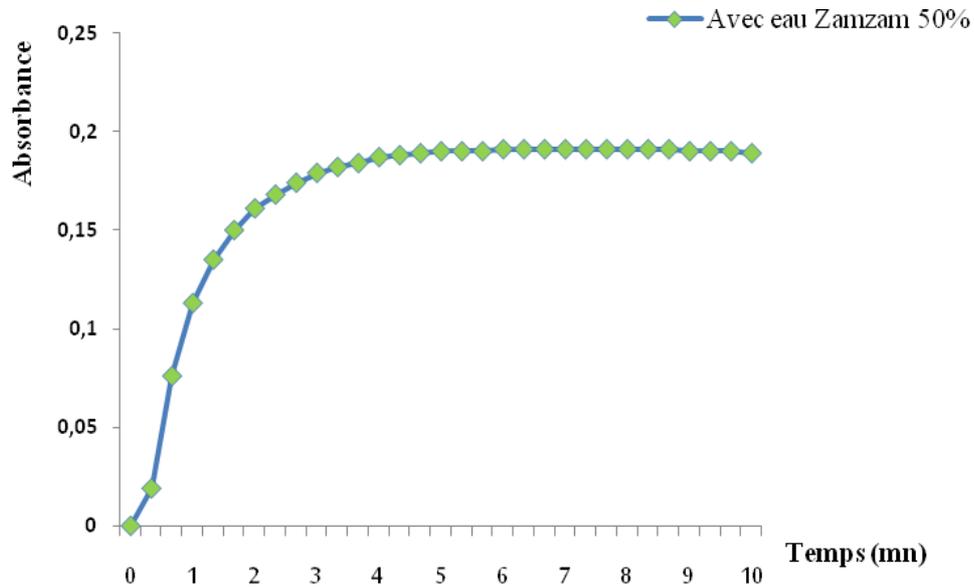


Figure 37 : Courbe de cristallisation avec inhibiteurs (50% de l'eau de Zamzam)

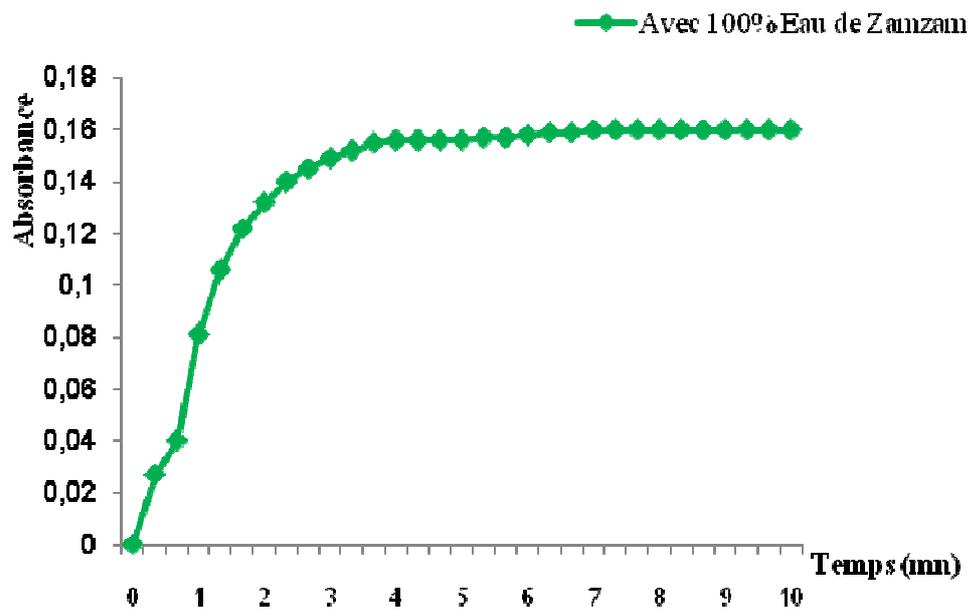
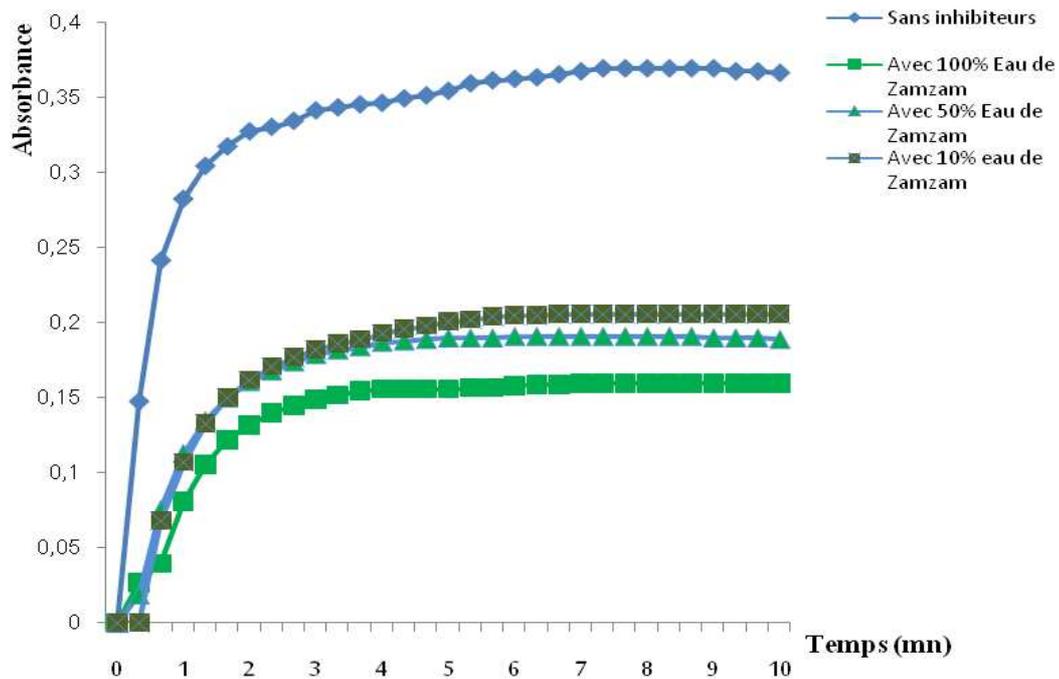


Figure 38 : Courbe de cristallisation avec inhibiteur (100% de l'eau de Zamzam)

Avec un 100% de l'inhibiteur, l'absorbance diminue jusqu'à 0,16 et se stabilise à cette valeur dès la 4<sup>ème</sup> minute (figure 38).



**Figure 39** : Courbe de cristallisation avec et sans inhibiteurs "Eau de Zamzam"

Nous remarquons aussi, que la grande différence de l'absorbance est bien démontrée dans la figure 39 où sa valeur est supérieure à 0,35 pour la cristallisation sans inhibiteur et de 0,16 pour la cristallisation avec 100% d'eau de Zamzam.

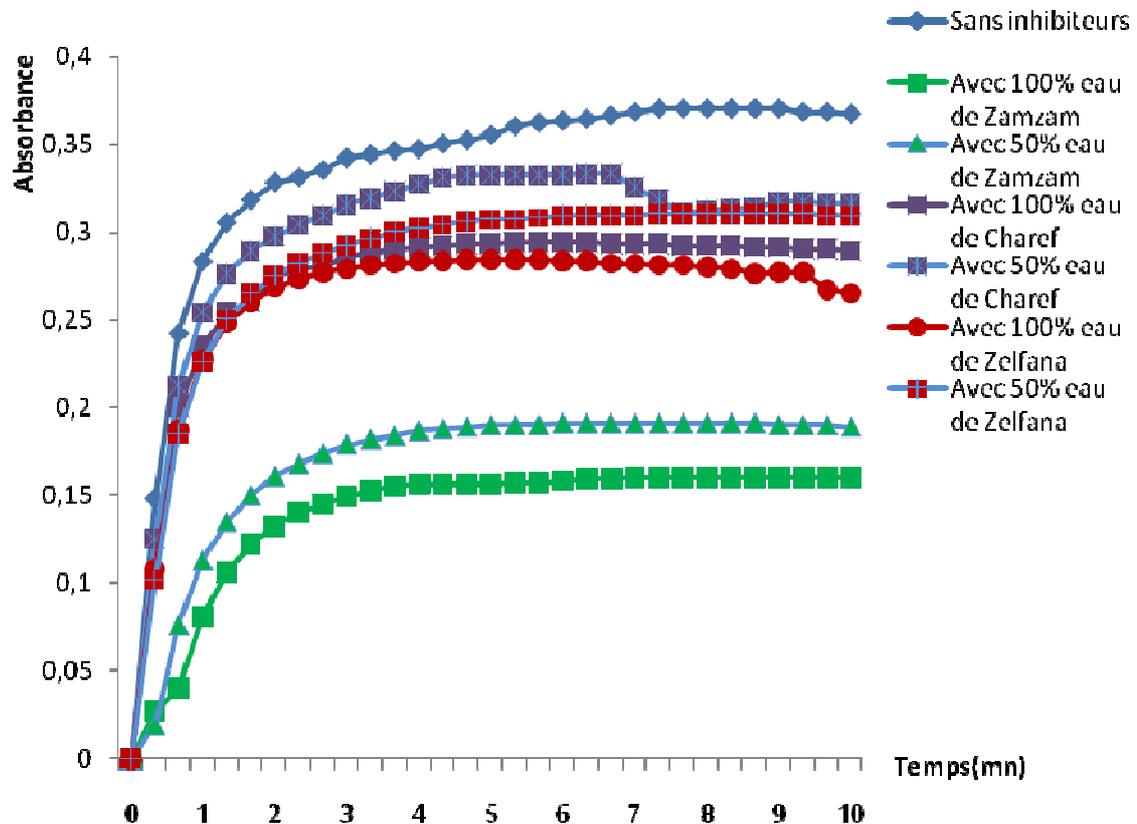
Les résultats des essais effectués avec l'eau de Zamzam sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 20** : Résultats obtenus avec inhibiteur (l'eau de Zamzam)

Concentration d'inhibiteur (%)	Pente	R	Cv%	I%
10	0,1365	0,994	5,20	50,48
50	0,1160	0,962	6,86	57,92
100	0,0814	0,957	6,38	70,47

Nous remarquons des coefficients de régression élevés et des coefficients de variation relativement faible. Par ailleurs, le pourcentage d'inhibiteur augmente lorsqu'on augmente la

concentration d'inhibiteur (avec 100% d'inhibiteur on obtient plus de 70% d'inhibition de la cristallisation oxalo-calcique).

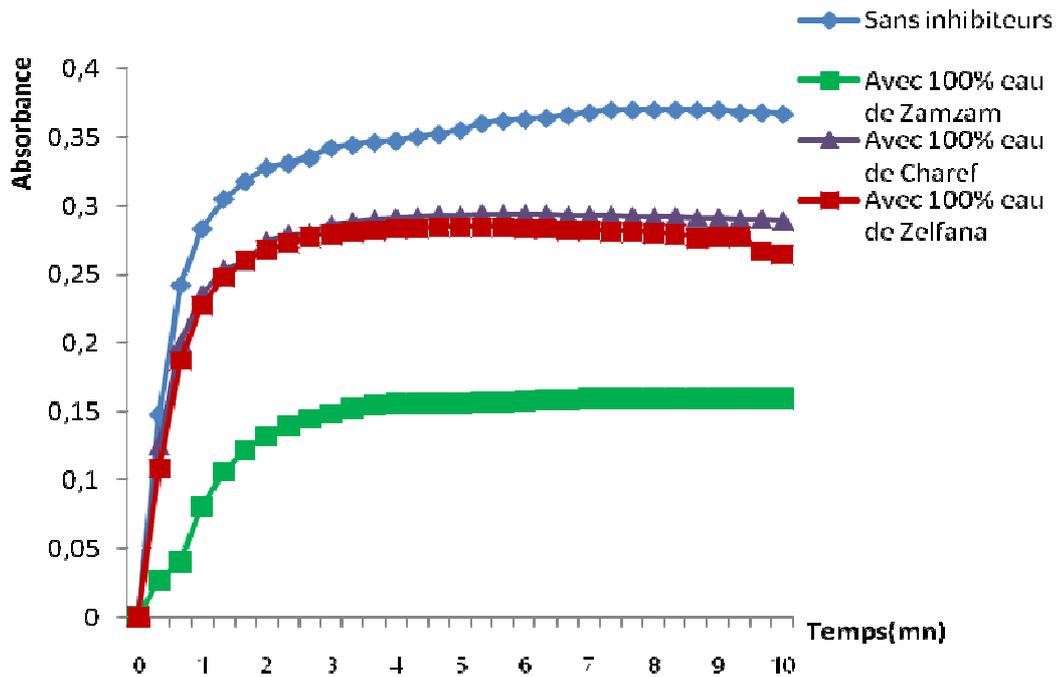


**Figure 40** : Courbe de cristallisation sans et avec inhibiteurs (50 et 100%)

La figure 40 résume les courbes de cristallisation sans et avec inhibiteurs à des concentrations 50 et 100%. Nous remarquons une inhibition remarquable de l'eau de Zamzam avec 50 et 100%.

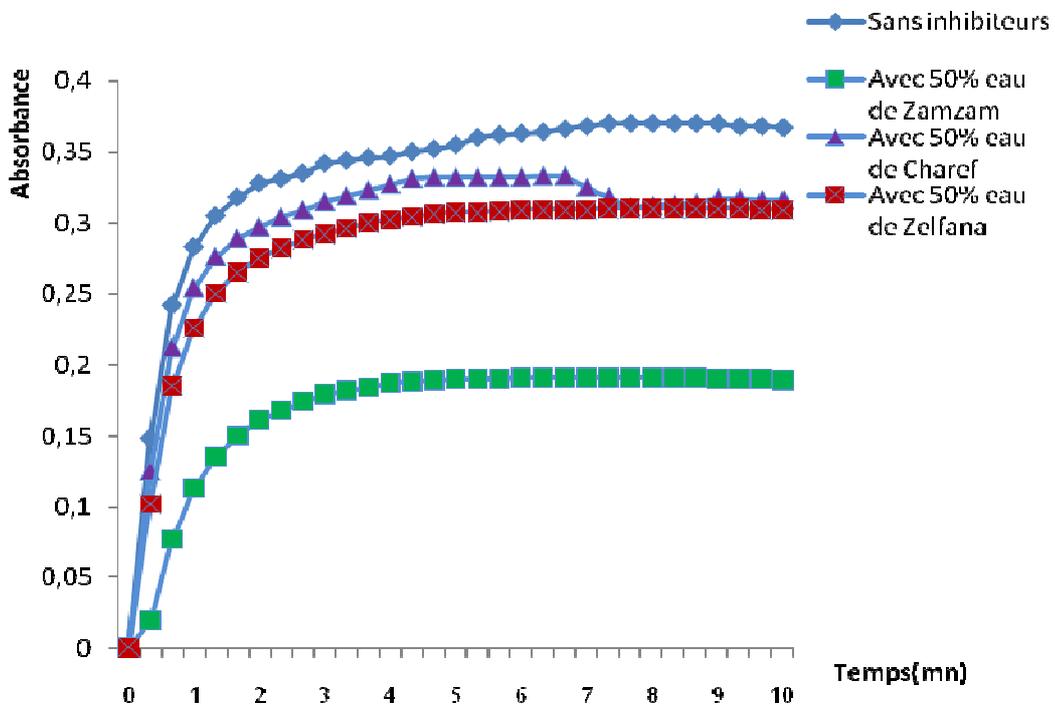
Les figures 41 et 42 représentent les courbes de cristallisation sans et avec inhibiteurs à des concentrations de 50 et 100%. Ils montrent clairement que l'inhibition de l'eau minérale de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana est presque identique dans ces deux concentrations 50 et 100% d'inhibiteur.

Dans la figure 41 les deux courbes de cristallisation avec inhibiteur de l'eau de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana sont presque superposées.



**Figure 41:** Courbe de la cristallisation sans et avec inhibiteur (à 100%)

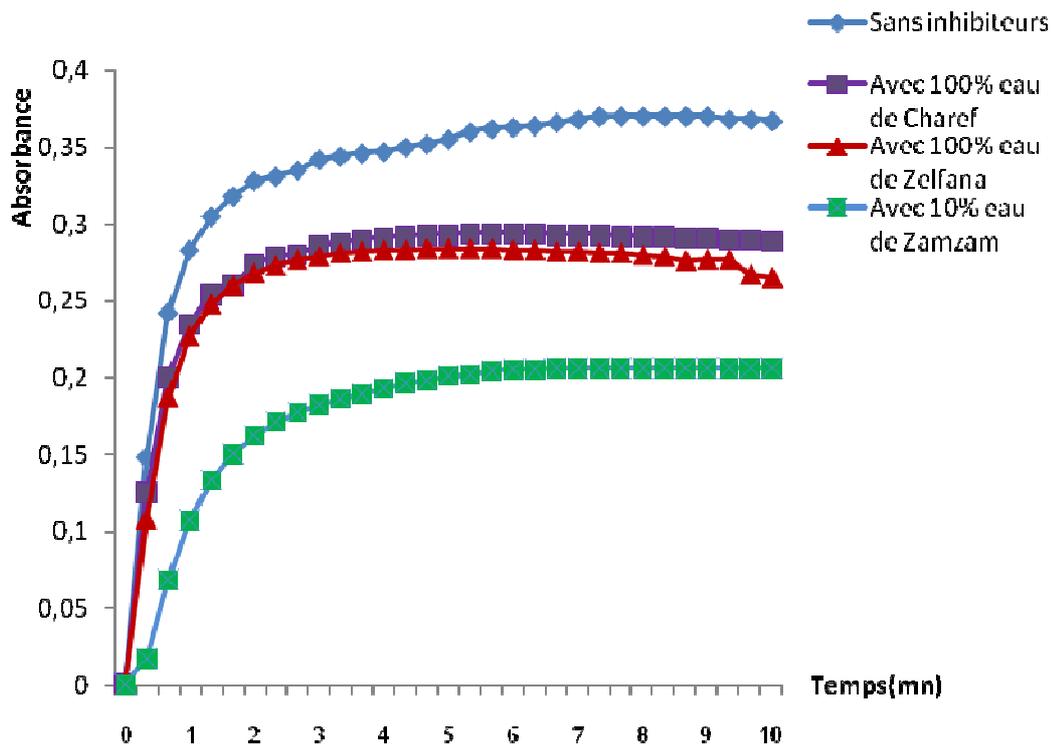
La comparaison des courbes de cristallisation avec inhibiteur à 50%, on remarque une absorbance maximale de la courbe de cristallisation avec l'inhibiteur de l'eau de Hammam El-Charef est supérieure à celle avec l'inhibiteur de l'eau de Hammam Zelfana.



**Figure 42 :** Courbe de cristallisation sans et avec inhibiteurs (avec 50%)

La figure 43 montre les courbes de cristallisation sans inhibiteurs et avec inhibiteurs à des concentrations de 100% pour l'eau de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana, avec l'inhibiteur de l'eau minérale de Zamzam à une concentration de 10%. Elle nous permet de comparer leurs activité anti oxalo-calcique et de connaître l'eau le plus efficace contre l'inhibition de cristallisation.

Aussi on remarque que 10% de l'eau de Zamzam a un effet d'inhibition plus important que les deux autres eaux dont la concentration est 100%.



**Figure 43 :** Courbe de cristallisation sans et avec inhibiteurs (L'eau de Hammam El-Charef et Zelfana à 100% et l'eau de Zamzam à 10%)

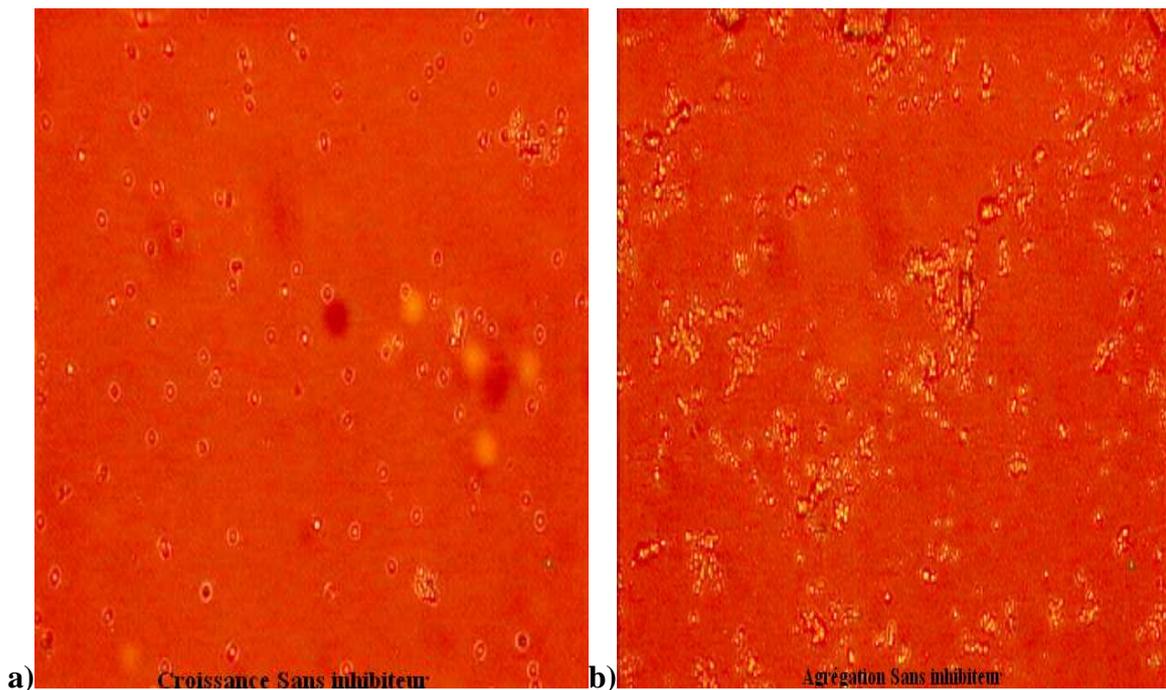
## II.1.4.2- Résultats obtenus au microscope:

### II.1.4.2.1- Essais sans inhibiteur:

Les photos 14 a et 14 b prises en provoquant une cristallisation sans inhibiteurs à des concentrations en ions calcium et en ions oxalate (100 mmol/l et 08 mmol/l) donnent des images facilement exploitables car les cristaux sont de grandes tailles.

Les photos de la phase de nucléation sont généralement impossibles à prendre lorsque nous travaillons à des fortes concentrations.

Par contre, nous pouvons voir clairement la différence entre les deux photos correspondant respectivement à la phase de croissance et d'agrégation, qui consiste en une augmentation du nombre et de la taille des cristaux en fonction de temps.

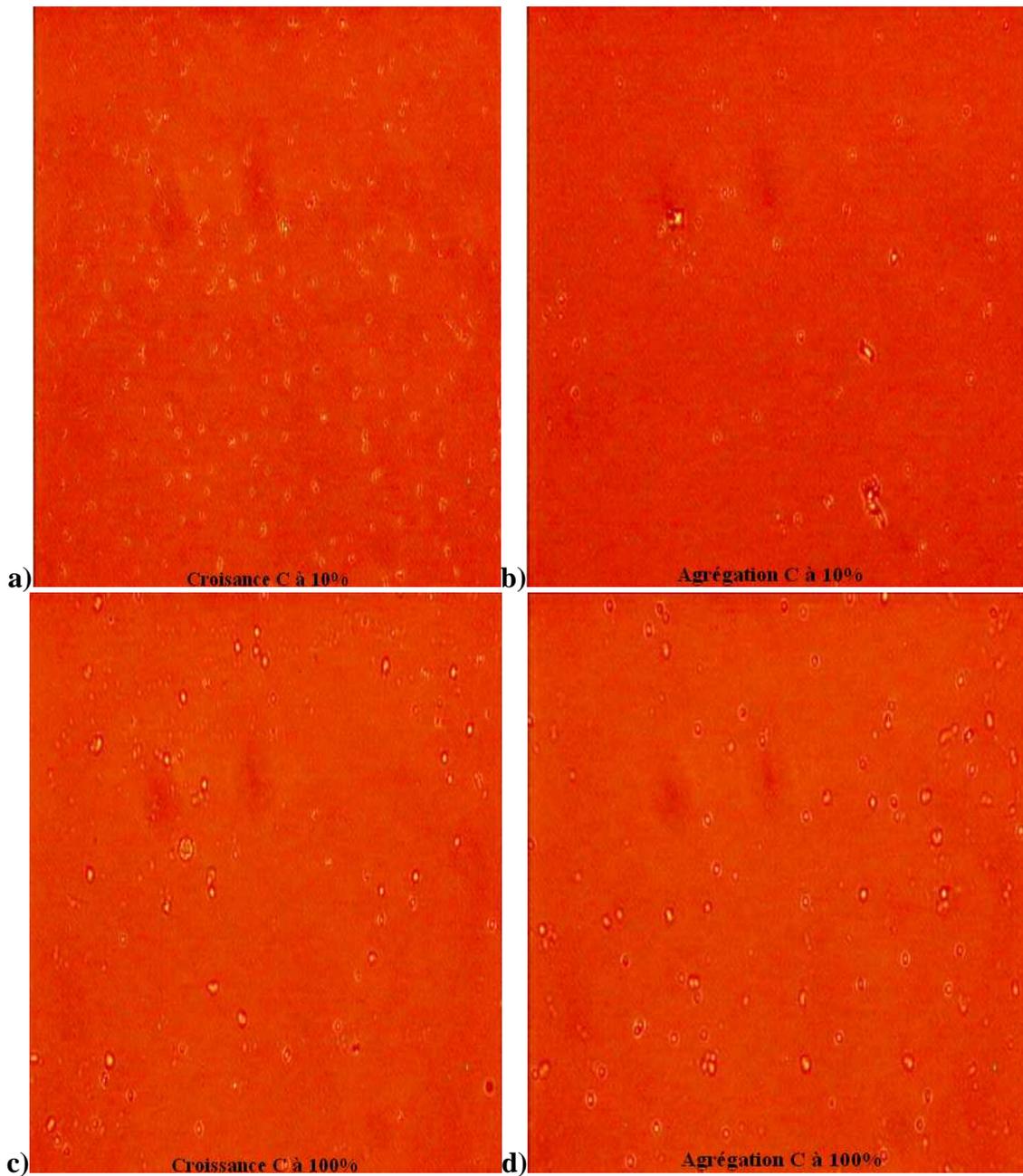


**Photo 14 : Sans inhibiteur**

La photo 14 a (phase de croissance) montre l'existence des cristaux de taille plus importante.

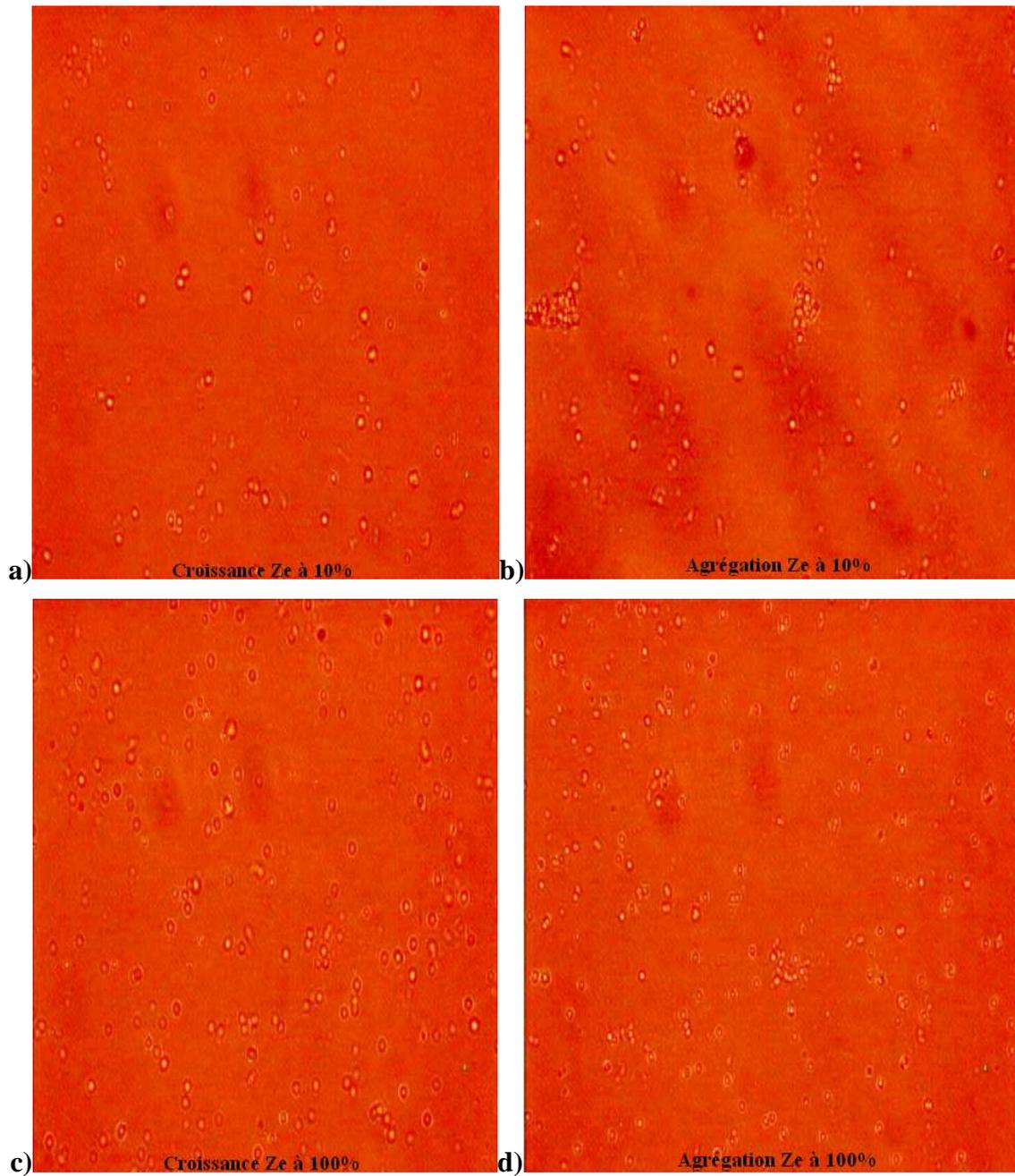
Dans la phase d'agrégation les cristaux sont de taille plus grands, et se rapprochent les uns aux autres pour former des agrégats en grand nombre (photo 14 b).

## II.1.4.2.2- Essais avec inhibiteur:



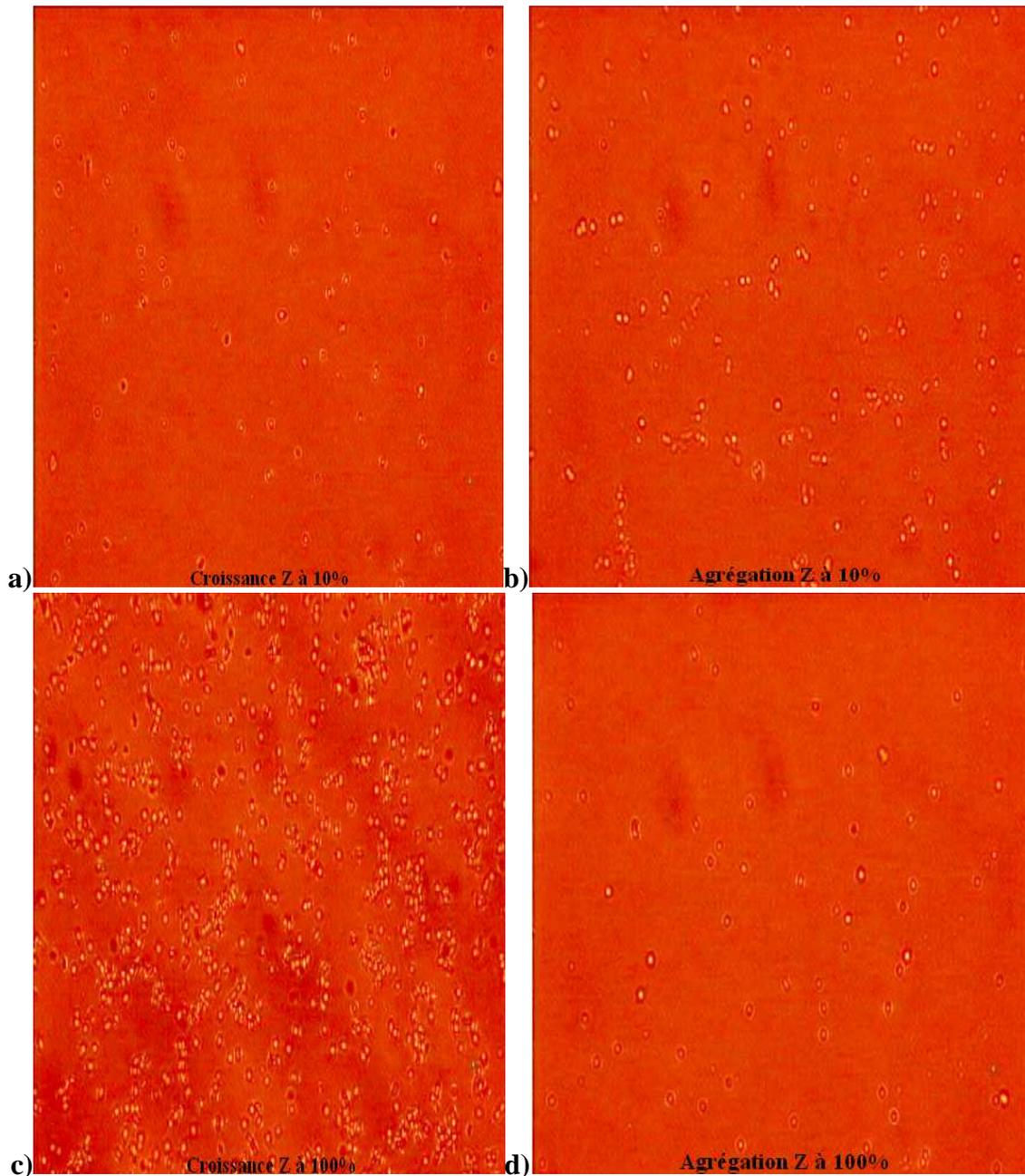
**Photo 15 :** Avec inhibiteur de l'eau de Hammam El-Charef à concentration 10% et 100%

D'après les photos 15 a et 15 b, on observe que la taille des agrégats a diminué considérablement après l'addition de l'eau de Hammam El-Charef à 10%, et cette inhibition est augmentée avec 100% d'inhibiteur (c et d).



**Photo 16 :** Avec inhibiteur de l'eau de Hammam Zelfana à concentration 100% et 10%

Dans les photos 16 a, 16 b, 16 c et 16 d, on note la même observation avec le premier inhibiteur, la taille des agrégats a diminué avec 100% d'eau de Hammam Zelfana par rapport à 10%.



**Photo 17 :** Avec inhibiteur de l'eau de Zamzam à concentration 10%et 100%

Lorsqu'on compare les photos (14, 15, 16 et 17) correspondant aux essais sans et avec inhibiteurs respectivement, on remarque que pour les deux étapes de croissance et d'agrégation le nombre et la taille des cristaux et d'agrégats sont moins importantes dans les essais avec inhibiteurs (l'eau minérale de Hammam El-Charef, de Hammam Zelfana et l'eau minérale de Zamzam) que dans les essais sans inhibiteurs. Ce qui explique que l'action de l'inhibiteur se manifeste dès la deuxième étape de la cristallisation.

Si on compare les photos 17 a, 17 b, 17 c et 17 d correspondant aux essais avec inhibiteurs de l'eau minérale de Zamzam, on remarque que pour les deux étapes de croissance et d'agrégation le nombre et la taille des cristaux et d'agrégats sont moins importantes, que dans les essais avec inhibiteurs des eaux minérales de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana (les photos 15 et 16).

On observe aussi que le nombre des cristaux augmente juste après l'addition de l'eau de Zamzam à 100% (dans la phase de croissance) après une minute la majorité des cristaux sont disparus comme montre la photo 17 d.

## II.2- Discussion

L'analyse physico-chimique des eaux minérales de Zamzam, de Hammam El-Charef et Zelfana montre une minéralisation assez élevée. On trouve des sels minéraux à des concentrations importants, y compris les ions sulfates qui sont plus de 518 mg/l et les ions  $\text{Fe}^{++}$  sont de 0.11 mg/l, dans l'eau de Zamzam. Les ions de ; calcium, magnésium, sulfates et l'ion de chlorure existent à des concentrations non négligeables dans l'eau de Hammam El-Charef et Zelfana.

Concernant la qualité microbiologique, on observe une absence de toute contamination microbienne par les germes aérobies totaux, coliformes totaux et fécaux et les bactéries sulfitoréductrices. Ceci est totalement conforme aux normes qui exigent la pureté naturelle des eaux minérales souterraines [1, 24, 25].

L'activité antibactérienne de l'eau de Zamzam est remarquable surtout vis-à-vis des *E. coli*. Cette eau minérale améliore l'activité antibactérienne intermédiaire des deux autres eaux surtout vis-à-vis *E. coli* et *P. aerogenosa*. Cette activité expliquée par l'augmentation de substance susceptible d'être inhiber la croissance bactérienne afin de la détruite chez *Pr. mirabilis*, *E. coli* et *P. aerogenosa*, comme la concentration élevée en ions sulfates dans l'eau de Zamzam. En plus de la présence naturelle de fluorure qui est un bon germicide d'après les études de plusieurs chercheurs [12, 13]. Cette activité est sûrement améliorée aussi lors de l'utilisation de ces eaux (de Hammam El-Charef et Zelfana) directement à leur état thermal. La bactérie *Pr. mirabilis* est la cause principale de l'infection urinaire et de la formation de lithiase phospho-ammoniac-magnésienne, donc on peut dire que l'utilisation de l'un des eaux thermo minérales de Hammam El-Charef et Zelfana (utilisation interne: douches inverse et absorption) et/ou l'absorption de l'eau minérale de Zamzam, peut diminuer à titre prophylactique le risque d'infection bactérienne et la lithiase infectieuse.

La composition chimique des eaux analysées n'est pas connue entièrement. Or parmi les ions appartenant à ces eaux, il y a le promoteur de la cristallisation lithiasique ( $\text{Ca}^{++}$ ) et les inhibiteurs ( $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{--}$ ) [71, 72, 88, 93]. Les niveaux de ces éléments minéraux considérés comme inhibiteurs de cristallisation dans l'eau de Zamzam peuvent jouer un rôle effectif dans l'inhibition de la formation des cristaux oxalo-calciques, grâce à l'effet positif des ions sulfates et fer  $\text{Fe}^{++}$ .

La comparaison entre les pentes avec et sans inhibiteurs on note que l'eau minérale de Zamzam est l'inhibiteur le plus efficace (plus de 70%) que les eaux minérales de Hammam El-Charef et Zelfana (plus de 34% et 35% respectivement).

Une concentration de 10% de l'inhibiteur de Zamzam est plus efficace que les deux autres inhibiteurs malgré que leurs concentrations soient de 50% ou 100%. Les eaux de Hammam El-Charef et Zelfana ont une activité anti oxalo-calcique presque identique grâce à leurs compositions assez identiques.

L'étude complémentaire fait à l'aide d'un microscope nous a permis de valider les résultats de modèle turbidimétrique. On remarque une conformité entre les résultats de l'allure des graphes obtenus par le spectrophotomètre et les photos captés à l'aide d'un microscope optique relié à un appareil numérique.

L'eau de Zamzam agit dès l'étape de croissance par compétition et inhibe la croissance des cristaux et réduit le nombre des cristaux formés, ce qui explique son efficacité inhibitrice. Ce résultat est conforme avec l'étude d'Al GHAMDI en 2012, qui conclut que l'eau de Zamzam a une activité inhibitrice contre la lithiase oxalo-calcique grâce à sa concentration multi-ionique en chlorure, sulfates, bicarbonates, nitrates et en fluore [10].

Les eaux de Hammam El-Charef et Zelfana agissent sur l'étape de l'agrégation et diminuent le nombre des agrégats formés.

*Conclusion*

## *Conclusion*

Dans notre travail, nous avons étudié l'activité antibactérienne et l'effet inhibiteur de la cristallisation oxalo-calcique des eaux minérales de Hammam El-Charef, Hammam Zelfana et l'eau de Zamzam. Des analyses chimiques et microbiologiques ont été effectuées sur ces différentes eaux minérales. Ces analyses ont pour but de définir les différents germes et espèces chimiques existantes, pour expliquer l'effet antibactérien et anti oxalo-calcique des échantillons.

Les résultats de l'analyse chimique, l'étude montre que les concentrations en ions  $\text{Fe}^{++}$  et  $\text{SO}_4^{--}$  sont plus élevées dans l'eau de Zamzam par rapport aux eaux de Hammam Zelfana qui contiennent des concentrations élevées en ions  $\text{Mg}^{++}$  et  $\text{NO}_3^-$ . Par ailleurs, l'eau de Hammam El-Charef renferme des concentrations assez élevée en ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Cl}^-$ .

Les résultats de l'analyse microbiologique nous soulèvent l'absence totale de toute contamination bactérienne, ce qui explique la pureté naturelle de nos eaux minérales relevée par la turbidité.

L'étude de l'activité antibactérienne basée sur la méthode de diffusion des disques montre que les eaux étudiées ont une activité antibactérienne très marquée contre les germes bactériens testés. L'eau de Zamzam possède une activité antibactérienne très particulière vis-à-vis les bactéries telles: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa* et *Proteus mirabilis*. Cette activité est d'autant remarquée lors de l'addition avec le mélange des eaux de Hammam El-Charef et Zelfana qui ont une action activité intermédiaire contre ces bactéries. Cette activité est due à la composition chimique de ces eaux.

Les résultats de l'étude de l'inhibition oxalo-calcique réalisé par le modèle turbidimétrique montre que l'eau de Zamzam est l'inhibiteur le plus efficace contre la cristallisation oxalo-calcique, grâce à leur pourcentage d'inhibition qui vaut 71%. Néanmoins, les résultats obtenus après la dilution (à 10%) de l'eau de Zamzam montrent que cette eau a un effet inhibiteur qui atteint le 50,5%, alors les deux autres eaux sans dilution possèdent que 34%.

L'effet inhibiteur de l'eau de Hammam El-Charef et Zelfana est presque identique mais non négligeable parce qu'elles ne favorisent pas la cristallisation de l'oxalate de calcium. L'efficacité de l'eau de Zamzam expliqué par, le rapport élevé des inhibiteurs de cristallisation oxalo-calcique

comme :  $Mg^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $NO_3^-$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^-$  et  $HCO_3^-$  sur le promoteur de cristallisation ( $Ca^{++}$ ), suivi par l'eau de Hammam Zelfana et Hammam El-Charef.

L'étude microscopique complémentaire révèle les mêmes résultats avec l'étude spectrophotométrique. En plus elle clarifie le mode d'action de chaque inhibiteur comme suit:

- L'eau de Zamzam agit dès l'étape de germination et inhibe la croissance et l'agrégation des cristaux oxalo-calciques.
- L'eau de Hammam El-Charef agit sur l'étape de l'agrégation et diminue le nombre des agrégats formés.
- L'eau de Hammam Zelfana agit sur l'étape de l'agrégation des cristaux et diminue le nombre des agrégats formés.

L'efficacité de l'eau minérale de Zamzam est due à leur concentration élevée en inhibiteurs ( $Mg^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $SO_4^-$  etc.) et d'autres inhibiteurs qui peuvent exister selon plusieurs auteurs, comme le  $F^-$  qui joue le rôle d'un bon germicide, ainsi un bon inhibiteur de formation des cristaux oxalo-calcique. Ce qui illustre la caractéristique spéciale de cette eau et la rend différente d'autres types d'eaux. Les eaux minérales de Hammam El-Charef et Hammam Zelfana ont aussi une action inhibitrice intermédiaire non négligeable vis-à-vis les bactéries testées et contre la formation des cristaux oxalo-calcique.

Il serait plus intéressant d'approfondir cette étude par d'autres analyses des espèces chimiques existants dans l'eau minérale, qui ont un effet inhibiteur contre la formation des cristaux oxalo-calcique et autre effet germicide; tel que le fluorure.

Enfin, tandis qu'il y a des facteurs diététiques spécifiques à considérer pour chaque type de calcul, il y a également une liste générale de mesures diététiques qui en peuvent être recommandées afin d'éviter la formation des calculs rénaux :

- prise quotidienne d'un volume liquide approprié (minimum 2 litres d'eau par jour);
- éviter strictement les régimes de végétarien;
- éviter les régimes excessifs des protéines animal;

# *Références bibliographiques*

[1] JORA. (2004) n° 45. Relatif à l'exploitation et la protection des eaux minérales naturelles et des eaux de source. D. Ex. n° 04-196, 15 juillet, 16p.

[2] THOMAS J, THOMAS E. (2005) Urée et créatinine sanguines en début et fin de cure à Vittel. La presse thermale et climatique, Paris, pp.235-239.

[3] FEKAK H. et al. (2006) La lithiase urinaire: Etude spectrophotométrique Infrarouge (A propos de 80 cas). Maroc, pp.17-20.

[4] SCOT P. (2000) Vers le gène de la lithiase calcique familiale. Th: Med. : Montréal, 155p.

[5] FOURCADE J. (2006) Néphrologie lithiase urinaire. Montpellier-Nîmes, 18 p.

[6] PARENT X., BOESS G., BRIGNON P. (1999) Lithiase oxalo-calcique; Relation entre facteurs de risque biochimiques et phase cristalline du calcul. Progrès en Urologie, Vol. 9, pp.1051-1056.

[7] SOULA M. (2009) Rôles des règles hygiéno-diététiques dans la prévention secondaire de la maladie lithiasique urinaire chez le personnel navigant des forces armées. Th: Méd. : Paris, 124 p.

[8] DJELLOULI H. M. et al. (2005) Qualité physico-chimique des eaux de boissons du sud Algérien; Etude de l'excès en sels minéraux, Vol. 15 n°2, pp.109-112.

[9] ABDELMALEK F. (1998) Recherche sur l'effet inhibiteur de quelques eaux de boisson sur la cristallisation oxalo-calcique. Chimie industrielle. Th: magister, Mostaganem, 115p.

[10] AL-GHAMDI S. S. (2012) Inhibition of calcium oxalate nephrotoxicity with Zamzam water. Open Journal of Preventive Medicine, Vol. 2, n°1, pp.67-71.

[11] DJAOUD-HARRACHI S. et al. (2010) The effect in vitro of calcium in drinking water on oxalo-calcic crystallization. Algérie: univ. Sidi bel-Abbès, Vol 9, n° 1, pp.47-52.

[12] HUSSAIN T., MOINUDDIN A. (2012) Zam-Zam water. Scientific Research Findings, 2p.

[13] AL ZUHAIR N., KHOUNGANIAN R. (2006) A comparative study between Zamzam water and other sources of water on dental caries prevalence and severity in girls' school in Makkah. Saudi Arabia, 9p.

- [14] SANOGO R. et al. (2006) Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali, n°1, pp.18-24.
- [15] TAHIR A., MOEEN R. (2011) Comparison of antibacterial activity of water and ethanol extracts of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze against dental caries and detection of antibacterial components. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol.5, pp.4504-4510.
- [16] PRAKASH J. W., MARIMUTHU J., JEEVA S. (2001) Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from Thamirabarani River, Tamil Nadu, South India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Elsevier, pp.170-173.
- [17] RAZVY A. M., FARUK M. O., HOQUEL M. A. (2011) Environment friendly antibacterial activity of water chestnut fruits. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, Vol. 1, n° 1, pp.26-34.
- [18] RAHAL K. et al. (2006) Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine a l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4<sup>ème</sup> édition. Algérie, 116 p.
- [19] JORA. n° 51. (2000) Relatif aux caractéristiques des eaux potables préemballées et les modalités de son mise en marché. Arrêté: Du 26 Juillet, 6p.
- [20] FAO/OMS. (1967) Les eaux minérales naturelles, ALINORM 68/17, Juillet, 9p.
- [21] AVDULLAHI A. et al. (2006) Analyse de marché des marques d'eau disponible en Suisse romande. Suisse: HEG de Genève, 24p.
- [22] ODILE B. L. et al. (2009) Etude de la potabilité des eaux de boisson conditionnée en cote d'Ivoire: cas des eaux de la région du grand Abidjan, *Journal européen de recherche scientifique*, Vol.28, n°4, pp.552-558.
- [23] LEEMANS M. et al. (2008) Livre bleu. Belgique: Belaqua, 72 p.
- [24] Richard C. (1996) Collection option bio: Les eaux, les bactéries, les hommes et les animaux. Sc. & Méd. Paris: Elsevier, 115p.
- [25] Codex Stan. n° 108-81. (2008) Norme Codex pour les eaux minérales naturelles, 4 p.

- [26] JORA. n° 7. (1994) Portant définition des eaux thermales et réglementant leur protection leur utilisation et leur exploitation. D. Ex. n° 94-41, 29 janvier, 5p.
- [27] OMS. (1994) Les eaux naturelles thermales. Norme 83/10/AX, 4p.
- [28] VINCENT V. (2010) Les eaux minérales naturelles et eaux de source, Toulouse.
- [29] ROQUES C. F. (2007) Géoscience et santé: Le thermalisme, la médecine que la terre nous a donnée, 112p.
- [30] BATALLA R., PORTA L. (2008) L'eau, source de vie. Genève: Heds. Nutr. & Diét. Juin, 7p.
- [31] BARBERIS J. A. (1987) Le régime des eaux souterraines selon le droit international. FAO 40. Roma, 94p.
- [32] COTRUV J. et al. (2010) Hardness in drinking water. WHO n° 10.01/10. Rev.1. Switzerland: Genève, 11p.
- [33] PAUWELS, H. (2007) Géoscience et santé: Dureté de l'eau, incidence sur les maladies cardio-vasculaires et les accidents vasculaires cérébraux. France: BRGM, n°5, 116p.
- [34] SCHLIENGER J. L. (1991) Nutrition du praticien; expansion scientifique française. Paris: 6<sup>e</sup> éd., 112p.
- [35] ENNEZAT P. V. (2006) Prescription d'une eau thermale. France: Lille, 14p.
- [36] FORESTIER R. (2005) La presse thermale climatique: Amplitude et suivi de l'effet de deux cures thermales successives sur la gonarthrose et la coxarthrose. France: éd.142, pp.133-147.
- [37] FORESTIER R., FRANÇON A. (2008) Recherche thermal: Crenobalneootherapy for limb osteoarthritis: systematic literature review and methodological analysis. Bourdeaux: Rhum, pp.48-138.
- [38] LA GIORGIA G. (2009) Santé Canadienne : Eaux en troubles. Canada, pp.20-23.

[39] FOUROT-BAUZON M. (2005) La presse thermale climatique: Etude épidémiologique descriptive chez des enfants présentant une pathologie respiratoire: approche évaluative. France: éd.142, pp.157-161.

[40] CALDERON R. L., CRAUN G.F. (2005) Nutrients in drinking water: Water hardness and cardiovascular disease: A review of the epidemiological studies. WHO: n° 1957-78, 186 p.

[41] KLEVAY L. M., COMBS G. F. (2005) Nutrients in drinking water: Mineral elements related to cardiovascular. WHO, 186 p.

[42] CHAREYRAS J-B. (2005) La presse thermale climatique 142<sup>ième</sup> année: Profil psychologique du colopathie fonctionnel (A propos d'une enquête sur 119 curistes). France: éd.142, pp.163-167.

[43] GRABER-DUVERMAY B. et al. (2005) La presse thermale et climatique 142<sup>ième</sup> année: Traitement thermale de l'obésité donnée d'une étude exploratoire. France, pp.149-156.

[44] CHAREYRAS J-B. (2005) La presse thermale et climatique: Epidémiologie des troubles périnéaux féminins dans une population des curistes. France: éd.142, pp.169-175.

[45] CHIBANE B., BOUTALEB A., LACROIX M. (2010) Etude hydro chimique et approche isotopique en région semi-aride: cas du synclinal de Djelfa (Algérie). Journal European des Recherches Scientifiques, Vol.45, n° 2, pp.270-290.

[46] GOUAIDIA L. (2008) Influence de la lithologie et des conditions climatiques sur la variation des paramètres physico-chimiques des eaux d'une nappe en zone semi aride, Cas de la nappe de Meskiana nord-est Algérien. Th: Sc.: Annaba, 130 p.

[47] BAHRI F., SAIBI H., CHERCHALI M. H. (2001) Characterization; Classification and determination of drinkability of some Algerian thermal waters. Arab J Geosci 4, pp.207–219.

[48] OUALI S., MEHMAH B., MALEK A. (2007) Etude de faisabilité d'utilisation des eaux thermales de Zelfana Dans Production d'Hydrogène. Centre de Développement des Energies Renouvelables. Alger, 9 p.

[49] SEKKOUTI S. (2004) Résultats préliminaires des essais IIP sur certaines espèces fruitières et maraichères dans le sud Algérien. Maroc, 9 p.

- [50] BOUZIDI K. (2006) Géothermie; Énergie d'Avenir et ses Perspectives au Sud de l'Algérie, n° 10, pp.18-19.
- [51] MOHAMMED ALI A.F. et al. (2009) Miracle of Zamzam water: The effect on human endometrial aquaporin. Thirteenth International Water Technology Conference. Egypt, pp.1515-1520.
- [52] MOHAMMED ALI A.F. et al. (2009) Zamzam water gene down regulation in uterine fibrochondrosarcoma cell line. Thirteenth International Water Technology Conference. Egypt, pp.1543-1547.
- [53] El-ZAIAT S. Y. (2007) Inherent optical properties of Zamzam water in the visible spectrum: Dispersion analysis. The Arabian Journal for Science and Engineering, Vol. 32, n° 2a, pp.171-180.
- [54] MAHMOUD ABDELGHANI R. (2012) Effect of Zamzam water intake during labor on material and neonatal outcome: A randomized controlled trial. Academic research international, Vol. 2, n°3, pp.58-69.
- [55] MOHAMMED A. (2009) Zamzam water stimulate brain derived neurotrophic factor (bdnf) in uterine flushing of repeated implantation failure after (intracytoplasmic sperum injection) (icsi), pp.1549-1556.
- [56] JOCHEN B. (2011) One team for Zamzam holy water. KHS competence, 63 p.
- [57] GILLARD P. (2009) Arabie Saoudite : étude pays. Bruxelles, 26 p.
- [58] AL-GAMAL S. A. (2012) Remarks on the isotopic composition of the holy-water of Zamzam; Mecca area, pp.19-26
- [59] PRESCOTT Lansing M. (2002) Microbiology, 5<sup>th</sup>, 1026p.
- [60] AYADI S., C. JERRIBI, M. ABDERRABBA (2011) Extraction et étude des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie, J.SOC. Alger.Chim., 21(1), pp.25-33.

- [61] BENZEGGOUTA Naïrouz. (2005) Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments, Magister en pharmacochimie; université de Constantine, 109 p.
- [62] BASSOLE H.N.I. et al. (2001) Composition chimique et activités antibactérienne des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *Cymbopogon Proximus* (STAPF.) et (SIMS). Pharm. Méd., Vol.11, pp.37-51.
- [63] JMB SANDY SMITH. (2004) Pharmaceutical Microbiology: Laboratory evaluation of antimicrobial agents, Chap.11, British, éd.7, 481p.
- [64] MAHDHI A. et al. (2011) Use of yeast and bacteria to control pathogenic *Vibrio* in *Artemia* cultures. Mar. Life, Vol.17, p.39-46.
- [65] EL KALAMOUNI C. (2010) Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Th: Agro: Toulouse, 375p.
- [66] BERTRAND D. (2004) Les lithiases rénales: Epidémiologie de la lithiase urinaire. Springer, France: Paris, 417p.
- [67] OUSSAMA A. et al. (2000) Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. Progrès en Urologie, pp.404-410.
- [68] DJELLOUL Z. et al. (2006) Lithiase urinaire dans l'Ouest algérien : étude de la composition de 1354 calculs urinaires en relation avec leur localisation anatomique; l'âge et le sexe des patients. Progrès en Urologie, Vol.16, pp.328-335.
- [69] SAUSSINE M. (2005) Pathologie de l'appareil urinaire; Lithiase urinaire. Strasbourg.
- [70] CHAUMES O. P. (2008) Eau de boisson et santé au cours de la vie: physiologie et conseils à l'officine. Th: Pharm. : Bordeaux, université Victor-Segalen, pp.71-110.
- [71] DEMBELE Z. (2005) Epidémiologie et traitement des lithiases urinaires dans le service d'urologie de l'hôpital du point G. Th: Méd. : Mali, Bamako, 108p.
- [72] JUNGERS P., DAUDON M., LE DUC A. (1989) Lithiase urinaire, Paris: Flammarion, 590p.

- [73] PARENT X., BOESS G., BRIGNON P. (1999) Lithiase oxalocalcique; Relation entre facteurs de risque biochimiques et phase cristalline du calcul. Progrès en Urologie, Vol. 9, pp.1051-1056.
- [74] DRONGELON VAN J., KIEMENEY L.A., DEBRUYNE F.M. (1998) Impact of urometabolic evaluation on prevention of urolithiasis; A retrospective study. Urology, pp.52: 384.
- [75] BITKER M. O. (2010) La lithiase urinaire dans tous ses états. Dossier médical, pp.19-23.
- [76] DE LA FARGE F. (2000) Biochimie clinique; Exploration fonctionnelle rénale. 2<sup>e</sup> édition médicale internationales. France, 340p.
- [77] EL KHEBIR M. et al. (2008) Prise en charge des coliques néphrétiques de l'adulte dans les services d'accueil et d'urgences: Actualisation 2008 de la 8e Conférence de consensus de la Société francophone d'urgences médicales de 1999: Elsevier masson, n°19, pp.462-473.
- [78] DAUDON M. et al. (2008) La lithogénèse, Le rôle de l'urologue, Masson, France, Vol 18, pp.815-827.
- [79] JUNGERS P., DAUDON M. (2008) La lithiase urinaire: de la préhistoire au 21<sup>ème</sup> siècle. Biarritz, 33p.
- [80] SCHLIENGER J. L. (1993) Nutrition du praticien; expansion scientifique française. 7<sup>e</sup> éd., Paris.
- [81] CANO N. (2007) Alimentation durable; Nutrition et santé rénale. CRNH; INRA, 229p.
- [82] FEDOU A. L., ESSIG M. (2011) Conséquences rénales des traitements de l'obésité, Springer. France, pp. 16-19.
- [83] DAUDON M., BAZIN D. (2004) Lithiase rénale; de la nature du calcul à la cause de la maladie lithiasique. Paris.
- [84] BARBEY F. et al. (2004) Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique et lithiase urinaire phosphocalcique. Suisse, Vol. 25, n°5, pp.169-172.
- [85] TUMA J., HESS B. (2001) Néphrolithiase. Suisse, n°41, pp.1019-1024.
- [86] HESS B. (2011) Kidney stone belt-l'impact environnemental sur la lithiase urinaire, Suisse, n°47, pp.853-856.

- [87] CHOON N. O. (2005) Minerals from drinking water: bioavailability for various world populations and health Implications. WHO (WA 687). Geneva: Switzerland, 183p.
- [88] NARCY A., ROBERT L., REMESY C. (2007) Alimentation durable; Fonction alcalinisante des aliments. CRNH; INRA, 229 p.
- [89] TRAXER O., LECHEVALLIER E., SAUSSINE C. (2008) Diététique et lithiase rénale, Le rôle de l'urologue. France; Masson, Vol 18, pp.857-862.
- [90] ROCA P. et al. (1990) Can a Relationship Reflect the Risk of Calcium Oxalate Urolithiasis? International Urology and Nephrology, pp.215-222.
- [91] HASSANI A. M. et al. (2005) Citraturie et cristallurie de weddellite. Progrès en Urologie, France: Paris, pp.650-655.
- [92] DAUDON M., COHEN-SOLAL F., JUNGERS P. (2000) Mécanismes de la lithogénèse et de la cristallurie. Biologie & Santé. Paris, Vol. 1, n° 1, pp.50-65.
- [93] BASAVARAJ D. R. et al. (2007) The role of urinary kidney stone inhibitors and promoters in the pathogenesis of Calcium containing renal stones. European Association of Urology, pp.126-136.
- [94] ROBERT M. (1996) Exploration métabolique de la lithiase oxalo-calcique urinaire; les indicateurs du risque lithogène; modalités application et perspectives. Urologie I. Montpellier, Vol. 6, pp.44-51.
- [95] BENSATAL A., OUAHRANI M. R. (2008) Inhibition of crystallization of calcium oxalate by the extraction of *Tamarix gallica* L, Springer, pp.283-287.
- [96] ANDREY D. et al. (2000) Eléments-traces. MSDA. Canada, 79p.
- [97] RODIER J., et al. (2008) L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. Paris: Dunod, 8<sup>e</sup>éd.
- [98] RODIER J. (1996) L'analyse de l'eau, Paris: Dunod, 6<sup>e</sup>éd.
- [99] ZOBRIST J. et al. (2003) Eau potable, MSDA. Canada, 20p.
- [100] DERWICH E. et al. (2010) Caractérisation physico-chimique des eaux de la nappe alluvial du haut sebou en aval de sa confluence avec oued Fès. Journal Larhyss, n°8, pp.101-112.

[101] ALPHA S. M. (2005) Qualité organoleptique de l'eau de consommation produite et distribuée par l'EDM.Sa dans la ville de Bamako: évaluation saisonnière. Th: Méd. /Pharm. Mali, 77p.

[102] MONTIEL A. (2004) La turbidité; paramètre esthétiques ou paramètre microbiologique, TSM. Le 83<sup>e</sup> congrès de l'Astee, n°5, 76 p.

[103] Norme algérienne. (1994) La mesure de Turbidité, N746; (ISO7027), 1<sup>ère</sup> édition.

[104] COTRUVUO J. et al. (2010) Hardness in drinking water, WHO10.01.Rev/1. Genève: Switzerland, 11p.

[105] ALGERIENNE DES EAUX. (2003) Manuel d'analyses physico-chimiques et bactériologiques. Alger, 44p.

[106] TABOUCHE N., ACHOUR S. (2004) Etude de la qualité des eaux souterraines de la région orientale du Sahara septentrional Algérien. Larhyss Journal, n° 03, Juin, pp.99-113.

[107] LECLERC H., (1996) Eaux de consommation, Microbiologie alimentaire; aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Paris: T 1, Tec et doc Lavoisier.

[108] ETTTEL W. et al. (2000) Microbiologie. Manuel suisse des denrées alimentaires, chap.56, 87p.

[109] CHIGBU P., SOBOLEV D. (2007) Bacteriological Analysis of Water; Handbook of water analysis, 2<sup>nd</sup> edition, 769p.

[110] AFNOR NF V 08-019/ISO 7937, 1985.

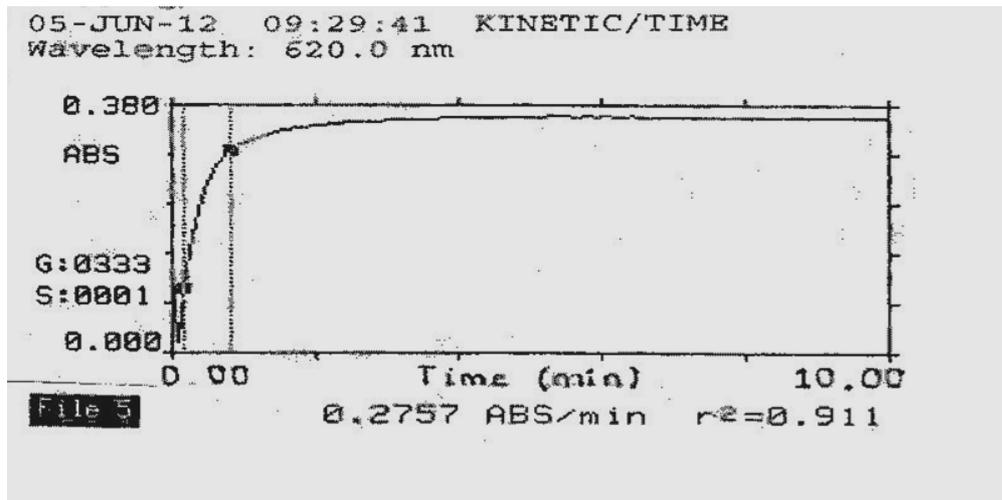
[111] LARPENT J-P., LARPENT-GOURGAUD M. (1985) Manuel pratique de microbiologie, Collection méthodes, Paris; Herman, éd.5986, 230p.

[112] BENJILALI B. et al. (1986) Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé; Plantes médicinales et phytothérapie, Tome XX, n°2, pp.155-167.

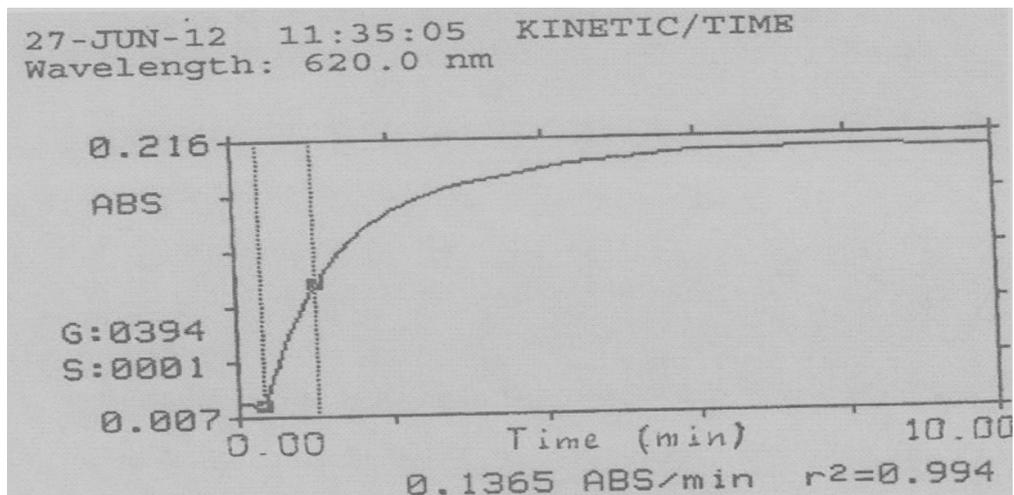
[113] MOHAMEDI Z. (2006) Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Th: Bio. : Tlemcen, 105p.

# *Annexes*

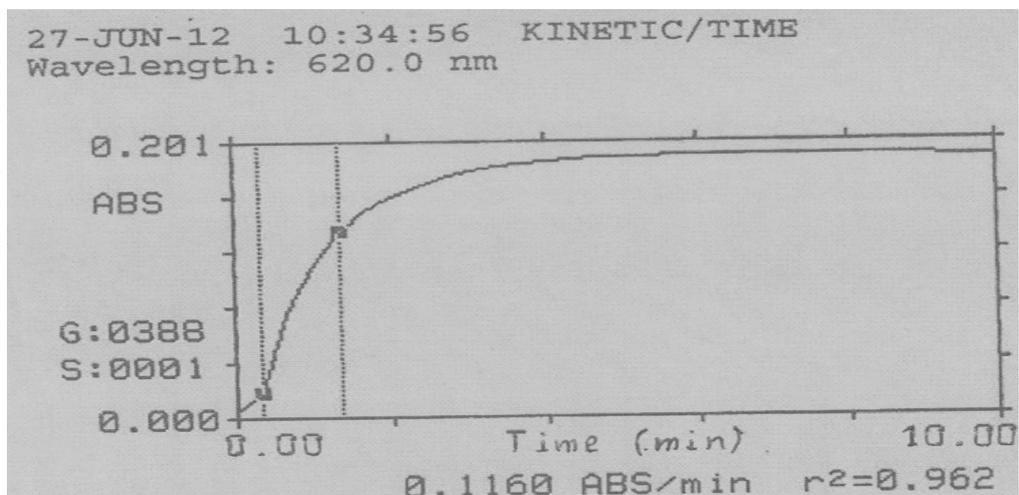
- Les courbes turbidimétriques obtenues à l'aide d'un spectrophotomètre



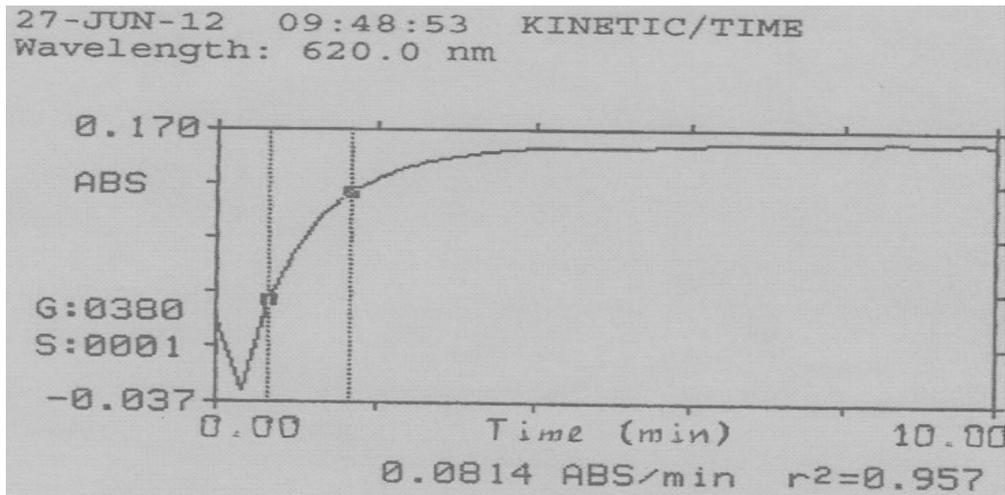
1. Courbe de la cristallisation sans inhibiteur



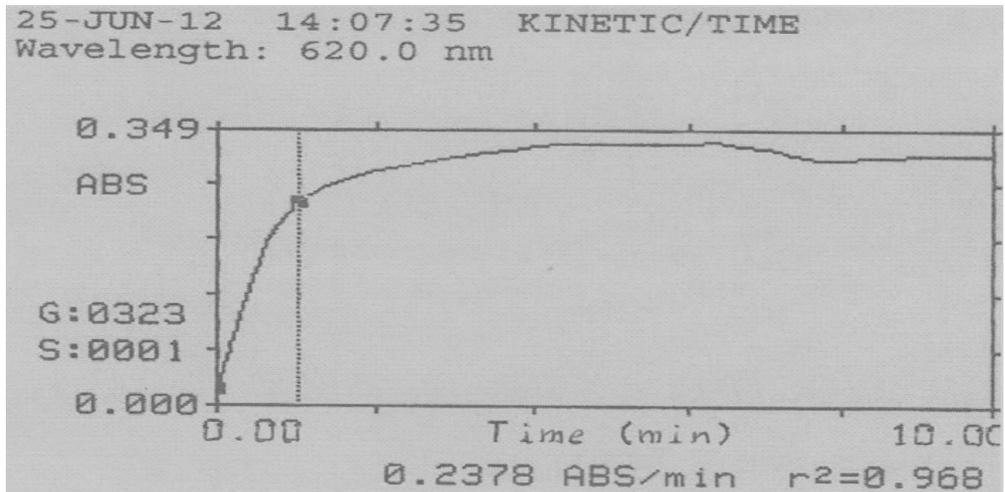
2. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (10% eau de Zamzam)



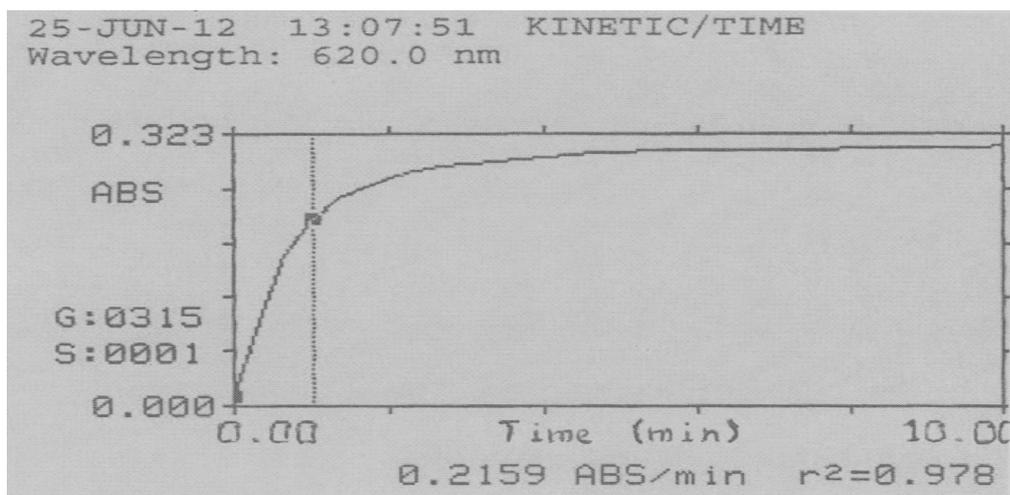
3. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (50% eau de Zamzam)



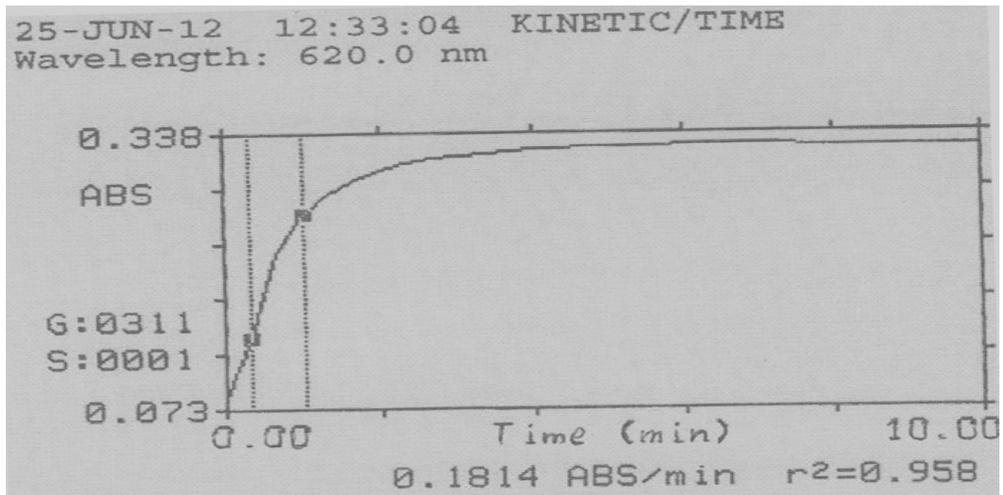
4. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (100% eau de Zamzam)



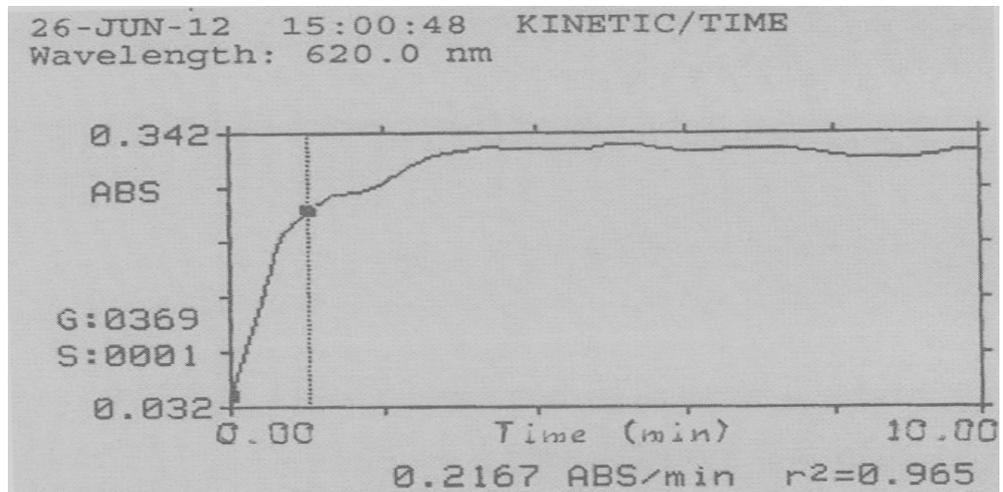
5. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (10% eau de Hammam El-Charef)



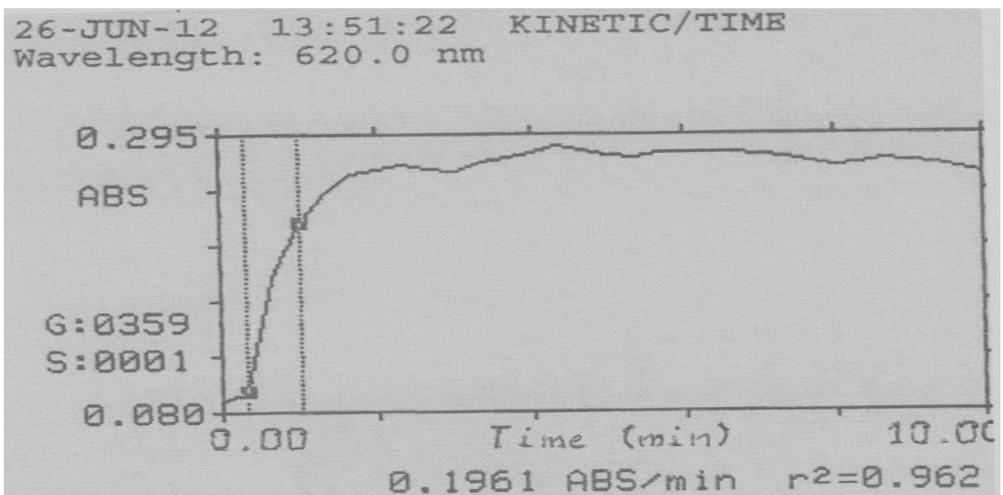
6. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (50% eau de Hammam El-Charef)



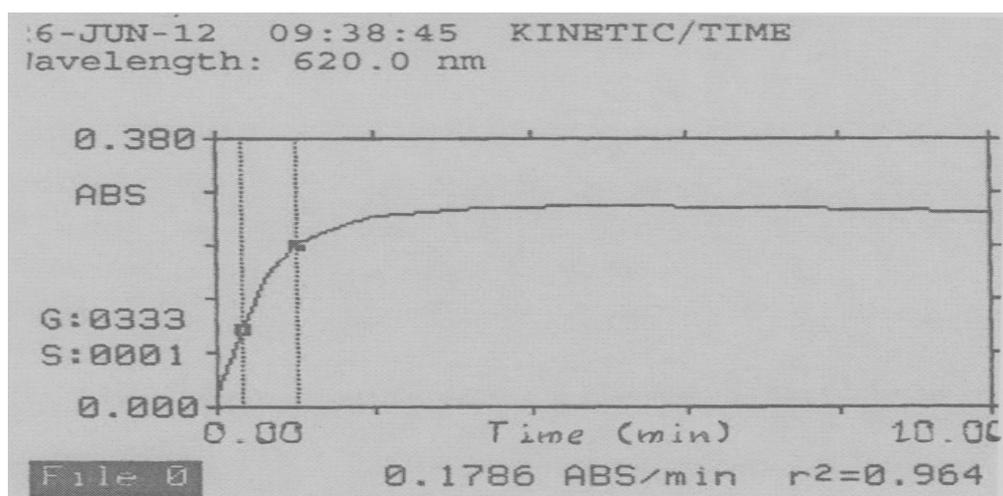
7. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (100% eau de Hammam El-Charef)



8. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (10% eau de Hammam Zelfana)



9. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (50% eau de Hammam Zelfana)



10. Courbe de la cristallisation avec inhibiteur (100% eau de Hammam Zelfana)

**Tableau 1:** Apports journaliers recommandés en Ca phosphate et Mg [34].

	<b>Calcium</b>	<b>Phosphate</b>	<b>Magnésium</b>
<b>Enfant de 1 à 3 ans</b>	600	400	50-1000
<b>Enfant de 4 à 9 ans</b>	700	700	150-150
<b>Enfant 10 à 12 ans</b>	900	900	
<b>Adolescents</b>	1000	1000	350
<b>adultes</b>	800	800	
<b>Femmes enceintes</b>	1000	1000	400
<b>Femmes allaitantes</b>	1200	1200	

**Tableau 2:** Eaux minérales et orientations thérapeutiques essentielle [25]

<b>Eaux</b>	<b>orientations</b>
Sulfurées	Rhumatologie ORL Respiratoire
Sulfatées	Neurologie Rhumatologie Dermatologie Stomatologie
Chlorurées sodiques	Rhumatologie Gynécologie Enfants
Bicarbonatées	Digestif Diabète Phlébologie Rhumatologie
Bicarbonatées et chlorurées	Respiratoire Rhumatologie Dermatologie Stomatologie Enfants
Oligo-minérales	Urinaire Phlébologie Rhumatologie

**Tableau 3 : Références des méthodes des normes ISO paramètres physicochimique**

Paramètres	Unité	Normes OMS	Références des normes ISO
pH	---	6.5-8.5	---
Conductivité	mg/l	2000	ISO 7888
Dureté totale	mg/l	500	ISO 6059
Calcium	mg/l	200	ISO 6058
Magnésium	mg/l	150	ISO 6059
Chlorure	mg/l	500	ISO 7890/3
Sulfates	mg/l	400	ISO 9280
Fer	mg/l	0.3	ISO 6332

**Tableau 4 : Conversion des unités de mesure de dureté de l'eau**

		°fH	ppm	mval/l
Degrés Français	1° fH=	1	10	0.2
ppm CaCO <sub>3</sub>	1ppm=	0.1	1	0.02
mval/l	1 mval/l=	5	50	1

**Tableau 5 : Norme pour la dureté des eaux de boisson d'après l'O.M.S (1972) [106]**

TH (°F)	0-7	7-22	22-32	32-54	54
Dureté de l'eau	douce	Modérément douce	Assez douce	dure	Très dure

**Tableau 6 : Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit)**

NTU<5	Eau clair
5<NTU<30	Eau légèrement trouble
NTU>50	Eau trouble
NTU	La plupart des eaux de surface en Afrique atteignent ce niveau de turbidité

**Tableau 7 :** La lecture de *E. coli* ATCC 25922 [13].

Antibiotique testés	Charge des disques	Diamètre critiques (mm)			CMI critiques (ug/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<b><u>B-lactamines:</u></b>			14-16			
Ampiciline	10ug	≤13		≥17	≥32	≤8
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10ug	≤13	14-17	≥18	≥32/16	≤8/4
Cefazoline	30ug	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Cefoxitine	30ug	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Cefotaxine	30ug	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8
Ceftriaxone	30ug	≤13	14-20	≥21	≥64	≤8
Imipeneme	10ug	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
<b><u>Aminosides</u></b>						
Amikacine	30ug	≤14	15-16	≥17	≥32	≤16
Gentamicine	10ug	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
<b><u>Quinilones</u></b>	5ug	≤12			≥8	≤2
Ofloxacine			13-15	≥16		
Ciprofloxacine	5ug	≤15	16-20	≥21	≥4	≤1
<b><u>Autres</u></b>	30ug	≤12				
Chloramphenicol			13-17	≥18	≥32	≤8
Furane	300ug	≤14	15-16	≥17	≥128	≤32
Fosfomycine	200ug	≤12	13-15	≥16	≥256	≤64
Trimethoprime/ sulfamethoxazole	1.25/23.75ug	≤10	11-15	≥16	≥8/152	≤2/38

**Tableau 8 :** La lecture de *S. aureus* ATCC 25923. [13].

Antibiotique testés	Charge des disques	Diamètre critiques (mm)			CMI critiques (ug/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<b><u>B-lactamines:</u></b>						
Penicilline	10UI	≤28	---	≥29	B-lactamase	≤0.1
oxacilline	1ug	≤10	11-12	≥13	≥4	≤2
Cefoxitine	30 ug	≤19	---	≥20	≥4	≤2
<b><u>Aminosides</u></b>	10 ug	≤12		≥	≥8	≤4
Gentamicine			13-14			
Amikacine	30 ug	≤14	15-16	≥	≥32	≤16
<b><u>Autres</u></b>	1.25/23.75 ug	≤10		≥	≥8/152	≤2/38
Trimethoprime/ sulfamethoxazole			11-15			
Rifampicine	15 ug	≤16	17-19	≥	≥4	≤1
Tetracycline	30 ug	≤14	15-18	≥	≥16	≤4
Chloramphenicol	30 ug	≤12	13-17	≥	≥32	≤8
Fosfomycine	50 ug	≤14	---	≥	≥32	≤32

Tableau 9 : La lecture de *P. aerogenosa* ATCC 27853 [13].

Antibiotique testés	Charge des disques	Diamètre critiques (mm)			CMI critiques (ug/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<b><u>B-lactamines:</u></b>						
ticarcilline	75ug	≤14	---	≥15	≥128	≤64
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10ug	≤14	---	≥15	≥128/2	≤64/2
piperacilline	100ug	≤17	---	≥18	≥128	≤64
Ceftazidime	30ug	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
aztreonam	10ug	≤15	16-21	≥22	≥32	≤8
Imipeneme	10ug	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
<b><u>Aminosides</u></b>	30ug					
Amikacine		≤14	15-16	≥17	≥32	≤16
Gentamicine	10ug	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
tobramycine	10ug	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
<b><u>Quinolones</u></b>	5ug					
Ciprofloxacine		≤15	16-20	≥21	≥4	≤1
<b><u>Tertacycline</u></b>	30ug					
Tetracycline		≤14	15-18	≥19	≥16	≤4
<b><u>Autres</u></b>	1.25/23.75 ug					
Trimethoprime/sulfamethoxazole		≤10	11-15	≥16	≥8/152	≤2/38
Chloramphenicol	30ug	≤12	13-17	≥18	≥32	≤8
Rifampicine	30ug	≤14	14-18	≥19	≥16	≤4
Fosfomycine	50ug	≤14	---	≥14	≥32	≤32

- **Composition de milieu Muller Hinton:**

- Infusion de viande de bœuf déshydraté.....300g.
- Hydrolysate de caséine.....17.5g.
- Amidon de maïs.....1.5g.
- Agar agar.....13g.
- Eau distillée.....1000ml.
- pH final .....7.2-7.4.

- ❖ **Allergie:** Etat d'un individu qui, sensibilisé à une substance, y réagit ultérieurement d'une façon exagérée.
- ❖ **Antibiotique:** "Contre la vie": Médicament qui tue les bactéries ou empêche leur multiplication.
- ❖ **Aphtones:** Est une lésion superficielle de la muqueuse buccales et de l'oropharynx.
- ❖ **Arthrite:** Inflammation d'une articulation. Arthrite tuberculeuse.
- ❖ **Arthrose:** Maladie chronique et douloureuse des articulations. Arthrose du genou.
- ❖ **Buccal:** Relatif à la bouche. La cavité buccale.
- ❖ **Cardiaque:** Qui a une maladie du cœur, qui concerne le cœur. Muscle cardiaque.
- ❖ **Dermatologie:** Branche de la médecine qui s'occupe des maladies de la peau.
- ❖ **Diabète:** "passer à travers" Maladie caractérisée par une élimination abondante d'urine. Diabète sucré, provoqué par l'absence de production d'insuline par le pancréas.
- ❖ **Entéroclise:** Lavage du colon.
- ❖ **Gonarthrose:** Arthrose du genou.
- ❖ **Gynécologie:** Branche de la médecine qui s'occupe des maladies propres aux femmes.
- ❖ **Lithiase:** Présence de calculs (sortes de petits cailloux qui se sont formés dans l'organisme). Lithiase biliaire, lithiase vésicale.
- ❖ **Lombalgie:** Douleur lombaire; mal de dos. Myalgie: douleur musculaire.
- ❖ **Lymphoedème:** Un gonflement d'une partie plus ou moins important du corps suite à une accumulation de liquide lymphatique dans les tissus.
- ❖ **Néphrite:** Inflammation du rein.
- ❖ **Neurologie:** Etude du système nerveux; spécialité médicale qui s'occupe des maladies du système nerveux.
- ❖ **Parodontopathies:** Consiste en une inflammation des tissus de soutiens de l'organe dentaire.
- ❖ **Pyélonéphrite:** Une infection bactérienne des voies urinaires hautes touchant donc le bassinnet.
- ❖ **Rhumatisme :** Ensemble des affections douloureuses de l'appareil locomoteur.
- ❖ **Thermolyse:** Décomposition par la chaleur; perte de chaleur (thermolyse par la transpiration).

## الملخص العربي

المياه المعدنية الطبيعية هي المياه الآتية من الطبقة الجوفية، تتميز بنقاها من الناحية الميكروبيولوجية و بمكوناتها الكيميائية الثابتة في نفس الطبقة الجوفية.

تعرف المياه المعدنية منذ القدم بقدراتها العلاجية، والتي ترتبط بطبيعة العناصر المعدنية الموجودة بها. من بين الاستعمالات العلاجية نذكر: عدوى المسالك البولية و حصى الكلى من نوع الأوكزالو- كالسيك .

هذه الأخيرة تنتج عن ترسب حصوات الأوكزالو- كالسيك داخل القنوات البولية، و هي الأكثر انتشارا (حوالي: 70%).

بعض أصناف المياه المعدنية الطبيعية تلعب دورا مهما في الوقاية من حصى الكلى. يرجع ذلك لغناها بأيونات المغنيزيوم والكبريتات و بعض الاملاح المعدنية الأخرى التي تعتبر كمثبطات للبلورة: أوكزالو- كالسيك.

لهذا الغرض وجهنا دراستنا بشكل خاص إلى محورين:

### المحور الأول : التأثير المضاد للبكتيريا

#### • إعداد التجربة:

هناك تأثير مضاد للبكتيريا محتمل الوجود في المياه المعدنية الطبيعية: ماء زمزم، حمام الشارف و زلفانة، استخدمنا في هذه التجربة بكتيريا: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*.

في هذه التجربة تمت الاستعانة بطريقة الإنتشار على القرص حيث قمنا بدراسة تأثير المياه كل واحد على حدّى كما تم الجمع بين ماء الشارف و زلفانة، و بين زمزم، الشارف و زلفانة و أيضا مقارنتها مع تأثير المضاد الحيوي: gentamicine, chloramphénicol.

## المحور الثاني : التأثير المضاد للبلورة (crystallisation oxalo-calcique)

### • إعداد التجربة:

لدراسة التأثير المحتمل للمياه المعدنية: زمزم، الشارف و زلفانة على التبلور استخدمنا: أنموذج قياس التعكر الذي يمكننا من حساب تغيرات الامتصاص بدلالة الزمن، و هذا ما يسمح لنا بمتابعة التبلور بشكل مستمر أين تظهر لنا الأطوار الثلاث للبلورة و هي : النتش ، النمو و التجميع

قمنا بدراسة تثبيط المياه المعدنية لتشكل بلورات الأوكزالوكالسيك، باستعمال ثلاث تراكيز 10%، 50% و 100% بالنسبة لكل صنف من المياه المدروسة، كما تمت الاستعانة بالمجهر الضوئي لمشاهدة البلورات و مقارنتها مع النتائج المحصل عليها بواسطة جهاز الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية.

### • النتائج التجريبية :

أظهرت نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية للمياه الثلاثة أن ماء زمزم قاعدي، به نسبة مرتفعة من الكبريتات، الحديد و البيكربونات، خالي تماما من الميكروبات، بينما ماء حمام الشارف و زلفانة متعادل الحموضة يحوي نسبة مرتفعة من الكالسيوم، المغنيزيوم، الكلور و النترات كما أنه خالي من الميكروبات.

### أولا : نتائج الدراسة البيولوجية:

• أظهرت النتائج الخاصة بماء زمزم تأثيره الواضح كمضاد للبكتيريا حيث كان معدل تثبيط النمو الميكروبي لبكتيريا *Proteus mirabilis* حوالي 16 مم بينما تأثير المضاد الحيوي Gentamicine على نفس البكتيريا حوالي 10 مم.

• معدل تثبيط النمو الميكروبي لبكتيريا *Shigella* حوالي 13 مم بينما تأثير المضاد الحيوي Gentamicine على نفس البكتيريا حوالي 6 مم.

• معدل تثبيط النمو الميكروبي لبكتيريا *Pseudomonas aerogenosa* حوالي 17 مم بينما تأثير المضاد الحيوي Chloramphénicol على نفس البكتيريا حوالي 12 مم.

• معدل تثبيط النمو الميكروبي لبكتيريا *Shigella* حوالي 13 مم بينما تأثير المضاد الحيوي Chloramphénicol على نفس البكتيريا حوالي 6 مم.

- أظهرت النتائج الخاصة بماء حمام الشارف و زلفانة تأثيرهما المثبط لبكتيريا *Shigella* حيث كان معدل تثبيط النمو الميكروبي حوالي 13 مم بينما تأثير المضادين الحيويين Gentamicine و Chloramphénicol على نفس البكتيريا كان حوالي 6 مم.
- أظهرت النتائج الخاصة بجمع ماء زمزم، حمام الشارف و زلفانة زيادة في معدل التثبيط خاصة بالنسبة لبكتيريا *E.coli* و *Pseudomonas aerogenosa* حيث تراوح معدل تثبيط النمو الميكروبي 3 ما بين 18مم إلى 24 مم.
- أوضحت النتائج المتحصل عليها من قياس معدل تثبيط النمو البكتيري لبكتيريا *Salmonella typhi* أنها تصل إلى 15 مم.
- بينما كان تأثير ماء زمزم على بكتيريا *Staphylococcus aureus* حوالي 14 مم.

### ثانياً : نتائج دراسة التأثير المضاد للبلورة (anti oxalo-calcique) :

- أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة لدى استعمال ماء زمزم بتركيز 100% وصلت إلى أزيد من 70%.
- كما أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة عند استخدام ماء زمزم بتركيز 50% وصلت إلى حوالي 58%.
- و قد أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة لدى استعمال ماء زمزم بتركيز 10% وصلت إلى أكثر من 50%.
- أيضا أوضحت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة لدى استعمال ماء حمام الشارف بتركيز 100% وصلت إلى حوالي 34%.
- و أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة لدى استعمال ماء حمام الشارف بتركيز 50% وصلت إلى أكثر من 21%.

- كما أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة لدى استعمال ماء حمام الشارف بتركيز 10% وصلت إلى حوالي 14%.
- بالنسبة لاستعمال ماء حمام زلفانة بتركيز 100% أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة وصلت إلى حوالي 35%.
- وقد أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة لدى استعمال ماء حمام زلفانة بتركيز 50% وصلت إلى أكثر من 28%.
- كما أظهرت النتائج أن نسبة تثبيط البلورة لدى استعمال ماء حمام زلفانة بتركيز 10% وصلت إلى أكثر من 21%.
- إن الدراسة باستعمال المجهر الموصول بكاميرا رقمية، أكدت لنا النتائج المحصل عليها من منحنيات جهاز الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية حيث أن تأثير ماء زمزم هو الأكثر فعالية من بين المياه المعدنية المدروسة إذ أن استخدام 10% فقط منه سجلت نسبة تثبيط تفوق 50% و هذا أكثر من نسب تثبيط ماء حمام الشارف و زلفانة لدى استعمالهما بتركيز 100%.

## ملخص:

هذا العمل يهدف لدراسة النشاط المضاد للبكتيريا باستعمال طريقة الانتشار و النشاط المضاد لتبلور أوكزالات الكالسيوم باستعمال طريقة قياس الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية لثلاث عينات من المياه المعدنية الطبيعية: ماء زمزم، ماء حمام الشارف و ماء حمام زلفانة.

نتائج التحليل الكيميائية أظهرت أن نسبة الاملاح المعدنية مرتفعة خاصة نسبة الكبريتات في جميع المياه المختبرة. النتائج الميكروبيولوجية أظهرت عدم وجود الميكروبات و هذا ما يفسر الصفاء الطبيعي لهاته المياه المعدنية الثلاث. اختبار النشاط المضاد للبكتيريا بين أن *إيشريشيا كولي* و *بروتيوجينيز أيروجينوزا* حساسة لماء زمزم و متوسطة الحساسية بالنسبة لماء حمام الشارف و زلفانة. و هذا النشاط يزداد عندما نمزج المياه معا. اختبار النشاط المضاد لتبلور أوكزالات الكالسيوم يبين أن جميع المياه المختبرة تملك هذه الخاصية غير أن ماء زمزم هو الأكثر فعالية بنسبة تشييطه تزيد عن 70%.

**الكلمات الدالة :** المياه المعدنية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد لتبلور أوكزالات الكالسيوم ، الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية.

## Résumé:

Ce travail consiste à l'étude de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion et l'activité anti-oxalocalcique par la méthode spectrophotométrique des échantillons de trois types d'eaux minérales naturelles à savoir : l'eau de Zamzam, l'eau de hammam El-Charef et l'eau de hammam Zelfana.

Les résultats des analyses chimiques ont montré que la teneur des minéraux est assez élevée dans tous les échantillons et surtout la teneur en ion sulfate.

Les résultats microbiologiques ont montré une absence de toutes contaminations microbiennes, ce qui signifie la pureté naturelle de ces eaux.

Le test antibactérien montre que les bactéries: *E. coli*, *P. aerogenosae* sont sensibles à l'eau de Zamzam et ont une sensibilité moyenne pour les deux autres eaux. Cette activité augmente lorsqu'on mélange les trois eaux.

Le test de l'activité anti oxalo-calcique montre qu'elles ont une activité inhibitrice pour les cristaux oxalo-calciques, mais l'eau de Zamzam est le meilleur inhibiteur avec un pourcentage, de plus de 70%.

**Mots clé:** Eau minérale, activité antibactérienne, activité anti cristallisation oxalo-calcique, spectrophotométrie.

## Summary:

This work consist on the study of the antibacterial activity by the diffusion method and the activity anti-oxalo-calcic with the using of spectrophotometric method of three samples of natural mineral waters: Zamzam water, water of hammam El-Charef & water of hammam Zelfana.

The Results of the chemical analyzes of salts showing a high mineralization specially the ion of sulfate in the whole mineral waters.

The microbiological results reveal an absence of all microbial contamination which means the natural purity of this minerals water.

The antibacterial test shows that: *E. coli*, *P. aerogenosae* are sensitive to the water of Zamzam and intermediary for the two others waters. This activity increases when we mixed it.

The test of the antioxalocalcic activity shows that they have an inhibiting activity for the oxalocalcic crystals, but Zamzam water is the best inhibitor with a percentage more than 70%.

**Keywords:** Mineral Water, anti-bacterial activity, anti-oxalo-calcic crystallization, spectrophotometer.