

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS – SÉTIF
UFAS (ALGERIE)**

THESE

Présentée à la faculté des Sciences de l'Ingénieur

Département d'Electronique

Pour l'obtention du Diplôme de

DOCTORAT D'ETAT

Option : Electronique

Par

MR : BOUHARATI SADDEK

Thème

**Détection automatique par des techniques de l'intelligence
artificielle des indicateurs de contamination
microbiologique dans les eaux de consommation**

Soutenue le 17.12.2007 devant la commission d'examen :

PR : Khallef Abdelhafid	Prof. à l'université de Sétif	Président
PR : Krim Fateh	Prof. à l'université de Sétif	Examineur
DR : Mokrani Karim	M.C. à l'Université de Bejaia	Examineur
DR : Bousbia Salah Mounir	M.C. à l'Université de Annaba	Examineur
PR : Benmahammed Khier	Prof. à l'université de Sétif	Rapporteur



وفي أنفسكم أفلا تعقلون
صدق الله العظيم

A Monsieur Kheir Benmahamed qui a tant fait pour moi dans ce sujet depuis le magister

A Monsieur Daoud Hazallah a qui revient toute l'idée et toute la partie microbiologique

A tous les membres du jury qui ont bien voulu juger ce travail,

A ma femme et mes enfants qui ont su m'offrir les conditions de travail

A tout ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de cette thèse

Et A moi même

je dis merci beaucoup

RÉSUMÉ

ABSTRACT

INTRODUCTION GÉNÉRALE

PARTIE MICROBIOLOGIQUE

INTRODUCTION

CHAPITRE 1 :

I. CADRE D'ÉTUDE.....	10
I.1. Le contexte épidémiologique.....	10
I.2. Santé publique et microbiologie de l'eau.....	10
I.2.1. Les contraintes générées par le consommateur	11
I.3. Emergence d'un nouvel objectif.....	12
II. MOYEN MÉTHODOLOGIQUE UTILISÉ.....	12
II.1. Biométrie et microbiologie de l'eau.....	12
II.2. Caractéristiques des bio-indicateurs.....	13
III. METABOLISME DE L'ESCHERICHIA COLI.	13
III.1. Rappels taxonomiques.....	13
III.1.1. Les coliformes.....	14
a. Les coliformes fécaux.....	14
b. Les coliformes totaux.....	14
III.1.2. L' <i>Escherichia coli</i>	15
a. Localisation.....	15
b. Aspect morphologique.....	15
III.2. Cinétique de croissance.....	16

CHAPITRE 2 :

I. LES MÉTHODES DE DETECTION CLASSIQUES.....	17
I.1. Technique de fermentation dans des tubes multiples.....	17
I.2. Technique de filtration sur membrane.....	18
I.3. Méthodes enzymatiques.....	19
I.4. Méthodes moléculaires.....	20

II. LES MÉTHODES DE DÉTECTION INDIRECTES.....	22
II.1. Méthode conductimétrique.....	22
II.1.1. Le Stratomètre.....	23
II.1.2. Le Bactomètre.....	24
II.2. Méthode du potentiel électrique.....	24
II.2.1. Méthode de Wilkin.....	25
II.2.2. Principe.....	25
II.2.3. E.Colimètre.....	26
II.3. pH et pH-métrie.....	27
II.1.1. Effet du pH sur la croissance bactérienne.....	27
II.1.2. Détecteur à pH.....	28
II.4. Densité optique.....	28
II.5. Température.....	29

CHAPITRE 3 :

I. TECHNIQUE DE LABORATOIRE (MATÉRIEL ET MÉTHODES).....	30
I.1. Fermentation dans des tubes multiples.....	30
II. PROTOCLE EXPÉRIMENTAL.....	31
II.1. Composition des milieux de culture utilisés	
II.1.1. Milieu de culture bactérienne.....	32
II.1.2. Milieu de dénombrement bactérien.....	32
II.1.3. Milieu de Mac Konkey.....	32
II.2. Les variétés d'eaux utilisées.....	33
II.2.1. Eau de consommation.....	33
II.2.2. Eau de puit.....	33
II.2.3. Eau de surfaces.....	33
II.2.4. Eau usée.....	33
II.3. Matériel utilisé.....	33
II.3.1. pH-mètre.....	33
II.3.2. Conductimètre.....	33
III. MODE OPÉRATOIRE.....	34
III.1. Test de croissance bactérienne.....	34

III.2. Test sur les échantillons d'eau stérilisée plus <i>E.coli</i>	34
III.3. Test sur les échantillons d'eaux brutes.....	35
DISCUSSION.....	36
CONCLUSION.....	37

PARTIE LOGIQUE FLOUE

INTRODUCTION

CHAPITRE 1 :

NOTIONS FONDAMENTALES

INTRODUCTION.....	37
I. BREFS HISTORIQUES.....	40
II. INTRODUCTION A LA LOGIQUE FLOUE.....	40
III. PRINCIPES DE LA LOGIQUE FLOUE.....	41
III.1. Variables floues.....	41
III.2. Intervalles flous.....	44
III.3. Fonctions d'appartenance.....	44
III.4. Degré d'appartenance.....	45
III.5. Sous ensembles flous.....	47
III.5.1. Concept de base.....	47
III.5.2. Sous ensemble floue et fonction d'appartenance.....	49
III.6. Opération sur les sous ensembles flous.....	51
III.6.1. Définition.....	51
III.6.2. Propriétés.....	52
III.7. Règles d'inférence.....	53
III.5.1. Combinaison des règles.....	53
III.8. Opérateurs.....	55
III.9. Raisonnement par inférence composée.....	55
III.9.1. Méthode d'inférence min-max.....	56
III.10. DEFUZZIFICATION PAR CENTRE DE GRAVITE.....	57

CHAPITRE 2 :

APPLICATION A LA DETECTION BACTERIENNE

I. STRUCTURE DE L’AFFICHEUR.....	59
II. DESCRIPTION DU PROBLEME.....	59
III. FUZZIFICATION DES VARIABLES FLOUES.....	60
III.1. Fuzzification de la température.....	60
III.2. Fuzzification de l’acidité de la solution.....	61
III.3. Fuzzification de la conductivité électrique.....	62
III.4. Fuzzification du potentiel électrique.....	63
III.5. Variables représentant les variétés d’eau.....	64
III.6. Fuzzification du nombre bactérien.....	65
IV. REGLES D’INFERENCE.....	66
v. EXEMPLE D’APPLICATION.....	67
CONCLUSION.....	69

PARTIE RESEAUX DE NEURONES ARTIFICIELS

CHAPITRE 1 : NOTIONS THEORIQUES

INTRODUCTION.....	70
I. HISTORIQUE.....	71
II. DEFINITION.....	72
III. PRESENTATION.....	72
IV. NEURONE MATHEMATIQUE.....	73
IV.1. Fonction d’activation.....	74
IV.1.1. Les variantes.....	75
V. ASPECTS GENERAUX SUR LES RESEAUX DE NEURONES.....	76
V.1. Taxonomie générale.....	76
V.2. Les différents types des RNA.....	77
V.2.1. Les réseaux ‘feed-forward’.....	77
VI. L’APPRENTISSAGE DES RESEAUX DE NEURONES.....	78
VI.1. Définition.....	78

VI.2. Les types d'apprentissage.....	79
VI.2.1. Le mode supervisé.....	79
VI.2.2. Le renforcement.....	79
VI.2.3. Le mode non supervisé.....	80
VI.2.4. Le mode hybride.....	80
VI.3. les règles d'appartenance.....	80
VI.3.1. Règles de correction d'erreurs.....	80
VI.3.2. Apprentissage de Boltzmann.....	80
VI.3.3. Règle de Hebb.....	81
VI.3.4. Règle d'apprentissage par compétition.....	81

CHAPITRE 2: APPLICATION A LA DETECTION BACTERIENNE

I. EXPRESSION DU PROBLEME.....	82
II. MODELE.....	83
III. APPRENTISSAGE DU RESEAU DE NEURONES.....	83
IV. TRAITEMENT DES DONNEES PAR RNA.....	84
IV.1. PARAMETRES D'ENTREE.....	84
IV.2. PARAMETRES DE SORTIE.....	85
IV.3. RESEAU CHOISI.....	85
IV.4. LA FONCTION D'ACTIVATION.....	85
IV.5. LA CORRECTION D'ERREUR.....	85
V. ARCHITECTURE DU PROGRAMME.....	85
RESULTATS ET DISCUSSION.....	87
CONCLUSION.....	88

PARTIE RESEAUX DE NEURO-FLOU

INTRODUCTION.....	88
I. L'APPROCHE HYBRIDE.....	90
I.1. CONCEPT DES ETATS FLOUS ET FONCTIONS D'APPARTENANCE..	90
I.2. IMPLICATION FLOUE CALCULEE PAR RESEAU MULTI COUCHE..	91
I.2.1. Inférence floue.....	91

I.3. LES REGLES FLOUES.....	92
I.4. ARCHITECTURE DU PERCEPTRON.....	92
II. AVANTAGES ET INCONVENIENTS.....	93
III. RESEAU NEURO-FLOU PROPOSE.....	95
IV. TRAITEMENT DES DONNEES PAR NEURO-FLOU.....	97
VI.1. PARAMETRES D'ENTREE.....	97
VI.2. PARAMETRES DE SORTIE.....	97
VI.1. RESEAU CHOISI.....	97
VI.1. FONCTION D'ACTIVATION.....	97
VI.1. CORRECTION D'ERREURS.....	97
VI.1. FONCTION D'APPARTENANCE.....	97
V. ARCHITECTURE DU PROGRAMME.....	98
RESULTAT ET DISCUSSION.....	99
CONCLUSION.....	100
CONCLUSION GENERALE.....	102
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	104
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	
ANNEXE	

RÉSUMÉ

Les méthodes classiques de détection de la pollution microbiologique de l'eau sont basées sur la détection des bactéries *Escherichia coli* qui sont considérées comme indicatrices de contamination. Ces méthodes utilisent des techniques simples de laboratoire. La détection de ces bactéries nécessite un temps excessivement long et des opérateurs qualifiés. Ainsi, Ces méthodes quantitatives et qualitatives utilisées pour la confirmation de la présence ou l'absence de ces bactérie nécessitent une incubation de 24 heures.

Dans cette étude, nous proposons un nouveau système intelligent pour la détection de la pollution microbiologique de l'eau. La méthode proposée est basée sur un système utilisant les techniques de l'intelligence artificielle. Les données de départ sont les variations des paramètres physico-chimiques accompagnant la croissance bactérienne dans un environnement flou (en plus de l'*E. coli*, d'autres bactéries peuvent coexister et induisent des paramètres similaires). L'utilisation d'un modèle à logique floue, démontre sa capacité de résolution des problèmes dont les données se trouvent dans un environnement incertain. Une autre analyse s'avère nécessaire en utilisant les réseaux de neurones artificiels. Le résultat du traitement des données peut être réuni dans un système neuro-floue. Une fois le système élaboré, il sera possible de répondre à la contamination en termes numérique et symbolique. Une base de données est construite à partir des analyses expertes suivant les méthodes de laboratoire. Les résultats sont obtenus sur la base des mesures des variations des paramètres physico-chimiques engendrées par la croissance bactérienne -la température ; le pH ; le potentiel électrique et la conductivité électrique- en correspondance avec le nombre bactérien dans différentes variétés d'eau (eaux de surface ; eaux souterraines ; eaux potables et eaux usées). Le résultat instantané en nombre de bactéries devient alors possible juste par la lecture de ces paramètres à partir des capteurs spécifiques.

Mots clefs: *analyse de l'eau, détection de l'E. coli, systèmes experts flous, systèmes intelligents, inférence artificielle à logique floue.*

ملخص

إن الطرق التقليدية للكشف عن التلوث البكتيري في الماء، تركز على الكشف عن بكتيريا *Escherichia coli* التي تعتبر مؤشر للتلوث. البعض من هذه الطرق تعتمد طرق مخبرية بسيطة غير أن هذا الكشف يستوجب تقني مؤهل ووقت زمني طويل. إذ أن الفحص الكمي والنوعي لهذه البكتيريا يستغرق حوالي 24 ساعة زمن النمو البكتيري. في هذه الدراسة، نقترح نظام ذكي جديد للكشف البكتيري في الماء العذب. يتم هذا بنموذج يعتمد المنطق الغامض. تركز هذه الطريقة على التغيرات الفيزيوكيميائية الناتجة من النمو البكتيري في وسط غامض (زيادة على *E. coli* بعض البكتيريا الأخرى تتواجد في الماء و يمكنها أن تحدث تغيرات مشابهة). إن إستعمال المنطق الغامض يظهر كفاءته على التعامل مع هذه المعطيات. في خطوة أخرى، نقترح نظام آخر يعتمد الشبكة العصبية الإصطناعية وتكون نتيجة النموذجين هو نظام يعتمد الشبكة العصبية الإصطناعية الغامضة. يمكن لهذا النظام القراءة الرقمية و اللغوية للتلوث بصورة مباشرة. المعطيات الأولية تؤخذ من التجارب المخبرية و التي تسجل عن طريق مسرى خاص بكل متغير في الدخول من الحموضة، الناقلية الكهربائية، الكمون الكهربائي و نوع المياه (ماء سطحي، ماء بئر، ماء الشرب، مياه مستعملة) و يكون العدد البكتيري هو النتيجة في الخروج.

: تحليل المياه، الكشف عن *E. coli* ، نظام خبير غامض، نظام ذكي،

الإستنتاج الإصطناعي بالمنطق الغامض

ABSTRACT

The classical methods for detecting the micro biological pollution in water are based on the detection of the *Escherichia coli* bacteria which indicators of contamination. Some of them are based on simple and easy-to-handle concepts like laboratory methods. But to check each water supply for these contaminants would be a time-consuming job and a qualify operators. Although, some of the quantitative and qualitative methods used up to now to detect *Escherichia coli* bacteria are so effective, the confirmed presence of these bacteria is detectable following at least 24-hour incubation time.

In this study, we propose a novel intelligent system which provides a detection of microbiological pollution in fresh water. The proposed method is based on the intelligent system. This is done by the artificial fuzzy logic model. This method is based on the variations of the physical and chemical parameters occurred during bacteria growth in the fuzzy environment. (In plus of the *E. coli* bacteria in water, some others can induce the same physical and chemical variations). The use of the fuzzy logic model, demonstrate his capability for addressing problems of uncertainty and vagueness in data. In the second time, the use of the artificial neural network will be done. The result of study will concern the combination in neuro-fuzzy system. After the system is completely constructed, it ca learn new information in both numerical and linguistic forms. The linguistic model is constructed based on knowledge provided by the analytical methods or by the domain expert. The instantaneous result obtained by the measurements of the variations of the physical and chemical parameters occurred during bacteria growth –temperature, pH, electrical potential and electrical conductivity- of many varieties of water (surface water, well water, drinking water and used water) on the number *Escherichia coli* in water. The instantaneous result obtained by measurements of the inputs parameters of water from sensors.

Key words: Testing water, *E.coli* detection, fuzzy expert system, intelligent system, artificial fuzzy logic inference.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans les pays en voie de développement 80 % des maladies qui y sévissent sont liées à l'eau. L'OMS estime que, dans le monde entier, les maladies infectieuses transmises par l'eau ont été responsables de trois millions de décès en 1995 ; 80 % étaient des enfants de moins de cinq ans. Pour prévenir les maladies hydriques, les instances de la santé publique doivent faire preuve d'une vigilance constante à l'égard de la contamination par les bactéries. Ces problèmes soulignent la nécessité d'exercer un contrôle rigoureux sur la qualité de l'eau et d'améliorer son traitement.

Dans ce cadre nous nous limitons à la pollution microbiologique de l'eau. L'eau peut contenir des micro-organismes pathogènes (des virus, des bactéries, des parasites). Ils sont dangereux pour la santé humaine et limitent donc les usages que l'on peut faire de l'eau.

L'eau est un milieu naturel de la flore bactérienne, la recherche de toutes les bactéries qui cohabitent dans l'eau se révèle très difficile si ce n'est impossible. Les microbiologistes ont depuis longtemps défini les bactéries Coliformes comme étant des indicatrices de contamination. Par cela, la recherche de la pollution microbiologique de l'eau est limitée à la juste recherche de ce type de bactéries.

Les méthodes de colimétrie actuelles sont très diverses. Ces méthodes peuvent être classifiées en méthodes directes et méthodes indirectes. Les méthodes directes se distinguent par leur degré de précision et leur fiabilité élevée. Ces techniques d'analyse sont homologuées par les instances internationales de santé publique. Cependant, elles présentent des insuffisances majeures, notamment la complexité d'analyse nécessitant des opérateurs qualifiés et dans un temps relativement long allant jusqu'à 48h. En raison de l'augmentation du nombre des analyses découlant de l'intensification du contrôle sanitaire sur les lieux de consommation, il devient nécessaire de disposer d'une méthodologie adaptée permettant des interventions rapides et fiables.

D'autres méthodes dites indirectes essayent tant bien que mal de s'imposer dans ce domaine. Ces méthodes utilisent les variations des paramètres physico-chimiques accompagnant le métabolisme bactérien. Durant la croissance bactérienne dans un milieu, le pH, la conductivité électrique, le potentiel électrique, la densité optique, le taux d'oxygène ...etc. varient avec le nombre bactérien. Les mesures de l'un de ces paramètres peuvent être considéré comme un indicateur de la présence ou de l'absence de ce type de bactéries. Comme le milieu peut contenir un ensemble de bactéries différentes et peuvent générer un métabolisme similaire, il devient alors difficile de cibler la bactérie recherchée. C'est la raison pour laquelle ces techniques de détection continuent à rencontrer des difficultés à s'imposer dans ce domaine.

Nous proposons dans de thème l'utilisation de plusieurs de ces paramètres combinés en vue d'améliorer la précision des mesures.

Nous avons consacré une première partie de ce travail à l'aspect purement microbiologique. Un aperçu théorique sur la problématique est traité suivi de l'aspect taxonomique et morphologique de la bactérie recherchée est traité en premier lieu. Une analyse des méthodes de détection classiques directes et indirectes sont également traitées avec leurs avantages et inconvénients. Enfin, Une étude expérimentale concernant les mesures des paramètres physico-chimiques effectuées lors de la croissance bactérienne est présentée. Le mode opératoire est détaillé dans ce chapitre.

En conclusion, nous constatons que les données de départ sont caractérisées par leurs incertitudes. L'identification de ces bactéries se trouve située dans un environnement flou. Comme ces données de départ sont jugées incertains, le traitement des données par logique floue, s'avère parfaitement adéquat. La réponse instantanée à la contamination sera en terme symbolique et numérique.

A ce titre, toute une série de notions fondamentales de la logique floue sera développée. Ces notions permettent de justifier et de démontrer certains principes de base. On ne retiendra que les éléments indispensables à la compréhension du principe de détection par la logique floue. Ces éléments sont les variables floues et les règles d'inférence.

Les grandeurs utilisées dans un système de détection sont générées par des capteurs de pH, de conductivité, de potentiel électrique, de température ainsi que l'introduction de la variété d'eau utilisée. Il est nécessaire de convertir ces grandeurs en variables floues. Pour ce faire on définit les deux notions suivantes :

- 1• Les fonctions d'appartenance qui permettent de définir le degré de vérité de la variable floue en fonction de la grandeur d'entrée
- 2• Les intervalles flous qui déterminent le nombre de variables floues

Ces paramètres sont traduits en fonctions d'appartenance. Il s'agit là d'établir une relation entre le degré de vérité de la variable floue et la grandeur d'entrée correspondante. Des intervalles flous sont définis en nombre de variables floues associées à une grandeur d'entrée. Dans le cas de notre détection, trois intervalles s'avèrent suffisants. De façon générale ils sont caractérisés à l'aide de symboles.

Le traitement des données s'opère suivant des règles permettant de relier les variables floues d'entrée aux variables floues de sortie à l'aide d'opérateur. Ces règles d'inférences font appel à l'opérateur « et », qui s'applique aux variables floues.

La variable floue de sortie doit être convertie en une grandeur de mesure afin d'être appliquée au système de détection comme étape la défuzzification. Il s'agit là de convertir cette information en une grandeur physique de lecture.

Un autre mode d'analyse des données proposé utilise les réseaux de neurones artificiels. Les données expérimentales sont considérées comme des entrées du système à réseaux de neurones. Le principe d'apprentissage est considéré vraisemblablement comme la propriété la plus intéressante de ces réseaux.

L'apprentissage est une phase du développement d'un réseau de neurones durant laquelle le comportement du réseau est modifié jusqu'à l'obtention du comportement désiré. L'apprentissage neuronal fait appel à des exemples de comportement.

Dans notre application c'est un système d'aide à la décision. Il s'agit là de déterminer la présence des bactéries d'*E. coli* dans l'eau à partir de l'introduction des données expérimentales forme de valeurs des paramètres physico-chimiques des échantillons considérés. La base est constituée de ces valeurs en correspondance avec le

nombre bactérien mesuré par les méthodes classiques d'analyse. Chaque cas est décrit par des valeurs qualitatives (le type de l'échantillon de l'eau –eau de puit, eau de surface, eau usée ou eau de consommation) ou semi quantitatives (qui sont les variables de pH, conductivité, potentiel électrique et le logarithme du nombre bactérien). Pour chaque cas 500 cas (50%) seront utilisés pour la phase d'apprentissage. Les 500 autres cas restant serviront pour le test. Les résultats sont instantanés. Il faut relativiser ces performances en ce sens qu'un laborantin même en situation d'urgence ne fournit le bon diagnostic que dans 48 h. D'autre part, l'absence de certaines valeurs au niveau des valeurs d'entées posent problème. Cependant il est impossible que des incohérences existent au niveau de l'apprentissage ou du test (deux situations de contamination identiques avec un résultat de détection différent par exemple). C'est là l'un des principaux avantages des systèmes de réseaux de neurones que de pouvoir rester efficace même dans cette situation.

Comme synthèse d'étude, un système neuro-flou est étudié. L'objectif est de fournir un système plus spécifique de la détection bactérienne et donc plus performant. Dans un système à base de règles, la base de connaissances est composée de deux parties : la base de règles et la base de faits. La base de règles contient des connaissances exprimées sous la forme : Si <condition> Alors <action>. Le moteur d'inférences est un programme chargé d'exploiter les règles et les faits. Pour schématiser, on peut dire qu'il consiste à sélectionner, puis à appliquer, les règles dont la partie gauche concorde avec les faits établis. Dans ce type de système les règles sont assimilables à des implications logiques entre propositions ou prédicats. Ainsi le raisonnement est lui-même assimilable à une suite de déductions logiques. Dans notre application, il est nécessaire de traiter des connaissances incertaines, imprécises ou incomplètes comme raisonnement flou.

Dans le cadre de notre travail, la notion de flou est modélisée par l'introduction des coefficients d'incertitude pris dans l'intervalle réel $[0,1]$. Ces coefficients d'incertitude sont associés à la fois aux faits établis et aux règles. On dispose donc d'une pondération des faits. Le système neuronal traite les données de départ sous forme de fonctions d'appartenance floues dans ce cas. Par cela, l'affichage en lecture du nombre bactérien sera plus précis et plus fiable. En plus de son instantanéité.

PARTIE MICROBIOLOGIQUE

INTRODUCTION

La haute densité de population et leur concentration avec tout ce qu'elles impliquent, rend la prévention des épidémies d'origine hydriques indispensable. L'eau est considérée comme vecteur importants de micro-organismes (pathogènes ou pas). Ceci entraîne un contrôle permanent et rigoureux de sa qualité microbiologique. Dans un contexte où les normes de qualité microbiologique sur les eaux de consommation pourraient être revues dans le sens d'un accroissement de sévérité.

Compte tenu du pouvoir pathogène des espèces de bactéries et leurs capacités de provoquer des infections par l'intermédiaire de l'eau, et devant de graves situations d'épidémies résultantes de cette contamination, il devient nécessaire de disposer d'une méthodologie adéquate permettant l'identification des agents responsables de ces épidémies.

Les microbiologistes ont depuis fort longtemps déterminé les coliformes fécaux un des principaux groupes indicateurs de contamination. Ce groupe inclut à la fois des bactéries pathogènes et d'autres bactéries qui ne le sont pas. Le fait de travailler sur les coliformes fécaux comme modèle de micro-organismes d'origine fécale se justifie, d'une part, parce que ces bactéries constituent l'un des indicateurs courants de contamination microbiologique des eaux et que, par conséquent, des normes sont fixées pour l'abondance maximale de ces bactéries selon l'usage de l'eau et, d'autre part, parce que ces bactéries sont abondantes dans le milieu aquatique ce qui permet d'étudier leur écologie sans trop de problèmes. Il est apparu primordial de mieux appréhender l'écologie des indicateurs de contamination fécale et des pathogènes dans les milieux aquatiques naturels.

Les méthodes classiques d'énumération des coliformes dans les eaux naturelles sont basées sur la mise en culture des échantillons dans ou sur des milieux nutritifs sélectifs (AFNOR, 2001). En raison de certaines limitations des méthodes traditionnelles, tel que la fermentation dans des tubes multiples ou la filtration sur membrane, diverses autres techniques de détection des coliformes ont été développées ces dernières années, principalement des méthodes basées sur leurs propriétés enzymatiques ou des techniques de biologie moléculaire. Une des méthodes basées sur les propriétés enzymatiques des coliformes ne nécessite pas de mise en culture des échantillons. Cette méthode est basée sur la mesure d'une activité enzymatique spécifique d' *E.coli* (activité β -D glucuronidase), souche qui constitue l'essentiel des coliformes fécaux en milieu aquatique naturel (George et al., 2000). Cette mesure, en plus de sa rapidité, offre l'avantage de prendre en compte les bactéries viables mais non cultivables (George et Servais, 2002).

Cependant, toutes ces méthodes classiques s'avèrent incomplètes soit par leur précision, soit par leur coût, soit par leur adaptabilité. D'autres méthodes de détection dites « indirectes » sont alors apparues. Ces méthodes mesurent les effets physico-chimiques portés au milieu bactérien durant le métabolisme de celles-ci. Certaines de ces méthodes se basent sur les mesures de la conductivité électrique du milieu, d'autres sur son potentiel électrique, d'autre la variation de son pH, et d'autre sur sa densité optique.

Les exigences des instances de santé publique en matière de contrôle des eaux de consommation sont de plus en plus rigoureuses. Vu les inconvénients apparents des méthodes de détection jusqu'ici utilisées soit en temps de réponse, soit en coût, soit en adaptabilité, nous essayons dans cette étude de proposer une méthodologie nouvelle permettant de répondre au test de contamination microbiologique des eaux de consommation de façon instantanée, avec le moindre coût et avec un degré de précision et de fiabilité acceptable.

Plusieurs paramètres physico-chimiques résultant du métabolisme bactérien de l'*E.coli* sont pris en considération à la fois tel que le pH, le potentiel électrique, la

conductivité électrique et la température dans différentes variétés d'eaux. Cela, peut conduire à des résultats de contrôle plus précis et plus fiables.

Dans un premier chapitre nous avons défini l'*E.coli* (bactérie indicatrice de contamination) comme objet d'étude. Comme aspect théorique du cadre d'étude notamment les exigences en matière de santé publique et microbiologie de l'eau, la biométrie et microbiologie de l'eau, taxonomie et morphologie de la bactérie ainsi que sa cinétique de croissance.

Dans un deuxième chapitre, nous avons traité les techniques de détection existantes où nous avons essayé de déduire les avantages et les inconvénients de chaque méthode.

Un troisième chapitre est consacré au mode opératoire. L'aspect expérimental de culture bactérien, de prélèvement des paramètres physico-chimiques accompagnant le métabolisme bactérien. Ces mêmes paramètres sont également prélevés sur différentes variétés d'eaux –eau de puit, eau de surface, eau usée, eau potable–. Ces valeurs sont en correspondance avec le nombre bactérien mesuré. à chaque fois suivant les méthodes classiques notamment la fermentation dans des tubes multiples utilisant la méthode du nombre le plus probable (NPP).

CHAPITRE 1.

I. CADRE DE L'ÉTUDE

I.1. Contexte épidémiologique

En raison du développement de l'urbanisme, partout dans le monde et l'intensification des contrôles sanitaires sur les lieux même de consommation de l'eau, il devient nécessaire de disposer d'une méthodologie adaptée. Celle-ci doit permettre de répondre à la contamination ou à la potabilité de l'eau de consommation dans un bref délai et avec une fiabilité et une fidélité confirmée.

I.2. Santé publique et microbiologie de l'eau

L'eau douce peut contenir des déchets qui sont naturellement dégradables par les microorganismes et notamment par les bactéries, cette activité métabolique se traduit par la production de biomasse « corps cellulaire » et par la libération des substances ioniques qui s'accumulent dans le milieu et produisent une variation des caractéristiques physico-chimiques de ce dernier.

L'insalubrité, l'absence d'assainissement des eaux usées, le manque d'eau propre et une mauvaise hygiène corporelle est à l'origine de 80% des maladies humaines au monde. L'Afrique, l'Asie, l'Amérique latine et le Moyen Orient sont particulièrement concernés. Les personnes concernées sont plus susceptibles de connaître des infections bactériennes.

Les eaux naturelles contiennent une microflore bactérienne diversifiée qui est principalement constituée de membres de genres : *Micrococcus*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Bacillus Corynebacterium*, *Actinomyces Microbacterium* ; *Aerococcus* ; *Citrobacter* ; *Arthrobacter* et *Mycobacterium*.

Plusieurs bactéries sont nocives lorsqu'elles sont présentes dans les eaux de consommation. Le tableau -1- résume certaines bactéries que l'on peut rencontrer dans les eaux et les effets qu'elles peuvent provoquer. (Gel Dretch, 1990).

Bacterie	Maladie/ infection	Symptomes
<i>Aeromonas</i>	Entérite	maigreur, diarrhées contenant du sang et du mucus
<i>Campylobacter jejuni</i>	Campylobacteriose	grippe, diarrhées, maux de tête et d'estomac, fièvre, crampes et nausées
<i>E. Coli</i>	Infections urinaires, méningites néonatales, maladie intestinale	diarrhées liquides, maux de tête, fièvre, urémie, dommages aux reins
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Plesiomonas-infection	Nausée, maux d'estomacs, diarrhée, parfois fièvre, maux de tête et vomissement
<i>Salmonelle</i>	Fièvre typhoïde	fièvre
	Salmonellose	vomissement, crampes intestinales, diarrhée, et parfois fièvre légère
<i>Streptocoque</i>	Maladies gastro-intestinales	maux d'estomac, diarrhée et fièvre, parfois vomissement
<i>Vibrio El Tor (eau douce)</i>	(forme légère du) Cholera	diarrhée importante

Tableau -1 : Les différentes bactéries avec les maladies qu'elles engendrent.

I.2.1. Les contraintes générées par le consommateur

A l'heure actuelle la satisfaction du consommateur, sa protection et sa fidélisation sont les principaux objectifs des services sanitaires en matière d'approvisionnement en eau potable. Le consommateur est de plus en plus attentif à la qualité hygiénique de l'eau de consommation.

Ces attentes peuvent être contradictoires. En réalité, lorsque le consommateur exige une eau potable, il aspire implicitement à la consommation d'une eau traitée. En effet, les traitements appliqués pour garantir la sécurité de l'eau ont une action sur les

micro-organismes dans l'eau mais également sur les propriétés fonctionnelles de celle-ci. Le traitement doit alors obéir à des règles et des normes appropriées.

I.3. Emergence d'un nouvel objectif

Les analyses classiquement appliquées sont caractérisées par leurs degrés de confiance reconnue par les instances internationales de santé publique, notamment les méthodes classiques dites méthodes directes. Malgré que ces méthodes se distinguent par leur précision et leur degré de fiabilité élevé, elles se caractérisent aussi par leurs lenteurs ainsi que leur coût élevé. En réponse à ce contexte, un des nouveaux objectifs de la prévention est de définir des méthodes plus fiables et plus rapides garantissant la prévention des maladies liées à l'eau et qui peuvent générer des épidémies dans certains cas extrêmes. Cependant à l'heure actuelle, il n'y a pas ou très peu d'informations disponible dans la littérature sur les techniques d'analyses obéissant aux critères de fiabilité, rapidité, utilisables sur les lieux de consommation même sans l'intervention d'un opérateur qualifié. Les instances de santé publique ont donc besoin d'une méthodologie permettant la réponse à la contamination bactérienne à coût modéré ainsi qu'à une aide à la décision d'autoriser la consommation de l'eau.

II. MOYEN METHODOLOGIQUE UTILISE

II.1. Biométrie et microbiologie de l'eau

La prévention des maladies liées à l'eau se résume au traitement de l'eau de diverses origines –eaux souterraines ou eaux de surface–. Comme l'eau est un milieu naturel de presque toute la flore bactérienne, il devient nécessaire de procéder à la détection de la pollution microbiologique de celle-ci. Comme il est aussi difficile de détecter l'ensemble de ces bactéries, les microbiologistes ont depuis longtemps défini la bactérie de *l'Escherichia Coli* comme étant indicatrice de contamination. Ainsi la présence de cette bactérie comme bio-indicateur dans l'eau indique la présence de toutes

les autres. La détection de la pollution microbiologique de l'eau consiste donc à la seule détection de cette bactérie.

II.2. Caractéristiques des bio-indicateurs

Les micro-organismes bio-indicateurs doivent répondre à des exigences parfaitement définies par Leclerc (1981) :

- Ils doivent indiquer la présence possible des germes pathogènes.
- Ils doivent être présents seulement quand les bactéries pathogènes représentent un danger imminent.
- Ils doivent pousser rapidement sur les milieux de culture simples.
- Ils doivent produire des réactions simples et caractéristiques, permettant une identification sans ambiguïté du groupe.
- Ils doivent être distribuées au hasard dans l'échantillon à examiner ou si ce n'est le cas une simple procédure d'homogénéisation doit permettre d'en obtenir une répartition uniforme.
- Ils doivent enfin se développer largement, indépendamment des autres micro-organismes présents, c'est-à-dire qu'ils ne doivent pas être inhibés par la présence d'autres bactéries.

III. METABOLISME ET CROISSANCE DE L'*ESCHERISHIA COLI*.

III.1. Rappels taxonomiques et morphologiques

La famille des *entérobactériaceae* sont en générale une des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et de l'animal, ce qui conditionne leur appellation (*Enteros* = Intestin). Elle représente un groupe relativement homogène de bactéries. Ce sont des cellules bacillaires de petites tailles à Gram négatif et mobiles par des flagelles ou

immobiles, asporulées, aéroanaérobies facultatives, produisent des acides à partir du glucose, catalase positif, réduisent les nitrates en nitrites. (Leclerc et al., 1989. a).

En se basant sur ces critères, c'est la taxonomie qui a contribué à la classification des genres et des espèces de cette famille dont on cite :

*Escherichia ; Erwinia ; Hafnia ; Citrobacter ; Yersinia ; Salmonella ; Enterobacter ; Proteus ; Shigella ; Klebsilla...*etc. (Richard, 1989).

Les coliformes regroupent un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae*. Se sont les plus recherchées pour le contrôle bactériologique des eaux de consommation, des rivières et des eaux de mer. Elles sont capables de fermenter le lactose à une température de 35°C à 37°C (24h – 48h) et donner comme résultat du gaz et de l'aldéhyde. (Geldriech et al., 1982).

A l'heure actuelle, il est généralement admis que seule la présence de gaz est prise en considération lorsqu'il s'agit de détecter les coliformes. Selon l'organisation mondiale de la santé, les coliformes sont définies en 1985 par : organismes coliformes concernant toutes les bactéries : - en bâtonnet, asporulées, à Gram négatif). De plus, elles sont aéro-anaérobies facultatives.

III.1.1. Les coliformes :

Les coliformes sont répertoriés en deux groupes :

a. Coliformes totaux : Se sont des hôtes habituels de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud, présents en grand nombre dans les selles de l'ordre de ($10^7 - 10^9$ germes/g. de selle). Elles peuvent survivre dans les milieux extrêmes (Sol ; eaux usées... etc.). Leur fermentation du lactose s'effectue à 37°C (Apha, 1989).

b. Coliformes Fécaux : Ce groupe de bactéries possède les mêmes propriétés que le groupe précédent mais la fermentation s'effectue à une température de 44°C à 44,5°C. Appelées aussi les coliromes thermo-tolérants, elles sont capables de dégrader le

Tryptophane et de produire l'Indole à partir de l'eau peptonée. Elles regroupent beaucoup plus *l'Escherichia*.

Pour la détection de ce groupe, il suffit d'identifier l'espèce bactérienne *Escherichia Coli*, car sa présence dans l'eau selon l'ordre de (1cellule / 100 ml) indique une contamination d'origine fécale. (Oteng et al., 1984).

III.1.2. Escherchia :

C'est une espèce de bactérie des coliformes, isolée par Escherich en 1885 des selles d'un nourrisson. C'est le genre le plus étudié du côté physiologique et génétique (Fasquelle, 1974). *l'Escherichia coli (E. coli)* est un groupe de bacilles à Gram négatif, anaérobiques en forme de bâtonnets qui font partie de la microflore bactérienne normale du tube digestif de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. La majeure partie de la population intestinale du *E. coli* ne cause aucun problème, elle nous est même très utile : elle nous aide à digérer les aliments et synthétise de la vitamine B indispensable à notre santé. La bactérie a même été utilisée pour fabriquer de nombreuses enzymes industrielles et médicaments comme l'insuline ou les hormones de croissance par exemple. Cependant, si la majorité des souches est commensale, certaines sont à l'origine de pathologies.

a. Localisation :

Se sont de hôtes saprophytes du tube digestif de l'homme et de l'animal. Elles se trouvent en grand nombre dans les selles (10^7-10^9 germes/g. de selles) (Avril et al., 1992).

b. Aspect morphologique :

Elle se présente sous forme de cellules en bâtonnets à Gram négatif, munie de flagelles, asporulée, dépourvue de capsules. (Fasquelle, 1974). –Fig. 1-.



Figure 1 : Aspect morphologique de l'*Escherichia Coli*. (Natural Resources Research Institute, University of Minnesota; USA).

III.2. Cinétiques de croissance

Les bactéries *Escheerichia coli* peuvent croître dans le milieu d'agar nutritif (37°C pendant 24h). Comme elles croissent à une température de 44°C à 44,5°C dans un milieu de pH équilibré. (Rodier, 1984). Elles donnent des colonies rondes lisses de périphéries bien organisées. Le diamètre est de 2 – 3 mm. (Fig. 2) Elles fermentent le lactose et peuvent croître dans le milieu d'Agar du sang (Evan, et al., 1983). Le genre d'*Escherichia* comprend quatre espèces : *E. Coli* ; *E. Vulneris* ; *E. Hartmanii* et *E. Fergusonii*

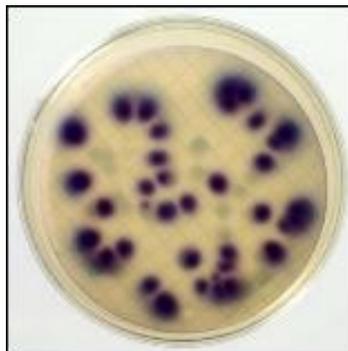


Figure 2 : Aspect morphologique des colonies d'*Escherichia Coli*. (Natural Resources Research Institute, University of Minnesota; USA).

Chez L'*Escherichia coli*, certaines souches sont pathogènes provoquant diarrhées chez les nourrissons (gastro-entérites infantiles) comme elles peuvent être impliquées dans des infections urinaires.

CHAPITRE 2.

METHODES DE DETECTION

I. LES METHODES CALSSIQUES (METHODES DIRECTES)

I.1. Technique de fermentation dans des tubes multiples

La technique de la fermentation dans des tubes multiples a été utilisée durant plus de 80 ans comme méthode de détection de la qualité de l'eau. Cette technique consiste en des dilutions décimales dans une série de tubes des échantillons de l'eau. La formation du gaz dans les tubes de tests après 48 h d'incubation à 35°C constitue une preuve de réaction positive. Le lactose et le lauryl tryptose sont utilisés comme milieux d'incubation dans ce test. La production du gaz après 24h d'incubation de l'*E. Coli* à 44.5°C est considéré comme un test positif de la présence de cette bactérie. (A. Rompré et al., 2002).

Le résultat de cette technique est exprimé en terme du plus probable nombre (NPP) des micro-organismes présents. Comme conséquence, cette technique est considérée comme semi quantitative et sa précision dépend du nombre du tube utilisé dans les analyses. A titre d'exemple, si le nombre des tubes utilisé est de un, et 1 ml d'échantillon est examiné, la précision est aux alentours de 37%. Si le nombre des tubes est cinq, et chacun contient 1 ml d'échantillon, la précision est aux alentours de 99%. (APHA et al., 1998). Cette méthode se caractérise par plusieurs facteurs qui interviennent dans la détection, spécialement l'inférence d'un grand nombre de bactéries non coliformes. (Seidler et al., 1981).

Cette technique nécessite un temps excessivement long en comparaison avec l'utilisation de la technique de filtration sur membrane. Cependant cette technique trouve son application lorsque les conditions de l'utilisation de la filtration par membranes ne sont pas réunies lorsque la turbidité de l'eau est élevée ou dans le cas de l'eau colorée.

Cette technique ne peut être utilisée que par un opérateur qualifié en techniques d'analyses microbiologiques, mais se distingue par son coût relativement faible et ne

nécessite que des équipements modestes. Son inconvénient majeur est son temps relativement long, 48h pour présumer la contamination et pour sa confirmation le temps peut aller au-delà de 48h.

I.2. Technique de la filtration par membrane.

C'est une technique souvent acceptée et approuvée comme une procédure d'analyse de la qualité de l'eau dans plusieurs pays.

La méthode de filtration par membrane est relativement facile à mettre en œuvre. Elle consiste à filtrer un volume d'eau connu sur une membrane poreuse, calibrée pour retenir les bactéries (0,45 μm). Cette membrane est ensuite mise dans des conditions qui autorisent le développement des coliformes thermotolérants mais pas les autres bactéries : incubation 24 h à 44°C (d'où le nom de bactérie thermotolérante, car les autres coliformes ne se développent en principe pas au dessus de 37°C) sur un milieu nutritif favorable. Après 24 heures, les bactéries présentes ont formé des colonies de bactéries identifiables à l'œil nu. Les résultats sont exprimés en nombres de colonies par 100 ml d'eau filtrée.

Plusieurs milieux sont utilisés dans la détection des colonies formées à partir des échantillons d'eaux à analyser (Gravow et Du Preez, 1979 ; Rice et al., 1987). Parmi les milieux les plus utilisés on note le m-Endo-type en Amérique du nord (APHA et al., 1998) et le Tergitol-TTC en Europe (AFNOR, 1990). D'autres milieux sont également utilisés comme le MacConkey agar et le Teepol en Afrique du sud et en Grande Bretagne.

Cette méthode se caractérise par l'influence que peut engendrer les constituants chimiques présents dans l'eau tel que les désinfectants. Cette méthode est généralement la plus utilisée dans les laboratoires d'analyse des eaux de consommation vu sa simplicité. Sa manipulation nécessite un opérateur d'analyse microbiologique qualifié. Cependant, la confirmation de la présence de la bactérie, nécessite au moins 24h, le temps de l'incubation des colonies dans le milieu de culture approprié.

I.3. Les méthodes enzymatiques

Les tests biochimiques utilisés dans l'identification microbiologique et l'énumération suivant les méthodes classiques se basent sur les réactions métaboliques. Pour cette raison plusieurs tests additifs sont nécessaires pour la confirmation. La réaction positive de l'enzyme β -D-glucuronidase a été observée dans 94-96% des cas de *Escherichia coli* (Kilian et Bulow, 1976; Feng et Hartman, 1982; Edberg et Kontnick, 1986; Kaspar et al., 1987).

Cette méthode est basée sur la mesure d'une activité enzymatique spécifique du coliforme fécal le plus abondant, *Escherichia coli*: La propriété du β -D-glucuronidase d'*E.coli*, qui hydrolyse naturellement les β -D-glucuronides, peut également hydrolyser des composés artificiels comme le 4-méthylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MU-Glu) et libérer ainsi le produit 4-méthylumbellifère (MUF) fluorescent, qui est détecté par spectro-fluorimétrie.

Le principe de cette méthode est d'ajouter aux bactéries d'un échantillon naturel, retenues par filtration sur une membrane de 0.2 μm de porosité, du MU-Glu pour détecter *E. coli*, et de mesurer une vitesse d'apparition totale de la fluorescence dans le milieu de réaction, à laquelle on soustrait le taux d'auto-hydrolyse du substrat dans les mêmes conditions de réaction mais en l'absence de bactéries. La valeur résultante de cette soustraction représente la vitesse de production du produit fluorescent par l'activité enzymatique d'*E. coli* et est, dans des conditions standards, proportionnelle à la quantité d'enzymes présents dans l'échantillon, donc au nombre d'*E. coli* si la quantité d'enzymes par bactérie est constante.

Plusieurs milieux sont proposés en vue d'améliorer la détection tel que l'Indoxyl- β -D-glucuronide (Brenner et al., 1993), le Phénolphthalein-mono- β -D-glucuronide complex (Bütler et Reuter, 1989), le 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (Watkin et al., 1988) ainsi que le 4-méthylumbelliferyl- β -D-glucuronide (Dahlen et Lind, 1973; Feng et Hartman, 1982).

Cette méthode ne comporte aucune étape de mise en culture et permet ainsi un gain de temps considérable par rapport aux méthodes classiques d'incubation sur milieu gélosé (temps de réponse compris entre 24 et 48h), puisqu'elle donne une réponse en 20 à 30 minutes.

I.4. Les méthodes moléculaires

La biologie moléculaire est devenue un outil indispensable au laboratoire de bactériologie pour un certain nombre de pathogènes pour lesquels les méthodes de diagnostic habituelles étaient insuffisamment performantes ou difficilement applicables.

Cette méthode s'applique à l'identification rapide de *Escherichia coli* isolé aux moyens de la technique classique de culture de *E. coli*. Cette méthode peut être appliquée à l'identification présomptive de *E. coli* dans des cultures de bouillons d'enrichissement. Elle doit aussi servir à confirmer les colonies trouvées positives au moyen de la réaction en chaîne de la polymérase en temps réel (PCR temps réel).

L'application de cette méthode concerne la détection et l'identification des microorganismes dans les aliments, le sol, les sédiments et l'eau depuis plusieurs années (Trevors et Van Elsas, 1995).

Le principe de cette méthode consiste à la soumission du bouillon de culture à la réaction PCR temps réel qui amplifie une séquence d'ADN spécifique unique du gène de *E. coli*. Le système PCR en temps réel par fluorescence utilise des oligonucléotides hautement spécifiques à *E. coli* et n'amplifient pas l'ADN provenant d'autres organismes non *E. coli* dans les conditions de la réaction (Heid et al., 1996). Le fragment d'ADN ainsi amplifié a une masse moléculaire spécifique définie par les amorces et est facile à identifier par des lectures de fluorescence spécifiques à *E. coli* O157. La procédure complète, après enrichissement, permet d'identifier en 3 heures les échantillons positifs présomptifs et peut remplacer les tests de dépistage classique fournissant ainsi une économie en temps, main d'oeuvre et coût d'analyse. Cette technique PCR s'est révélée

une méthode spécifique et sensible pour l'identification présomptive de *E. coli* à partir de divers échantillons.

Les résultats de cette technique présentent une amplification exponentielle de plusieurs séquences ciblées augmentant ainsi la probabilité de détection des séquences rares dans l'échantillon. (Bej et al., 1990; Waage et al., 1999a,b; Burtscher et al., 1999).

En conclusion, aujourd'hui la méthode de filtration sur membrane est la plus utilisée pour l'énumération des coliformes dans l'eau de consommation, cette technique se distingue par sa simplicité, néanmoins, son temps de réponse peut aller de 24h à 72h.

Les méthodes enzymatiques sont caractérisées par leur coût relativement excessif ainsi que leur temps de réponse peut aller jusqu'à 18 h.

La méthode moléculaire nécessite des opérateurs qualifiés ainsi que des équipements spécifiques de coût élevé (A. Rompré et al., 2002).

Comme les coliformes se trouvent généralement en petit nombre dans l'eau de consommation, leur détection nécessite alors leur amplification par les méthodes classiques. Cependant, d'autres techniques plus performantes sont utilisées récemment dans les analyses quantitatives et qualitatives tel que les techniques par fluorescence, les techniques microscopiques, scanner...etc. (Joux et Lebaron, 2000). Toutes ces techniques nécessitent des moyens lourds et coûteux. La nécessité d'analyse microbiologique aujourd'hui est d'opérer sur les lieux même de l'apparition de la suspicion, avec le moindre coût, par des opérateurs pas nécessairement qualifiés et avec le plus de précision et de fiabilité possible. De là, d'autres techniques d'analyse dites méthodes indirectes de détection sont apparues.

II. METHODES INDIRECTES

II.1. Méthodes conductimétriques :

La conductivité électrique σ d'une phase, représente l'aptitude de cette phase à conduire le courant électrique. Dans les solutions aqueuses, la conductivité est assurée par tous les ions présents dans la solution. Son expression s'écrit:

$$\sigma = \sum z_i F \mu_i C_i$$

σ : Conductivité en Siemens par cm (S.cm-1);

z_i : Le nombre de charges de l'ion i ;

F : Le nombre de Faraday

μ_i : La mobilité de l'ion i , une grandeur liée à sa capacité de déplacement;

C_i : La concentration de l'ion i , exprimée en mole par unité de volume (mol.L-1).

La mesure de la conductivité d'un électrolyte se fait à l'aide d'un conductimètre qui comporte une cellule de mesure. Cette cellule est constituée de deux plaques de platine (métal inattaquable) recouvertes de "noir de platine".

La cellule de mesure permet de déterminer la conductance G (en Siemens S) de la phase par la mesure de l'intensité I et de la tension U du courant parcouru dans la cellule. En effet, comme $G = I / R$ on a $G = I / U$.

La conductance G et la conductivité σ sont reliées par la formule: $G = \sigma / K$.

K : est la constante de cellule (en cm-1): $K = l / s$, où s est la surface d'une plaque et l est la distance entre les 2 plaques. Ces plaques déterminent alors un volume d'électrolyte constant. La valeur de K est donnée par le fabricant selon le design de son électrode ou peut être déterminée en mesurant la conductance d'une solution étalon de conductivité connue. Le conductimètre utilisé transforme la conductance pour donner directement la conductivité de l'électrolyte avec $K \approx 1$ cm-1.

La conductivité est également fonction de la température de l'eau : elle est plus importante lorsque la température augmente. Les résultats de mesure doivent donc être présentés en terme de conductivité équivalente à 20 ou 25°C.

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau.

La croissance des microorganismes entraîne des changements dans l'eau ou le milieu de culture en général, vu que les nutriments sont convertis en produits finaux du métabolisme. Les molécules complexes sont électriquement neutres tel que les hydrates de carbone. Dans les liquides, elles sont métabolisées en molécules ionisées (acide acétique, lactate, ...etc.). Les molécules chargées tel que les protéines et les polypeptides sont converties par la voie aminoacide en ammoniacque et bicarbonate. Ces changements se traduisent par la croissance de la conductivité du milieu, c'est-à-dire une baisse de l'impédance qui sera directement proportionnelle à la concentration des microorganismes dans le milieu étudié. (Hadley et al., 1975).

Cette méthode était développée par UR et Brown en 1975. Elle consiste à insérer dans un montage en pont une solution (milieu de culture bactérien) d'*Escherichia coli* sur l'une des branches du pont, par rapport à l'autre contenant un milieu stérile. Le déséquilibre du pont (variation d'impédance) dû au métabolisme bactérien permet de relever des courbes de variations qui seront comparées aux valeurs standard du comptage bactérien et déterminer ainsi la présence ou l'absence de ces bactéries dans le milieu.

Différents détecteurs sont utilisés sur ce principe :

a. Le stratomètre : Réalisé en 1974 par UR et Brown pour la détection des coliformes où la variation de l'impédance du milieu de culture est de 4% entre la phase initiale et la phase stationnaire. Les mesures sont faites entre le milieu stérile comme référence et le milieu de culture bactérien. Son inconvénient c'est la variation de la température durant le métabolisme bactérien qui engendre la variation de l'impédance. L'erreur de lecture peut aller jusqu'à 10^4 bactérie / ml.

b. Le bactomètre : Réalisé par Hadley et Snyk en 1975. Utilisé dans des applications médicales pour la détection des microorganismes au niveau des urines (Zafary et Martin., 1977).

Utilisé en 1979 par Silverman et Munoz dans la détection automatique des coliformes dans les eaux usées, les taux relevés étaient de l'ordre de 10^6 - 10^7 germes/ml.

Utilisé en 1980 par Martin et Selby pour la détection de la contamination alimentaire en utilisant un milieu de culture spécifique et tryptone lactosé et autres additifs. La réponse (variation d'impédance) est en relation avec des bactéries à Gram négatif. Les résultats sont comparés au graphique étalon pour pouvoir relever des points caractéristiques représentatifs.

* On peut noter qu'à coté du gain du temps, du coût réduit et de la simplicité des équipements et de la manipulation, les résultats ainsi obtenus sont loin de satisfaire les exigences requises en matière de précision.

II.2. Potentiel électrique :

Ce facteur dépend de la nature des substances contenues dans le milieu (oxydantes ou réductrices) mais également de l'aération (aérobiose ou anaérobiose). L'oxygène augmente le potentiel de réduction et neutralise les composés réducteurs. Le comportement des espèces microbiennes vis-à-vis de ce paramètre est très variable où on peut distinguer :

- Les aérobies stricts : exigent l'oxygène libre au cours de leur développement comme les *Pseudomonas*.
- Les anaérobies : ne peuvent se multiplier qu'en absence d'oxygène libre comme les *Costridium*.
- Les aéro-anaérobies ou les anaérobies facultatifs : capables de croître avec ou sans oxygène libre comme les *Enterobacteriaceae*.

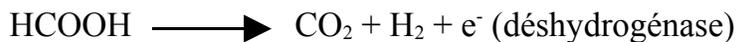
- Les micro-aérophiles : ne se produisent qu'en présence d'une concentration d'oxygène comme les bactéries lactiques. (Guiraud, 1998).

II.2.1. Méthode de Wilkin :

Cette méthode avait été élaborée par Wilkin et Boylin en 1976. Le principe de cette méthode consiste à prélever des potentiels d'électrode du milieu de culture d'*Escherichia coli* et cela en utilisant une électrode de platine par rapport à celle de référence prise en chlorure de mercure ou d'argent. Le potentiel relevé en phase finale est proportionnel au logarithme de comptage bactérien. Cette méthode est utilisée après la filtration sur membrane. (Wilkin et al., 1980). La simplicité de cette méthode réside dans le fait qu'elle ne prélève que le potentiel d'oxydoréduction en milieu de culture bactérien (pour les bactéries thermo tolérants ou coliformes fécaux à 44°C et les autres bactéries à 36°C). Les résultats obtenus sont comparés aux taux préétablis.

II.2.3. Principe :

Le métabolisme d'E. coli a fait l'objet de plusieurs études où le milieu de culture le plus simple utilisé est à base de glucose (Domach, 1984). Le glucose ou le lactose sont à la base des milieux souvent utilisés pour les bactéries coliformes contenant des carbohydrates qui constituent l'élément majeur dans les dégradations intermédiaires. L'acide formique ou l'acétyl-coenzyme-A sont formés via une pyruvate-format lyase ou une format déshydrogénase. L'acide formique est ensuite oxydé en CO₂ et H₂ selon l'équation :



L'équation d'oxydoréduction résultante est :



Lorsque l'électrode est introduite dans ce milieu, elle détermine à l'équilibre des concentrations (hydrogène H₂ réduit et oxydé H⁺) le potentiel électrique résultant. Ce potentiel obéit à la loi de Nernst :

$$V = V_0 + RT/ZF \text{ Log } [H^+] / [H]$$

Avec :
V : Potentiel électrique mesuré
V₀ : Potentiel normal d'oxydoréduction
R : Constante des gaz parfaits
T : Température absolue
Z : La valence
F : Constante de Faraday
[H⁺] / [H] : Concentration ionique

Au-delà de centaines de millivolts, le potentiel reste constant et correspond au nombre constant de bactéries existant dans le milieu.

Comme détecteur basé sur ce principe, on peut citer :

II.2.3. E. Colimètre :

Développé au sein de l'institut des recherches hydrologiques et de l'environnement en France en 1980, il consiste à prélever le potentiel électrique d'un milieu de culture bactérien après filtration sur membrane et comparer ainsi les résultats aux valeurs étalons

A côté de ses avantages en prix et réponse instantanée, cet appareil présente des inconvénients majeurs tel que l'existence d'autres bactéries dans le milieu et qui peuvent générer un métabolisme bactérien similaire à celui de l'*E.coli* notamment (*Aerobacter*, *Serratia*, *Costridium*, *Citrobacter* ...etc.). L'activité microbienne peut donner lieu à d'autres éléments chimiques électro-actifs et qui peuvent en plus de l'hydrogène modifier le potentiel d'oxydoréduction.

D'autres appareils de détection de ces bactéries se limitent seulement en la mesure du pH du milieu de culture bactérien suivant le même principe de Wilkin sauf qu'à la place du potentiel électrique. Le ph-mètre devient alors un instrument de mesure et de détection bactérienne. Les mesures effectuées sur ce principe se caractérisent aussi par les mêmes inconvénients cités ci-dessus.

II.3. pH et pH-métrie

Le pH d'une solution aqueuse dépend uniquement de la concentration en ions hydronium : H_3O^+ $\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$.

Le pH peut être mesuré par méthode potentiométrique. L'appareil, un pH-mètre, mesure la différence de potentiel entre deux électrodes: une électrode au calomel saturé (ECS) dont le potentiel ne varie pas, qui est la référence, et une électrode de verre dont le potentiel dépend de la concentration en H_3O^+ de la solution où elle est plongée. Cette différence de potentiel est donc fonction du pH du milieu.

Le pH des eaux douces varie généralement entre 4.5 et 8.5. Il peut être modifié par l'apport de substances chimiques ou suite à un déséquilibre des teneurs en carbonate due à la bio-activité ou aux sels hydrolysables etc.

L'alcalinité des eaux, conséquence directe du processus « Biodégradation » est responsable de la disparition des coliformes.

Au contraire d'autres bactéries par exemple *Aeromonas* qui peuvent se multiplier à des valeurs de pH optimales de 9 (Hazen, 1978).

II.3.1. L'effet du pH sur la croissance bactérienne :

Les bactéries sont généralement tolérantes à des variations de pH entre 6 et 9 grâce à la régulation exercée par leurs membrane cytoplasmique, à l'encontre des ions H^+ dans la culture en milieux non tamponnés. Les alcalins libérés à partir notamment des réactions de carbo-oxydation des acides aminés ou les acides libres par dégradation des carbohydrates, peuvent modifier le pH dans des conditions telles que le milieu devient toxique pour les bactéries.

Le comportement des micro-organismes par rapport au pH est variable. Le pH a une grande incidence sur l'équilibre ionique du milieu, donc sur la perméabilité cellulaire et la disponibilité des substrats sur les activités enzymatiques extracellulaires et à un bien moindre degré sur les activités intracellulaires. On appelle les acidophiles les micro-

organismes dont le pH optimum se situe au dessus de 5,5 ou qui sont capables de se développer à pH bas (Meyer et al., 2001).

Les bactéries acidogènes produisent de l'acide. La relation des micro-organismes avec le pH a des applications au niveau hygiéniques, ainsi la plupart des bactéries pathogènes sont incapables de se développer à un pH inférieur à 4,5, ce qui fait que la plupart des aliment acides sont peu dangereux (Anonyme, 2001).

Les souches bactériennes	PH	
	Min	Max
<i>Escherichia coli</i>	4.4	8.5
<i>Salmonella typhi</i>	4-4.5	8-9.6
<i>Bacillus cereus</i>	4.9	9.3
<i>Clostridium botulinum</i>	4.6	8.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	9.8

Tableau 2 : Les différentes valeurs du pH favorables à la croissance des bactéries pathogènes

II.3.2. Détecteurs à pH :

Le détecteur à pH se simplifie à la juste utilisation d'un pH-mètre. Les mesures des valeurs du pH s'effectue dans différents milieux, -Milieu de culture, eau stérilisée, eau souterraine, eau de surface, eau usée et eau potable. A chaque étape, les mesures du nombre bactérien sont prélevées par les méthodes classiques à différentes températures.

Certains détecteurs à pH utilisent un bio capteur spécifique (Dewettnick et al., 2001).

II.4. Densité optique

Lorsqu'un rayon lumineux monochromatique traverse une solution, avec une intensité initiale incidente (I_0), il parcourt une distance (X) à travers la solution, son intensité à la sortie (I) diminue. Une partie de cette lumière est absorbée par la solution selon la loi de Beer-Lambert,

$$I_0 = I e^{\mu x}$$

Où μ : Coefficient de proportionnalité appelé dans ce cas le coefficient d'atténuation.

$$\mu = C$$

Où : Coefficient d'extinction molaire

C : la concentration de la solution

En effet, le développement bactérien dans la solution produit une variation de la concentration de celle-ci. Les mesures de l'absorbance de la solution et ses variations dans différentes périodes de la croissance bactérienne sera directement proportionnelle au nombre de celles-ci.

II.5. Température

La température a des effets importants sur la croissance bactérienne en raison de la thermo-sensibilité des réactions enzymatiques du métabolisme. Chaque espèce possède des températures dites cardinales, c'est-à-dire des températures minimales, maximales et optimales de croissance (Anonyme, 2001). On distingue :

- Les psychrophiles : Dont la température optimale de croissance est située aux environs de 10°C mais peuvent se développer à 0°C.
- Les psychotropes : Plus proches des mésophiles, ayant un optimum à 25°C, mais peuvent s'adapter à 0°C.
- Les thermophiles : Se multiplient préférentiellement entre 45°C et 55°C.
- Les thermophiles extrêmes ou hyperthermophiles : Ayant une température optimale à 70°C.
- Les thermophobes : Se développent visiblement aux environs de 50°C, mais plus nettement aux températures moyennes de 30°C. (Meyer et all., 2001).

CHAPITRE 3.

I. FERMENTATION DANS DES TUBES MULTIPLES

Nous avons procédé à la détection de l'*Escherichia coli*, suivant la technique de la fermentation dans des tubes multiples.

Cette technique de fermentation multitube (FMT) demeure toutefois utile comme méthode comparative ou lorsque les conditions ne permettent pas d'utiliser la technique à filtration sur membrane (FM). Dans la méthode FMT, on ajoute de l'eau à analyser, diluée à un coefficient de 10, dans des éprouvettes contenant les milieux appropriés (5 ou 10 éprouvettes par dilution) et les on fait incubé. On peut utiliser aussi bien des milieux à base d'enzymes que des milieux de détection de la présence présumée de coliformes. Il ne devrait pas être nécessaire de diluer l'eau potable parce qu'on s'attend à ce que les valeurs de dénombrement soient faibles. En effet, comme on l'a mentionné ci-dessus, la couleur des milieux contenant l'enzyme -galactosidase propre aux coliformes change de façon spécifique pour indiquer la présence confirmée de coliformes totaux. Lorsqu'on utilise des milieux de détection de la présence présumée de coliformes, il faut procéder à des analyses supplémentaires pour confirmer la présence de coliformes totaux. On peut, par exemple, confirmer la présence de coliformes totaux au moyen d'un bouillon lactosé bilié au vert brillant. La formation de gaz dans cette éprouvette de fermentation dans les 48 heures à une température de 35° constitue une confirmation positive (Rompré et al., 2002). Les résultats sont exprimés sous forme de nombre le plus probable (NPP), quel que soit le type de milieu utilisé. Le NPP représente une estimation statistique seulement du nombre de bactéries qui, plus probablement qu'un autre, donnerait les résultats observés. Il ne s'agit pas du nombre réel de bactéries présentes.

Les densités élevées de non coliformes et la nature inhibitrice de certains des milieux utilisés pour la technique FMT peuvent avoir un effet défavorable sur les méthodes habituelles de surveillance des coliformes. Seidler et al. (1981) ont montré que la récupération des coliformes totaux par la technique FMT diminuait avec

l'augmentation de la concentration de bactéries hétérotrophes et que la réduction la plus importante survenait lorsque les concentrations de bactéries hétérotrophes dépassaient 250 ufc/ml. Le Chevallier et McFeters (1985) ont posé comme hypothèse que la concurrence dont le carbone organique est l'objet et qui constitue un facteur limitatif était à l'origine de cet effet des bactéries hétérotrophes sur la récupération des coliformes totaux. Des études comparatives réalisées avec du bouillon lactosé bilié au vert brillant et de la gélose m-Endo LES comme milieux de confirmation ont également démontré que le bouillon lactosé bilié au vert brillant pouvait inhiber la croissance de certains coliformes. Evans et al. (1981a) ont mis au point une méthode pour déceler les réactions faussement négatives. Une technique FMT modifiée a doublé la fréquence de détection des coliformes comparativement à la méthode standard pour l'eau potable. C'est pourquoi l'on recommande, dans l'édition actuelle des Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA et al., 1998), de considérer que tous les tubes présentant une turbidité, qu'il y ait ou non production de gaz, indiquent la présence présumée de coliformes.

II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Le bouillon de culture contient comme composé réactionnel du lactose, dont la dégradation en acide et un dégagement gazeux révèlent la présence de germes coliformes. Le gaz formé est recueilli en cloche de DURHAM et la formation d'acide est mise en évidence par le pourpre de bromocrésol.

II.1. Composition des milieux de culture

2.1.1. Milieu de culture bactérienne

Ce milieu utilisé est considéré comme le plus propice à la culture bactérienne, vu sa contenance des matières organiques indispensable à la croissance. Les composantes de ce milieu sont :

extrait de viande (en poudre)	10 g
peptone peptique de viande (ou bouillon ordinaire)	10 g
NaCl	5. g
Eau distillée	1000 ml

II.1.2. Milieu de dénombrement bactérien

Les composantes de ce milieu sont :

extrait de levure (autolysat de levure en poudre)	3 g
New peptone	10 g
Agar-agar	13 g
Saccharose	2 g
Eau distillée	1000 ml

II.1.3. Milieu de MacConkey

Milieu sélectif des bactéries intestinales. Les composantes de ce milieu sont :

Peptone bactériologique	20 g
Sels biliaires	1.5 g
Chlorure de sodium	5 g
Lactose	10 g
Rouge neutre	0.03 g
Cristal violet	0.001 g
Agar	13.5 g
Eau distillée	1000 ml

II.2. Les variétés d'eaux utilisées

Quatre variétés d'eaux ont été utilisées :

II.2.1 : Eau de consommation :

L'échantillon d'eau potable est pris du robinet du laboratoire de microbiologie du département de biologie (Université Ferhat Abbas de Sétif). L'eau est laissée couler cinq minutes avant la prise de l'échantillon.

II.2.2 : Eau de puit :

L'échantillon d'eau de puit est pris d'un puit au niveau d'une mosquée d'El-Eulma.

II.2.3 : Eau de surface :

L'échantillon d'eau de surface est pris du Parc d'attraction de la ville de Sétif.

II.2.4 : Eau Usée :

L'échantillon d'eau usée est pris de Oued Bouselam près de la ville de Sétif.

II.3. Matériel utilisé

II.3.1 :pH-mètre :

Le pH-mètre utilisé est celui du laboratoire de microbiologie de type Tacussel électronique. Cet appareil sert à mesurer le pH du milieu ainsi que le potentiel électrique correspondant.

II.3.2 : Conductimètre:

Un conductimètre digital équipé d'une sonde appropriée est utilisé dans les mesures de la conductivité des milieux à lecture directe.

III. MODE OPERATOIRE

Le mode comprend deux phases :

III.1. Test de croissance bactérienne

Cette phase comprend l'inoculation de 15 tubes d'essai. La suspension bactérienne *E. Coli* K₁₂ est ajoutée au milieu de culture des différents tubes d'essai. L'incubation est faite à 37°C.

Les mesures des paramètres physico-chimiques des tubes à des intervalles différentes (de 0h à 48h). Ces paramètres ont été prélevés pour 3 tubes à chaque intervalle de temps.

A chaque fois l'un des tubes est dilué en dilutions décimales. Le contenu de deux boîtes de pétri est rajouté à 0.1 ml du tube dilué. Les nouvelles boîtes sont ensuite incubées à 37°C durant 24h jusqu'à l'apparition des colonies bactériennes ce qui permet alors le comptage. L'estimation régulière du nombre de bactéries rapporté au volume de culture, c'est-à-dire de la densité de population bactérienne (exprimée en nombre de cellules par mL), permet de suivre le développement des populations (Meynell & Meynell, 1970).

Dans le dénombrement, nous avons utilisé la technique du nombre le plus probable. Cette technique consiste à se reporter aux courbes étalons pré calculées par des méthodes statistiques.

III.2. Test des échantillons d'eau stérilisée – bactérie *E.coli*:

L'échantillon d'eau stérilisée plus la bactérie de l'*E.coli* est répartie sur 15 tubes d'essai. A chaque tube 0.5 ml de la suspension bactérienne est rajoutée. Les tubes sont incubés à 37°C suivant le mode opératoire précédent tout en prélevant les variations des paramètres physico-chimiques et le nombre bactérien correspondant.

III.3. Test des échantillons des eaux à l'état brut:

Les échantillons d'eau à l'état brut sont soumis aux étapes précédentes. Les résultats ont été comme suit :

Log N	T°	pH	E.P	E.C	Origine
4,8	15	8,45	0,85	3,01	1
,	,	,	,	,	,
6,9	24	6,98	0,04	4,32	1
5,12	16	6,42	0,3	11,01	2
,	,	,	,	,	,
9,94	26	7,46	0,5	15,51	2
4,1	24	8,11	0,61	2,1	3
,	,	,	,	,	,
5,72	32	6,91	0,02	4,25	3
3,11	12	8,2	0,51	2,08	4
,	,	,	,	,	,
3,56	32	7,41	0,07	2,6	4

Tableau 3 : Le logarithme du nombre bactérien en correspondance avec les paramètres physico-chimiques de chaque variété d'eau.

Log N : logarithme de nombre bactérien

T° : Température

pH : Acidité

E.P. : Potentiel électrique

E.C. : Conductivité électrique

Origine : (1) eau de surface ; (2) eau usée ; (3) eau de puit ; (4) eau de consommation

Discussion

Les méthodes de détection bactérienne qui utilisent la variation des paramètres physico-chimiques se basent seulement sur l'un de ces paramètres séparément soit le pH, soit le potentiel électrique soit autre, le résultat s'avère non satisfaisant. Dans notre travail, nous avons essayé d'utiliser un ensemble combiné de ceux-ci en vue de plus de précision et de fiabilité.

Plus que le nombre de paramètre prélevé est important, plus on s'approche davantage à l'exactitude des résultats et à la fiabilité du système. Mais en contre partie, plus que ce nombre augmente, cela s'accompagne par la complexité d'analyse du point de vue microbiologique et des moyens à mettre en oeuvre. De plus, le traitement des données résultantes devient aussi compliqué que leur obtention.

Vu la complexité du milieu, nous pouvons constater que les résultats obtenus, se caractérisent par l'incertitude de ses valeurs. Cela s'explique par l'environnement lui-même et sa composition. Dans l'eau, en plus de sa composition chimique (éléments chimiques dissous) qui influence considérablement soit le pH, la conductivité ou le potentiel électrique, la flore bactérienne dans sa totalité cohabite dans l'eau. L'eau est en effet le milieu naturel de cette flore bactérienne.

Du métabolisme bactérien résulte des modifications ioniques du milieu, résultant de la dégradation de la matière organique. Chaque bactérie participe à cette modification chimique du milieu. Pour pouvoir isoler l'effet porté par l'une de celle-ci, n'est pas chose mince, car, certaines bactéries peuvent avoir un métabolisme similaire. Les résultats ainsi mesurés ne peuvent en aucun cas alors être attribués à l'une ou l'autre de ces bactéries.

Dans notre étude, nous avons procédé aux mesures de la variation de plusieurs paramètres et à chaque fois le nombre d'*E.coli* est mesuré suivant les méthodes classiques qui permettent l'isolement et l'identification de ces bactéries.

Avec cela, nous pouvons constater la distribution aléatoire parfois de ces valeurs. Mais avec le nombre de bactéries correspondant déjà établi, l'analyse et le traitement de ces données deviennent alors possibles.

Conclusion

Les méthodes classiques de détection bactérienne se distinguent par leur précision et leur fiabilité ce qui a leur valu leur homologation par les instances internationales de santé publique. Cependant, Ces mêmes méthodes se caractérisent par plusieurs inconvénients cités ci avant.

Des méthodes indirectes alternatives de détection sont proposées. Ces méthodes ont à leur tour des inconvénients soit de coût ou de manque de précision. Parmi ces méthode celles qui utilisent la variation de l'un des paramètres physico-chimiques accompagnant la croissance bactérienne. Malgré plusieurs efforts, à l'échelle mondiale, ces auteurs n'arrivent par encore à s'imposer dans le domaine des analyses microbiologiques et continuent à trouver une opposition farouche de la part des microbiologistes dans ce domaine.

Dans ce domaine, nous essayons de proposer une méthodologie nouvelle par sa précision, car elle utilise plusieurs paramètres physico-chimiques combinés à la fois. Cela sans doute participe amplement à l'approche de la fiabilité exigée. Mais comme les résultats obtenus des tests microbiologiques et physico-chimiques s'avèrent incertains vu la complexité de l'environnement, nous proposons alors un outil d'analyse et de traitement de ces données par logique floue et par les réseaux de neurones artificielles.

Comme la logique floue traite du domaine de l'incertain, son application s'avère alors adéquate dans ce domaine. Nous jugeons aussi que le traitement de ces données par réseaux de neurones artificiels donne des résultats satisfaisants. Comme synthèse d'analyse des données, nous proposons un système neuro-flou. La combinaison des ces deux outils permettra d'arriver à répondre à la contamination des eaux de consommation en terme qualitatif et quantitatif. Les résultats d'analyse par cet outil, seront instantanés et fiable. Pour cela nous espérons résoudre le paradoxe posé jusqu'aujourd'hui dans le domaine des analyses microbiologiques des eaux de consommation.

A la limite, nous pouvons considérer cet outil comme un système préventif jusqu'à la confirmation par les méthodes classiques.

PARTIE 2 : LOGIQUE FLOUE

CHAPITRE 1 : NOTIONS FONDAMENTALES

INTRODUCTION

Dans le cadre de la logique classique, une proposition est soit vraie, soit fausse, soit inconnue ou indéterminée par rapport à une théorie, Mais le raisonnement humain s'appuie fréquemment sur des connaissances et des données inexactes, incertaines ou bien imprécises. D'ailleurs, le progrès continu dans tous les domaines de notre vie est accompagné par une complexité croissante, des applications de plus en plus complexes et des systèmes de plus en plus sophistiqués nous obligent à chercher des théories capables de traiter ces complexités. Cet environnement a précipité le besoin de traiter de propositions plus générales et de recueillir des données toujours plus loin d'être précises et définitives à cent pour cent. Dans notre thème d'étude, les sources d'information – paramètres physico-chimiques - ne sont pas totalement fiables (et donc introduisent de l'incertitude) et par leur nature, sont génératrices d'imprécision. L'application de la théorie de la logique floue devient alors un besoin.

Dans notre cas de figure, sachant que l'eau est le milieu naturel de la flore bactérienne. Celle-ci peut contenir une infinité de genre bactérien. Chaque bactérie, durant son métabolisme de croissance engendre des variations physico-chimiques du milieu. Les variations enregistrées par nos mesures ne traduisent pas obligatoirement celle de l'*Escherichia coli*.

Les valeurs mesurées « pH du milieu, sa conductivité électrique, son potentiel électrique, dans une température donnée et le nombre de bactérie *E. coli* mesuré » sont considérées alors comme des variables floues. A chaque variable on attribue alors une fonction d'appartenance avec ses degrés d'incertitudes ou de vérités.

Dans ce travail, nous avons introduit pour la première fois l'utilisation de la logique floue pour le test et la détection bactérienne. Les ensembles flous sont utilisés pour exprimer l'imprécision et l'incertitude sur les paramètres. Nous montrerons leur

importance, leur nécessité et avant tout, leur capacité à simuler l'environnement imprécis de la bactérie recherchée.

Des règles d'inférence sont établies suivant les résultats expérimentaux entre ces variations de paramètres et le nombre bactérien déterminé suivant les méthodes classiques d'analyse.

Le système établi pour ce traitement comprend alors l'affectation des sous-ensembles flous à chaque variable sous forme d'ensemble flou comme variables d'entrée.

Ces variables d'entrée sont (pH, conductivité et potentiel électrique, température et variété d'eau testée). Le nombre bactérien mesuré est représenté comme variable de sortie. Celui-ci est également traité comme variable floue en trois sous ensembles exprimés en fonctions d'appartenance sur des intervalles « potable, peu contaminée, et très contaminée ».

Le traitement de ces données s'effectue par MATLAB 6.5. Le résultat final est sous forme d'affichage numérique en nombre bactérien et symbolique en le situant dans son intervalle de discours. Comme ce résultat prend en considération la contribution de toutes les variables d'entrée traitées suivant des règles pré-établies expérimentalement, il exprime par cela la valeur de sortie la plus fiable possible.

I. BREF HISTORIQUE

Les quelques points de repères historiques suivants permettent de situer dans le temps le développement de la logique floue et ses applications:

1965 Le Prof. L. A. Zadeh de l'Université de Berkeley (Californie) pose les bases théoriques de la logique floue.

1973 L. A. Zadeh propose d'appliquer la logique floue aux problèmes de détection.

1974 Première application de la détection par la logique floue. Suivie en 1980 par une application sur un four à ciment et en 1983 sur un épurateur d'eau.

1985 Premiers produits industriels (Japon) utilisant le principe de la logique floue appliqué à des problèmes de détection et de commande.

II. INTRODUCTION A LA THEORIE DE LA LOGIQUE FLOUE.

Un élément x , en logique classique, soit appartient à un ensemble X soit n'y appartient pas ; il n'y a pas de troisième solution. En logique floue, x peut appartenir à un ensemble flou avec un degré d'appartenance égal à 0.8 par exemple. Cette dernière idée est vraiment importante parce qu'on définit un intervalle classique L de réels par ses deux extrémités, disons $L = [a_b]$, mais le réel qui est exactement supérieur à b n'appartient pas à L ; on peut alors se demander si cette stricte détermination des extrémités n'entraîne pas le risque de perdre des informations ?

La logique floue traite, l'imprécis et l'incertain, qui sont généralement utilisés sans distinction, décrivent des connaissances bien différentes. Le qualificatif 'incertain' s'applique à des éléments de connaissance dont la valeur de vérité n'est pas exactement connue, elle est connue avec plus ou moins de précision comme dans l'exemple suivant, le pH résultant dans le métabolisme bactérien est celui de la bactérie *Escherichia coli*. Par contre, le terme 'imprécis' s'applique à des éléments de connaissance dont le contenu est imprécis, « le pH correspondant à l'*E.coli* est entre 6 et 8. En fait, quand on dit que le pH correspondant à ce type de bactérie est d'environ 7, la mesure se situe autour de 7 de façon floue. D'un point de vue pratique, un tel élément d'information peut être caractérisé

par sa valeur et la confiance donnée à cette valeur. Dans ce contexte, on peut différencier clairement les concepts d'imprécis et d'incertain, l'imprécis concerne le contenu de l'information (la valeur) tandis que l'incertain est relatif à sa vérité (la confiance).

Dans la langue naturelle, il y a beaucoup de termes qui renvoient à l'imprécis, tel que 'vague' ou 'général' ou 'ambigu'. Le caractère vague ou flou d'une information réside dans l'absence de contour bien délimité de l'ensemble des valeurs affectées aux objets qu'elle décrit. Alors, il y a des connaissances imprécises et floues et des connaissances imprécises mais non floues (Dubois, 1987).

Zadeh en 1977 offre un modèle de quantification du jugement qui permet aussi une généralisation canonique du calcul d'erreurs (Dubois, 1987). En fait, l'origine de cette théorie date de la publication par L. Zadeh d'un article sur un nouveau type d'ensembles, les ensembles flous (Zadeh, 1965), et depuis, cette théorie fait l'objet de beaucoup de discussions. Récemment, elle a pris beaucoup d'importance et a trouvé plusieurs champs d'application.

III. PRINCIPES DE LA LOGIQUE FLOUE.

La logique floue est une branche des mathématiques et, à ce titre, toute une série de notions fondamentales sont développées. Ces notions permettent de justifier et de démontrer certains principes de base. Dans ce qui suit, on ne retiendra que les éléments indispensables à la compréhension du principe de la détection par la logique floue. Ces éléments sont :

- 1• les variables floues
- 2• les règles d'inférences

III.1. Variables floues

Contrairement aux variables binaires qui sont définies par les deux états « vrai » ou « faux », les variables floues présentent toute une gradation entre la valeur « vrai » et la valeur « faux ».

Si l'on désire classer le pH du milieu par degré en définissant la catégorie des milieux acides en dessous de 7, la catégorie des neutres par des valeurs comprises entre 6

et 8 et la catégorie des milieux alcalins supérieure à 8, la logique binaire donne la représentation de la -figure 3- pour les trois variables «acide», «neutre» et «alcalin»

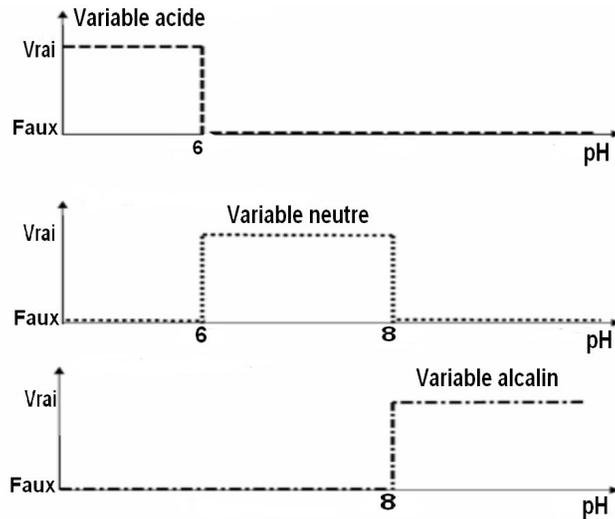


Figure3 : Représentation des variables suivant la logique classique

Cette fonction peut être définie par :

$$\text{singleton}(x) = \begin{cases} 1 & \text{si } x = x_0 \\ 0 & \text{si } x \neq x_0 \end{cases}$$

Deux remarques s'imposent au sujet de cette représentation :

D'une part, on préfère représenter l'état de la variable à l'aide de son degré de vérité en associant la valeur 1 (degré de vérité de 100%) à la valeur « vrai » et le degré de vérité nul à la valeur « faux ».

D'autre part, on constate que cette façon de faire est très éloignée de ce que fait l'être humain lorsqu'il résout ce genre de problème. En effet, l'homme ne fait pas naturellement une distinction franche entre « acide » et « neutre » par exemple. Il utilise des expressions du genre « plutôt acide » pour qualifier une acidité légèrement inférieure à un degré de 6 et « plutôt neutre » pour un degré légèrement supérieure à cette valeur.

En conclusion, la logique binaire présente l'avantage de la simplicité mais est assez éloignée de la logique utilisée naturellement par l'être humain.

Si l'on représente le même problème à l'aide de la logique floue, les variables ne sont plus binaires mais présentent une infinité de valeurs possible entre le « acide » et le « neutre » (figure 4).

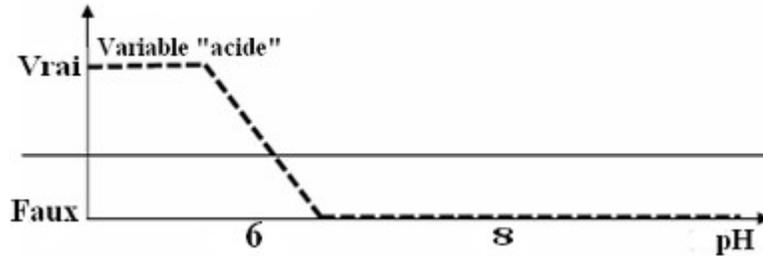


Figure 4 : représentation des variables suivant la logique floue

On constate que cette représentation est beaucoup plus proche de la façon dont l'être humain raisonne puisqu'elle permet de faire intervenir des notions telles que «plutôt acide», «assez neutre»... Cet avantage se fait, évidemment, au détriment de la simplicité de la représentation.

Les grandeurs utilisées dans un système de détection sont générées par des capteurs. Il est nécessaire de convertir ces grandeurs en variables floues.

III.2. Intervalles flous

Ces intervalles définissent le nombre de variables floues associées à une grandeur d'entrée. Dans le cas de la détection, trois intervalles s'avèrent suffisants.

Dans ce cas, on fait intervenir trois intervalles flous : «acide», «neutre» et «alcalin» à titre d'exemple. En outre chaque intervalle fait référence à une fonction d'appartenance qui permet de définir le degré de vérité de la variable floue correspondante en fonction de la nature de la solution et donc son degré d'acidité.

Le même raisonnement est valable pour la grandeur de sortie qui peut être définie à l'aide d'un certain nombre d'intervalles flous et diverses fonctions d'appartenance. Toutefois, en pratique, cette définition peut sembler assez lourde et le concepteur (l'expert) peut choisir d'associer une seule valeur à chaque intervalle flou. Par exemple, pour une grandeur à trois intervalles flous, on peut définir les valeurs suivantes (tableau 4) qui définit des fonctions d'appartenances en forme de raies comme illustré (figure 5).

Ceci peut être interprété par le noyau de la fonction d'appartenance qui est un sous-ensemble flou A , que l'on note $noy(A)$, est l'ensemble des éléments de U pour lesquels la fonction d'appartenance soit égale à 1. C'est-à-dire, c'est l'ensemble des points où l'appartenance à A est absolue :

$$noy(A) = \{x \in U / \mu_A(x) = 1\}$$

Intervalle	Valeur en % du maximum
Acide	3
Neutre	7
Alcalin	11

Tableau 4 : Représentation des maxima des intervalles flous

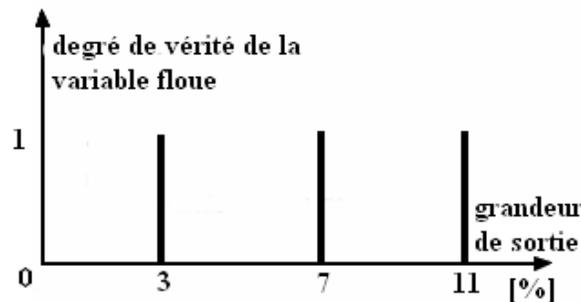


Figure 5 : Représentation des maxima des fonctions d'appartenance.

III.3. Fonctions d'appartenance

Tout sous-ensemble flou A de U peut être défini par une fonction mathématique particulière qui donne une pondération à chaque élément $x \in U$. Cette fonction est appelée fonction d'appartenance (FA), elle est notée par $\mu_A(x)$:

$$\mu_A : x \in U \rightarrow \mu_A(x) \in [0, 1]$$

La valeur prise par cette fonction désignée par facteur d'appartenance (degré d'appartenance), traduit la mesure d'appartenance des éléments génériques $x \in U$ dans le sous-ensemble flou A

Il s'agit d'établir une relation entre le degré de vérité de la variable floue et la grandeur d'entrée correspondante (figure 6). On parle de fuzzification

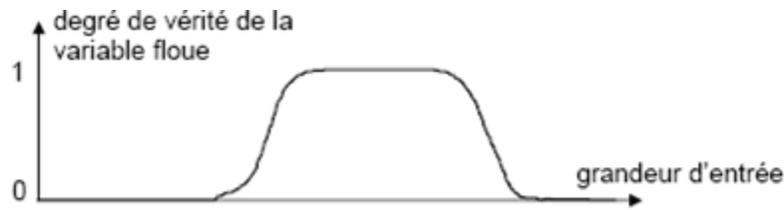


Figure 6 : représentation d'une fonction d'appartenance

On peut évidemment choisir n'importe quelle forme pour les fonctions d'appartenance. Cependant, en ce qui nous concerne, nous avons utilisé les formes trapézoïdales. On peut définir une fonction d'appartenance trapézoïdale à l'aide de paramètres réels. On peut définir une fonction d'appartenance trapézoïdale à l'aide de paramètres réels a, b, c, d par :

$$f(x) = \begin{cases} 0 & \text{si } x \leq a - c \text{ ou si } x \geq b + d \\ \frac{x}{c} + \left(1 - \frac{a}{c}\right) & \text{si } a - c < x < a \\ \frac{-x}{d} + \left(1 + \frac{b}{d}\right) & \text{si } b < x < b + d \end{cases}$$

Si $a = b$, la courbe est triangulaire.

Il n'existe pas de règles générales pour le choix entre ces formes de représentation. La représentation par trapèze est facile à construire et à manipuler, et elle évite toute ambiguïté avec la représentation de la densité de probabilité de distributions statistiques. Nous pensons donc qu'il est préférable d'utiliser une présentation sous forme de trapézoïde pour la représentation d'un sous-ensemble flou.

III.4. Le degré d'appartenance

Quand on dit que l'échantillon d'eau à tester est une eau de surface avec une probabilité de 0.5 ou cette eau va s'avérer contaminée avec une probabilité de 0,4.

Quand on lit l'étiquette sur le flacon d'eau et il se trouve que c'est mentionné eau de surface, alors la probabilité sera 1, sinon elle sera 0. Mais dans le cas contraire,

l'affirmation sera plus difficile, est ce que la présence d'un petit nombre de bactéries sera suffisant pour dire que l'eau est polluée ? Ou bien quel nombre de bactéries est nécessaire pour la contamination ? On peut dire que : la présence d'une seule bactérie signifie qu'il que l'eau est contaminée avec 0.0000...01 de degré d'appartenance, et 10^7 bactéries signifie la contamination avec 0.89 de degré d'appartenance (Shen, 1993).

Le degré d'appartenance est un concept crucial dans la logique floue ; toutes les structures de cette logique seront définies à partir de ce concept.

L'exemple suivant (figure 7) montre ce qu'on veut dire, si on définit l'intervalle définissant la pollution de l'eau en nombre de bactérie/ml «contaminée = $[10^5 \ 10^{10}]$ », alors comment peut-on évaluer le nombre 10^5-1 ? On sait seulement qu'il n'est pas contaminée! Maintenant si on ajoute un nouvel intervalle « potable $[10^3 \ 10^5-1]$ » alors 10^5-1 sera potable mais pas contaminée, bien qu'il y ait une petite différence (figure 7.b).

En logique floue (figure 7.a) une représentation par des intervalles flous est montrée, 10^5-1 sera considéré comme potable avec un degré d'appartenance égal à 1 et contaminée avec un degré d'appartenance égale à 0.9 figure (7.c). Les intervalles flous sont plus riches en informations que les intervalles classiques. Pour l'instant, un ensemble flou E sera défini sur un domaine P par la donnée d'une fonction μ_A à valeurs dans $[0 \ 1]$.

$\mu_A(p)$ est le degré d'appartenance de $p \in P$ à E. Prenons l'exemple du domaine P des pollutions possibles de l'eau. La proposition « L'eau est contaminée » contient le prédicat imprécis contaminé.

Sur la figure 6.c, chaque point représente le degré d'appartenance à l'ensemble flou contaminée ou à l'ensemble flou potable. Notons que cette définition des ensembles correspond à ce qu'on appelle « distribution des possibilités ». Ce concept, qui est dérivé de la théorie des possibilités qui constitue la base théorique de la logique floue

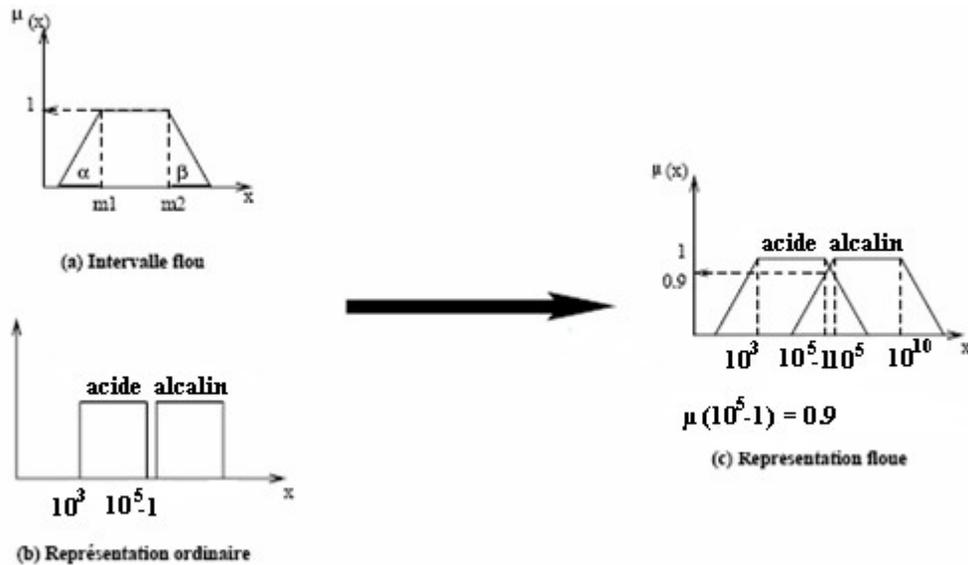


Figure 7: Le degré d'appartenance et les intervalles flous

III.5. Sous-ensembles flous :

III.5.1. Concept de base :

La notion des ensembles flous est une généralisation de la théorie des ensembles classiques. Ces derniers ayant une limite stricte ; prenons par exemple, un ensemble A défini sur un référentiel U, avec :

$$A = \{x / x > 10\}$$

Le point $x=10$ est une limite claire de l'ensemble A. selon la théorie classique un élément x appartient ou n'appartient pas à un ensemble. ceci nous ramène à conclure que :

$$\begin{cases} A \cup \bar{A} = U & \text{(La loi de tiers exclu)} \\ A \cap \bar{A} = \emptyset & \text{(La loi de non-contradiction)} \end{cases}$$

Par contre, un ensemble flou, est un ensemble à frontière ambiguë, la notion d'appartenance est graduelle. Cela veut dire que, l'appartenance d'un élément x à un ensemble A défini sur un référentiel U, sera décrite par une fonction caractéristique partielle $\mu_A(x)$, tel que $\mu_A \in [0, 1]$.

alors

$$\begin{cases} A \cup \bar{A} \text{ n'est pas nécessairement } =U \\ A \cap \bar{A} \text{ n'est pas nécessairement } =\phi \end{cases}$$

D'autre part, les probabilités comme les ensembles flous décrivent la notion d'incertitude à l'aide de nombres compris entre 0 et 1. mais du point de vue mathématique, ils sont différents :

Pour les probabilités :

pour les ensembles flous :

$$\begin{cases} \Pr(A \cup \bar{A}) = \Pr(U) = 1 \\ \Pr(A \cap \bar{A}) = \Pr(\phi) = 0 \end{cases} \quad \begin{cases} \Pr(A \cup \bar{A}) \text{ n'est pas nécessairement } = \Pr(U) \\ \Pr(A \cap \bar{A}) \text{ n'est pas nécessairement } = \Pr(\phi) \end{cases}$$

En plus, la théorie des ensembles flous fournit un cadre formel pour la prise en charge de l'ambiguïté des événements alors que les probabilités décrivent le doute à l'occurrence des événements.

□ Définitions :

Etant donné un ensemble de référence U , $U = \{x\}$, dit univers de discours qui peut être fini ou infini, où les x sont les éléments génériques de U . Un sous-ensemble A de U est défini par l'ensemble des paires ordonnées :

$$A = \left\{ x, \mu_A(x) / x \in U, \mu_A \in]0, 1] \right\}$$

Où $\mu_A(x)$ est la fonction d'appartenance qui associe à chaque élément x de U un degré d'appartenance dans l'intervalle des nombres réels $[0,1]$. tel que :

- $\mu_A(x) = 0$ La non-appartenance est absolue.
- $\mu_A(x) \in]0, 1[$ L'appartenance est partielle.
- $\mu_A(x) = 1$ L'appartenance est absolue.

Ainsi, suivant que l'univers de discours peut contenir des valeurs continues ou discrètes, un sous-ensemble flou A de U est aussi souvent représenté par la notation suivante :

$$A = \begin{cases} \int_{x \in U} \mu_A(x) / x & \text{si } U \text{ est continu} \\ \sum_{x \in U} \mu_A(x) / x & \text{si } U \text{ est discret} \end{cases}$$

Où, l'intégrale et la somme désignent l'union de tous les éléments $x \in U$ avec leurs fonctions d'appartenances.

III.5.2. Sous-ensemble flou et Fonction d'appartenance :

Tout sous-ensemble flou A de U peut être défini par une fonction mathématique particulière qui donne une pondération à chaque élément $x \in U$. Cette fonction est appelée fonction d'appartenance (FA), elle est notée par $\mu_A(x)$:

$$\mu_A : x \in U \rightarrow \mu_A(x) \in [0, 1]$$

La valeur prise par cette fonction désignée par facteur d'appartenance (degré d'appartenance), traduit la mesure d'appartenance des éléments génériques $x \in U$ dans le sous-ensemble flou A. Généralement, elle prend des formes arbitraires, mais il est plus convenable de choisir des fonctions convexes. Autrement dit, le concepteur doit choisir des formes tel qu'il existe au moins un point de degré maximal, et que ce dernier décroît lorsqu'on s'éloigne de ce point.

Les propriétés les plus utiles pour décrire d'un sous-ensemble flou A de U sont :

III.5.2.1. Le support :

le support d'un sous-ensemble flou A, que l'on note $\text{sup}(A)$, est l'ensemble des éléments qui appartiennent à l'univers de discours U tels que la fonction d'appartenance soit non nulle sur cet intervalle, il est défini par :

$$\text{sup}(A) = \{x \in U / \mu_A(x) \neq 0\}$$

III.5.2.2. La hauteur :

la hauteur d'un sous-ensemble flou A de U, nommé $h(A)$, est la valeur maximale prise par la fonction d'appartenance μ_A sur l'ensemble U, elle est définie comme suite :

$$h(A) = \sup_{x \in U} (\mu_A(x))$$

III.5.2.3. Le noyau :

le noyau d'un sous-ensemble flou A, que l'on note $\text{noy}(A)$, est l'ensemble des éléments de U pour lesquels la fonction d'appartenance soit égale à 1. c'est-à-dire, c'est l'ensemble des points où l'appartenance à A est absolue :

$$\text{noy}(A) = \{x \in U / \mu_A(x) = 1\}$$

III.5.2.4. Le point de croisement :

le point de croisement d'un sous-ensemble flou A, que l'on note $C(A)$, est l'ensemble des éléments de U pour lesquels la fonction d'appartenance vaut 0.5, il est exprimé comme suite :

$$C(A) = \{x \in U / \mu_A(x) = 0.5\}$$

III.5.2.5. -coupe :

On appelle -coupe d'un sous-ensemble flou A de U, l'ensemble des éléments de U pour lesquels la fonction d'appartenance est supérieure ou égale à α , $\alpha \in [0, 1]$:

$$A_\alpha = \{x \in U / \mu_A(x) \geq \alpha\}, \quad \text{avec } X_{A_\alpha} = 1 \text{ si } \mu_A(x) > \alpha$$

III.5.2.6. La convexité :

On dit qu'un sous-ensemble flou A de U est convexe si et seulement si sa fonction d'appartenance est régulière. D'une manière plus formelle, cet sous-ensemble doit satisfaire l'inégalité suivante :

III.6. Opération sur les sous ensembles flous :

Similairement à la théorie des ensembles classiques, toutes les opérations sont applicables aux sous-ensembles flous en utilisant les fonctions d'appartenances, sauf les lois de non-contradiction et du tiers exclus. Ces opérations sont définies d'une manière à respecter un certain nombre de propriétés. On donne ici que les opérations de base. Pour ce faire, on considère trois sous-ensembles flous A,B, et C définis sur l'univers de discours U par les fonctions d'appartenances μ_A , μ_B , et μ_C , respectivement.

III.6.1. Définitions :

□ **L'égalité :**

A et B sont dits égaux, si leurs fonctions d'appartenances prennent la même valeur pour tout élément x de U :

$$\forall x \in U \quad \mu_A(x) = \mu_B(x)$$

□ **L'inclusion :**

Le sous-ensemble A est dit inclus dans B, que l'on note $A \subseteq B$, si tout élément de U qui appartient à A appartient aussi à B. ceci est traduit par :

$$\forall x \in U \quad \mu_A(x) \leq \mu_B(x)$$

□ **L'intersection :**

L'intersection de A et B, que l'on note $A \cap B$, est le sous-ensemble C, tel que :

$$C = A \cap B = \{x \in U / x \in A \wedge x \in B\}$$

Avec, \wedge représente l'opérateur ET. Le degré d'appartenance de chaque élément x de U au sous-ensemble C est le petit des degrés avec lesquels appartient à A et B :

$$\forall x \in U \quad \mu_C(x) = \mu_{A \cap B}(x) = \min(\mu_A(x), \mu_B(x))$$

Où, min désigne l'opérateur de minimisation.

□ **L'union :**

L'union de A et B, nommé $A \cup B$, est le sous-ensemble C, tel que :

$$C = A \cup B = \{x \in U / x \in A \vee x \in B\}$$

Avec, \vee représente l'opérateur OU. Le degré d'appartenance de chaque élément x de U au sous-ensemble C est le plus grand des deux degrés μ_A et μ_B :

$$\forall x \in U \quad \mu_C(x) = \mu_{A \cup B}(x) = \max(\mu_A(x), \mu_B(x))$$

Où, max désigne l'opérateur de maximisation.

□ **Le complément :**

Le Complément de A, que l'on note A^c ou \bar{A} , est le sous-ensemble C, tel que :

$$C = \bar{A} = \{x \in U / x \notin A\}$$

la fonction d'appartenance de \bar{A} est donnée par :

$$\forall x \in U \quad \mu_{\bar{A}}(x) = 1 - \mu_A(x)$$

□ **Le produit cartésien :**

Soit les sous-ensembles flous A_1, A_2, \dots, A_n définis respectivement dans les univers de discours U_1, U_2, \dots, U_n . Le produit cartésien de A_1, A_2, \dots, A_n que l'on note $A = A_1 \times A_2 \times \dots \times A_n$ est le sous-ensemble flou défini dans l'univers de discours $U = U_1 \times U_2 \times \dots \times U_n$ par la fonction d'appartenance suivante :

$$\forall x \in (x_1, x_2, \dots, x_n) \in U \quad \mu_A(x) = \min(\mu_{A_1}(x_1), \mu_{A_2}(x_2), \dots, \mu_{A_n}(x_n))$$

III.6.2. Propriétés:

Associativité et commutativité de l'intersection et l'union .

$$A \cap (B \cap C) = (A \cap B) \cap C, \quad A \cup (B \cup C) = (A \cup B) \cup C,$$

$$(A \cap B) \cup (A \cap C) = A \cap (B \cup C), \quad (A \cup B) \cap (A \cup C) = A \cup (B \cap C),$$

$$|A \cup B| = |A \cap B| + |A \cup B|, \quad A \cup B \supseteq A \supseteq A \cap B,$$

loi de Morgan : $(A \cap B)^c = A^c \cup B^c$, $(A \cup B)^c = A^c \cap B^c$,

III.7. Règles d'inférences

Une implication floue entre deux propositions élémentaires est une relation R entre les deux ensembles U_1 et U_2 , quantifiant le degré de vérité de la proposition :

$$si (x \text{ est } A) \text{ alors } (y \text{ est } B)$$

Où, A et B sont des sous-ensembles de U_1 et U_2 respectivement. En logique floue, il existe plusieurs manières pour générer les implications floues, les plus souvent utilisées sont celles de Mamdani et Larsen.

On appelle règles d'inférence l'ensemble des différentes règles reliant les variables floues d'entrée d'un système aux variables floues de sortie de ce système. Elles doivent être définies par le concepteur de système de détection en fonction de son expérience (rôle du laborantin dans notre cas suivant les résultats d'analyses effectués). Ces règles se présentent sous la forme :

Si condition 1 **et/ou** condition 2 **(et) alors** action sur les sorties

Une règle floue est une composition de deux (ou plusieurs) variables de la forme. La partie « SI » est souvent appelée l'antécédent ou la prémisse, alors que la partie « ALORS » est dite conclusion ou conséquence. En raisonnement approximatif le problème réside dans la détermination de la fonction d'appartenance de la conséquence. Cependant, il existe plusieurs types de règles d'inférences, néanmoins, les plus importantes sont :

- Règles basées sur la représentation explicite de la composition de deux propositions floues en utilisant les relations floues, que l'on appelle règles conditionnelles.
- Le modus ponens généralisé : C'est le plus souvent utilisé et spécialement dans les contrôleurs flous. Il a la forme suivante :

$$\begin{array}{l} \text{r\`egle: } si (x \text{ est } A) \text{ alors } (y \text{ est } B) \\ \text{fait: } (x \text{ est } A) \\ \hline \text{conclusion: } (y \text{ est } B) \end{array}$$

Où, A et B sont des sous-ensembles flous définis dans les référentiels U_1 et U_2 respectivement. Ce genre de règle permet de représenter d'une manière implicite la relation floue $B \leftarrow (A \Rightarrow B) \circ B$.

- Le modus tollens généralisé : il exprime comme suit :

$$\begin{array}{l} \text{r\`egle: } si (x \text{ est } A) \text{ alors } (y \text{ est } B) \\ \text{fait: } (x \text{ est } A) \\ \hline \text{conclusion: } (x \text{ est } A) \end{array}$$

Il joue le même rôle que le modus ponens, mais dans ce cas il permet de déduire l'antécédent au lieu la conséquence. Selon leur structure spéciale, il s'avère très utile dans les systèmes experts et surtout dans le diagnostic médical.

III.7.1. Combinaison des règles

L'ensemble des règles se présente sous la forme d'une énumération du type :

- Si** condition 1 **et** condition 2 **(et) alors** action sur les sorties
- Si** condition 3 **et** condition 4 **(et) alors** action sur les sorties
- Si** condition 5 **et** condition 6 **(et) alors** action sur les sorties
- ...

Ces règles permettent de relier les variables floues d'entrée aux variables floues de sortie à l'aide de différents opérateurs. Elles doivent être définies par le concepteur de système de détection en fonction des résultats de mesures effectuées par le laborantin.

Dans notre système d'étude, on peut citer l'exemple :

Lorsque l'on désire mesurer la contamination de l'eau en fonction de l'acidité résultante de la croissance bactérienne, un des problèmes qui se présente est de savoir si cette acidité est due à l'*Escherichia coli* ou à d'autres bactéries présentes dans l'eau. La variable d'entrée du système de la contamination est l'acidité de l'eau mesurée à l'aide

des capteurs de pH. La variable de sortie est le nombre bactérien mesuré par les méthodes classiques de comptage, vient ensuite l'établissement des règles du genre :

- **Si** l'acidité de l'eau est très forte **alors** l'eau est très contaminée
- **Si** l'acidité de l'eau est un peu forte **alors** l'eau est peu contaminée
- **Si** l'eau est neutre **alors** l'eau est potable
- **Si** l'eau présente une alcalinité **alors** l'eau est stérile.
- etc...

III.8. Opérateurs

Les règles d'inférence font appel aux opérateurs **et**, **ou** et **non**, qui s'appliquent aux variables floues. Dans le cas de la logique binaire ces opérateurs sont définis de façon simple et univoque. Dans le cas de la logique floue, la définition de ces opérateurs n'est plus univoque et on utilise le plus souvent les relations présentées dans le tableau 6.

Opérateur	Opération sur le degré de vérité des variables
et	minimum
	produit
ou	maximum
	valeur moyenne
non	complément à 1

Tableau 6 : représentation des opérateurs flous

Les opérations **minimum** et **maximum** présentent l'avantage de la simplicité lors du calcul, par contre, elles privilégient l'une des deux variables.

III.9. Raisonnement par inférence composée

Contrairement au raisonnement monotone, le raisonnement par inférence permet de raisonner à l'aide de plusieurs règles composées, et des variables linguistiques expliquent les états des systèmes, nous pouvons raisonner et évaluer les résultats. En effet toutes les

règles floues sont évaluées en parallèle. Pour effectuer ce type de raisonnement, on utilise «la méthode du Min-Max». (Cox, 1990).

III.9.1. La méthode d'inférence Min-Max

La méthode Min-Max se décompose en deux étapes: pour chaque règle appliquée, le minimum de degré d'appartenance est retenu dans le résultat. Par contre, si plusieurs règles donnent un même résultat, le maximum de ces résultats est retenu. (Cox, 1994). Ces opérations sont expliquées par :

$$mrésultat = \text{Min}(mx1, mx2)$$

$$mrésultat\ finale = \text{Max}(mrésultat1, mrésultat2, \dots mrésultat\ n) \text{ (Figure 8).}$$

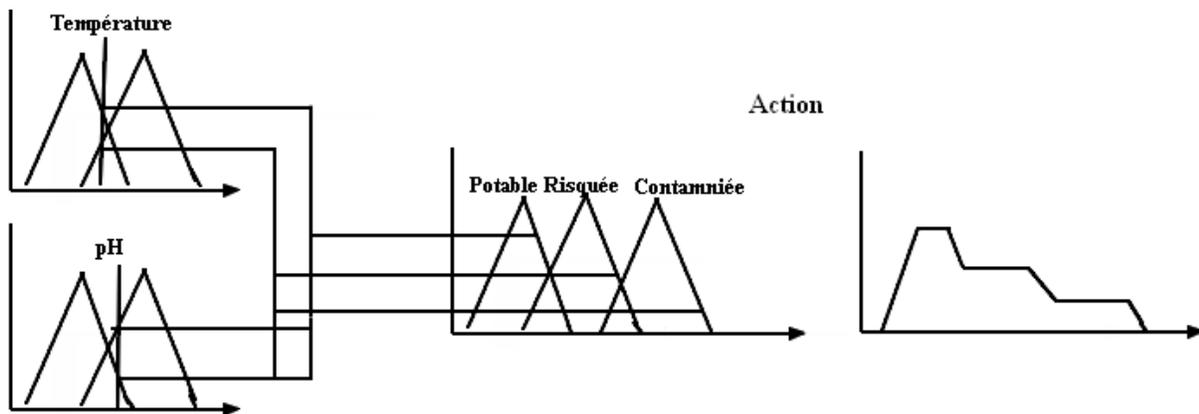


Figure 8 : illustration des raisonnement par mini-max

L'opérateur choisi dans notre cas d'étude est l'opérateur [et] réalisé par le calcul du minimum et représente l'intersection :

$$A \text{ et } B = \{x / x \in A \text{ et } x \in B\}$$

Représenté par la fonction :

$$\mu_{A \text{ et } B}(x) = \min(\mu_A(x), \mu_B(x))$$

III.10. Fuzzification :

La fuzzification est une étape clé dans tout système flou, permet la transformation des grandeurs réelles en variables linguistiques en respectant un certain nombre de règles pour permettre une efficacité lors de la mise en œuvre dans l'engin d'inférence. A savoir :

- Pour chaque terme linguistique, le noyau est non nul.
- Les termes linguistiques de chaque grandeur d'entrée doivent respecter un certain ordre.
- Le chevauchement entre les fonctions d'appartenance ne doit pas dépasser une certaine limite, en générale entre 20% et 50%.

III.11. Défuzzyfication

Un système flou multi-entrées multi-sorties (MIMO), avec n entrées et m sorties peut être représenté par une collection de m systèmes flous multi-entrées mono-sortie (MISO) comme le montre la figure 9. Où chaque règle a la forme suivante :

(dans notre cas $m=1$)

$$R^l: \text{si } \left(x_1 \text{ est } A_1^{j_l} \right) \text{ et } \dots \text{ et } \left(x_n \text{ est } A_n^{j_l} \right) \text{ alors } \left(y_j \text{ est } B^{j_l} \right), l = 1, 2, \dots, M$$

Les valeurs obtenues lors de la combinaison des règles appliquées aux intervalles flous de la variable de sortie définissent une fonction d'appartenance. Il s'agit de convertir cette information en une grandeur physique. Après un raisonnement et la composition d'un résultat flou, nous sommes souvent obligés de déduire une valeur unique des résultats à des fins d'interprétation ou de comparaison. Cette valeur unique peut être obtenue à l'aide des méthodes de décomposition des nombres flous appelées défuzzyfication. La défuzzyfication est la dernière étape du raisonnement flou. (Cox, 1990).

Les différentes règles d'inférence établies produisent chacune une valeur. Ces différentes valeurs doivent être combinées afin d'obtenir la variable de sortie. Ensuite la variable floue de sortie doit être convertie en une grandeur de mesure (affichage numérique du nombre bactérien) afin de permettre de prendre la décision concernant la contamination de l'eau. On appelle cette dernière étape la défuzzification.

III.11.1. Défuzzification par centre de gravité :

Plusieurs façons de faire peuvent être envisagées mais, dans notre cas, nous avons utilisé la défuzzification par calcul du centre de gravité. La défuzzification consiste à trouver le point d'équilibre de la région de solutions floues en utilisant l'expression :

$$y = \frac{\sum_{i=1}^n y_i \cdot \mu(y_i)}{\sum_{i=1}^n \mu(y_i)}$$

Où, n représente le nombre de niveaux de quantification de la sortie.

Il s'agit de calculer le centre de gravité de la fonction d'appartenance de la variable de sortie (figure 9). Le calcul du centre de gravité permet bien d'obtenir une seule valeur pour la grandeur de sortie.

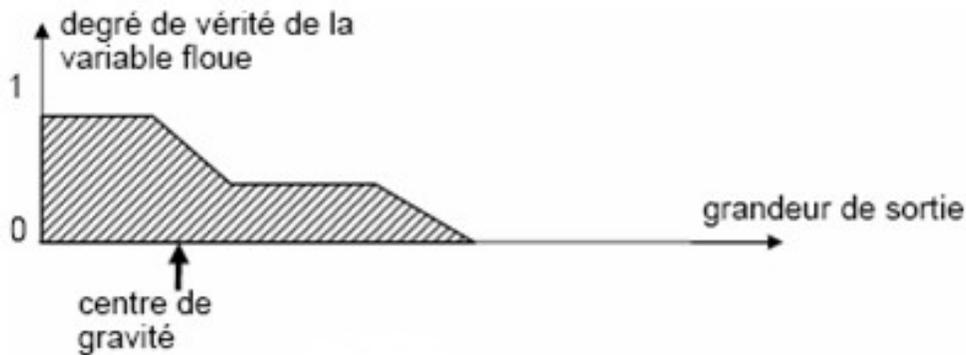


Figure 9 : Représentation graphique de la méthode du centre de gravité

CHAPITRE 2 : APPLICATION A LA DETECTION BACTERIENNE.

I. STRUCTURE DE L’AFFICHEUR

Le problème de la détection peut être résolu par la logique floue en utilisant la structure suivante illustrée à la figure 10.

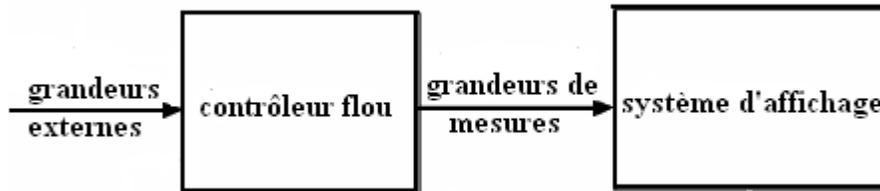


Figure 10: Représentation d'un afficheur flou

La structure de l’afficheur flou est illustrée à la figure 11. Les paramètres d’entrée sont représentés sous forme de fonctions d’appartenance.

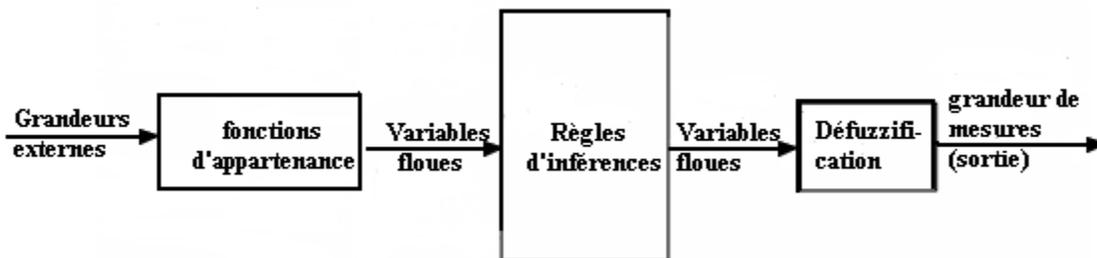


Figure 11 : Représentation structurelle d'un afficheur flou

II. DESCRIPTION DU PROBLEME

On souhaite concevoir un détecteur de bactéries d’*E.coli* dans l’eau à l’aide d’un enregistreur flou. On dispose de quatre sondes de température, de pH, de conductivité électrique et de potentiel électrique. La nature de l’eau à tester est considérée comme une variable non floue. Sur la base de ces mesures et en faisant appel aux règles d’inférence, le détecteur flou doit enregistrer la présence ou l’absence de ces bactéries en terme numérique et symbolique pour la prise de décision concernant la contamination de l’eau.

La structure du schéma bloc de notre détecteur (Fig. 12) se compose de quatre entrées floues, Deux parties principales constituent la base des données qui renferme les données spécifiques des fonctions d’appartenance des variables d’entrée et de sortie. Quant à la base des règles elle renferme les règles qui permettent de définir la relation

entre les prémisses et la conséquence en fonction des variables floues résultants de la fuzzification.

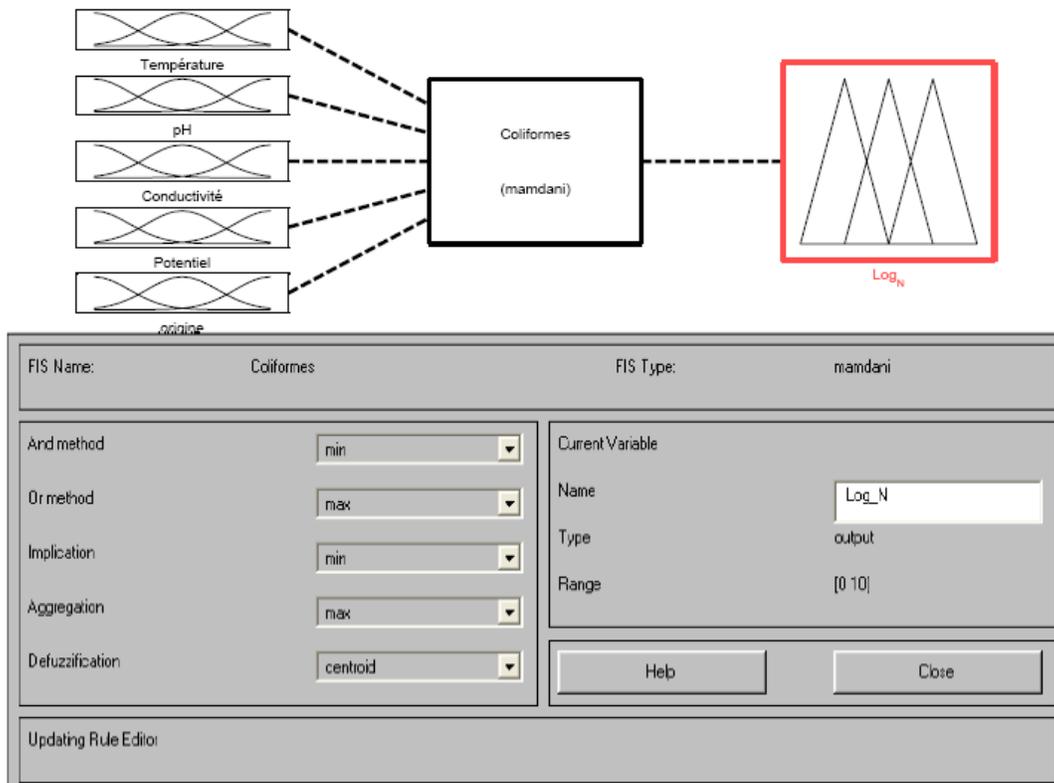


Figure 12 : Structure du système flou avec cinq entrées et une sortie

III. FUZZIFICATION DES VARIABLES FLOUES

III.1. Fuzzification de la température

On choisit trois intervalles flous et des fonctions d'appartenance de type trapézoïdales en définissant la température « froide » comme correspondant à une température inférieure à 30 °C ; « tiède » comme étant une température comprise entre 25°C et 45°C et «chaude» comme étant une température supérieure à 40°C (figure 13). Sachant que la température optimale pour la fermentation du lactose des coliformes totaux est de 37° et 44°C à 44.5°C pour les coliformes fécaux.

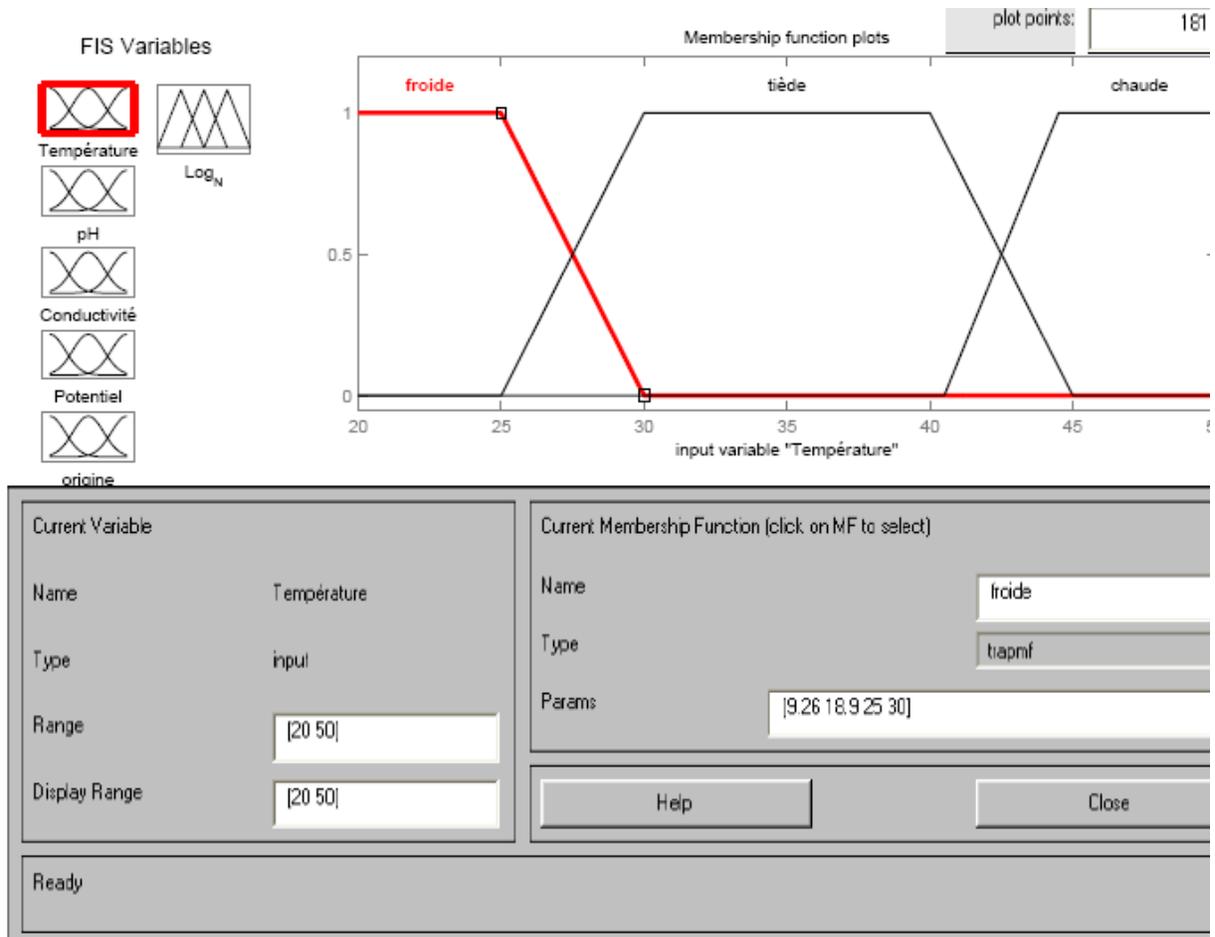


Figure 13 : Fuzzification de la température en trois intervalles flous

III.2. Fuzzification de l'acidité de la solution

On choisit trois intervalles flous et des fonctions d'appartenance de type trapézoïdales en définissant la solution « acide » comme correspondant à un degré inférieure à 6 ; « neutre » comme étant un degré compris entre 5 et 8 et « alcalin » comme étant un degré supérieure à 7 (figure 14). Sachant que l'acidité optimale produite par le métabolisme bactérien des coliformes est comprise entre 3 et 6.

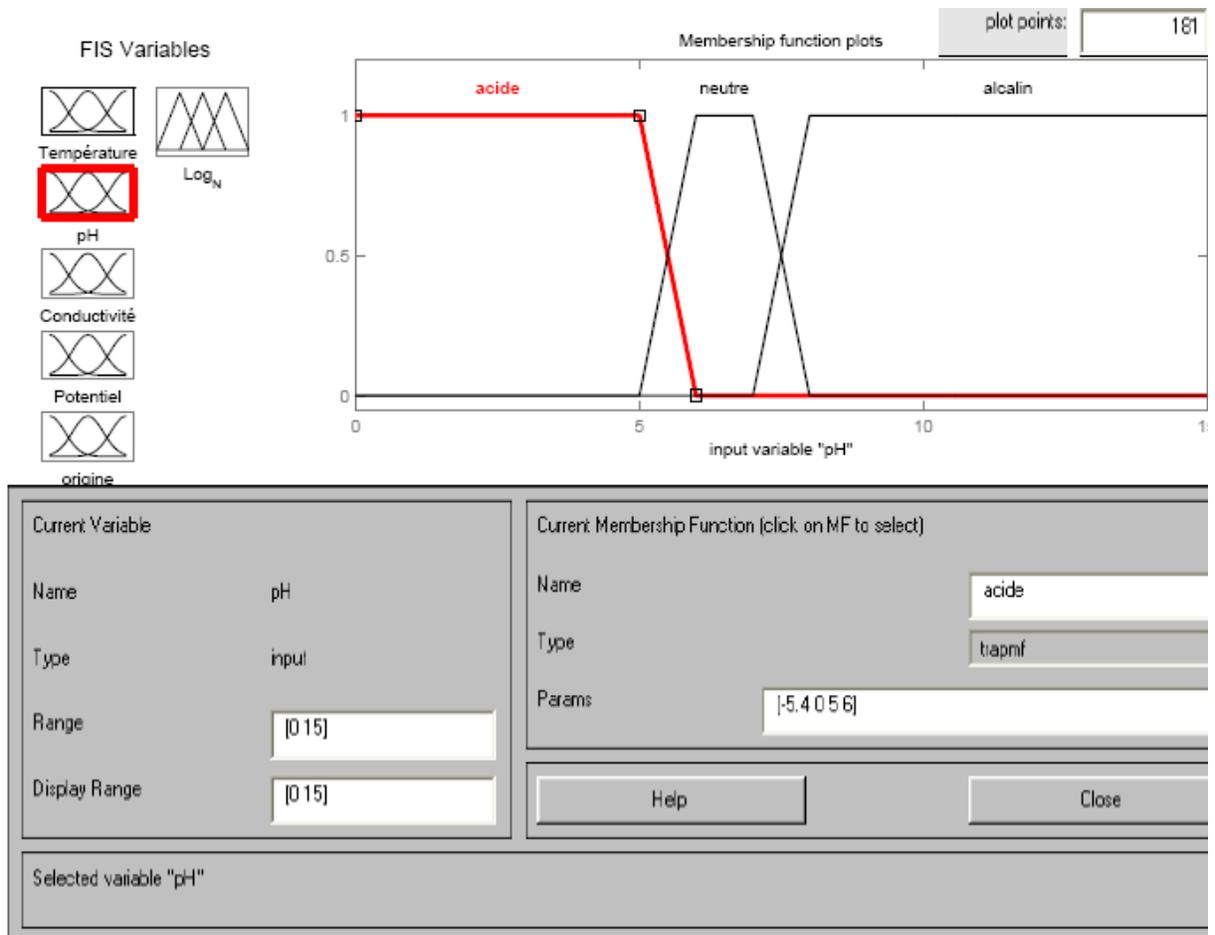


Figure 14 : Fuzzification de l'acidité de l'eau en trois intervalles flous

III.3. Fuzziification de la conductivité électrique

La conductivité électrique d'une eau correspond à la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm² de surface et séparées l'une de l'autre de 1cm. L'unité de conductivité est le micro-siemens par centimètre (μS/cm). Approximativement la valeur en μS/cm correspond à la salinité en mg/l.

Dans notre cas un conductimètre approprié est utilisé permettant la lecture directe de la conductivité. D'après les valeurs enregistrées, on choisit trois intervalles flous et des fonctions d'appartenance de type trapézoïdales en définissant la conductivité «basse conduction» comme correspondant à une conductivité inférieure à 8 μS ; « moyenne conduction » comme étant une conductivité comprise entre 6 et 14 μS et « haute conduction » comme étant une conductivité supérieure à 12 μS (figure 15). Sachant que la

conductivité la plus élevée concerne les eaux usées vu la composition chimique et organique de ses constituants en plus des ions produits par le métabolisme bactérien des coliformes et des autres bactéries.

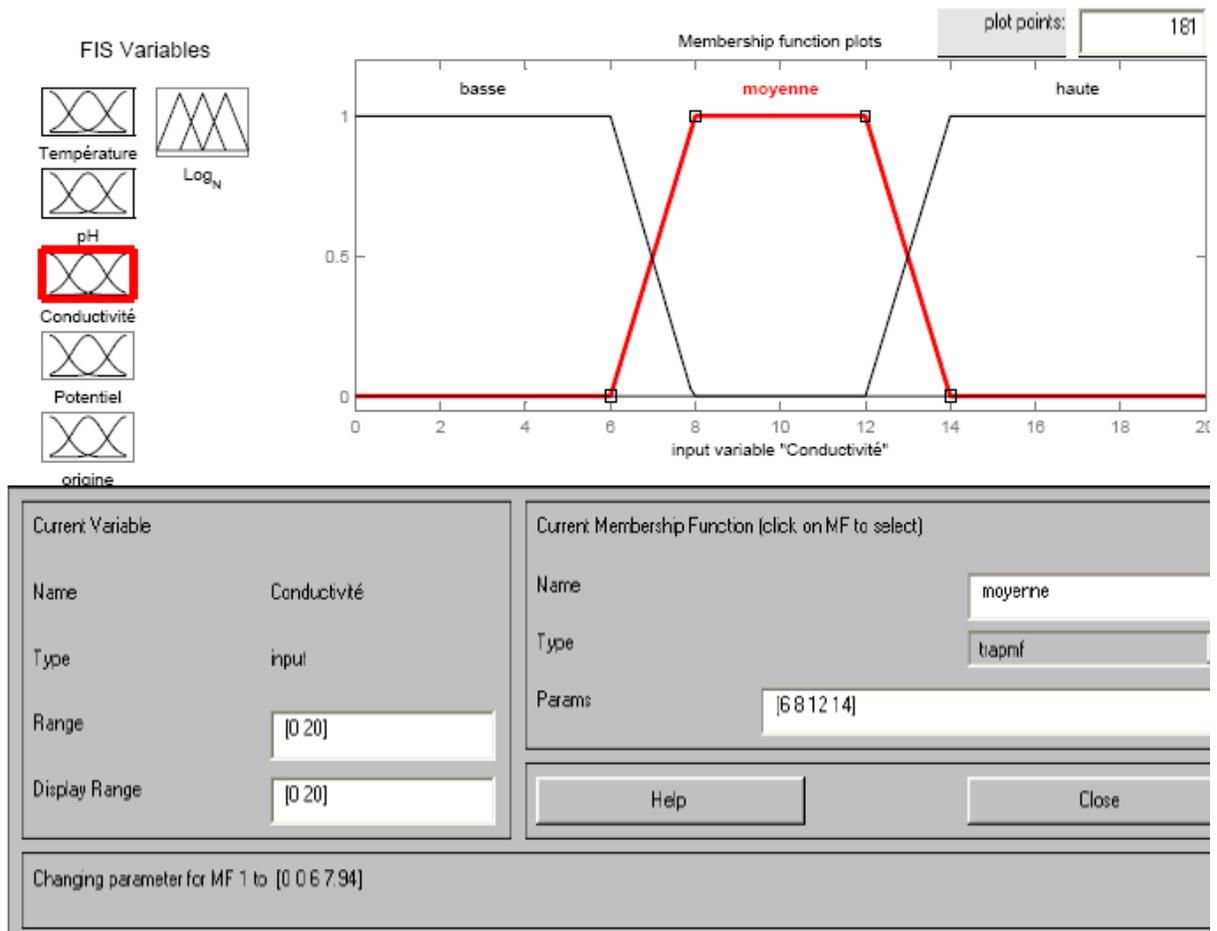


Figure 15: Fuzzification de la conductivité électrique de l'eau en trois intervalles flous

III.4. Fuzzification du potentiel électrique

Le potentiel électrique produit dans l'eau par la croissance bactérienne ajouté à celui des ions chimiques présents dans l'eau est mesuré dans notre cas à l'aide du même pH-mètre utilisé dans les mesures du pH. L'appareil de mesure permet la lecture directe du potentiel. D'après les valeurs enregistrées, on choisit trois intervalles flous et des fonctions d'appartenance de type trapézoïdales en définissant le potentiel «faible» comme correspondant à des valeurs inférieure à 0.4 mV ; « moyen » comme étant un degré

compris entre 0.3 et 0.7 mV et « élevé » comme étant un degré supérieure à 0.6 (figure 16).

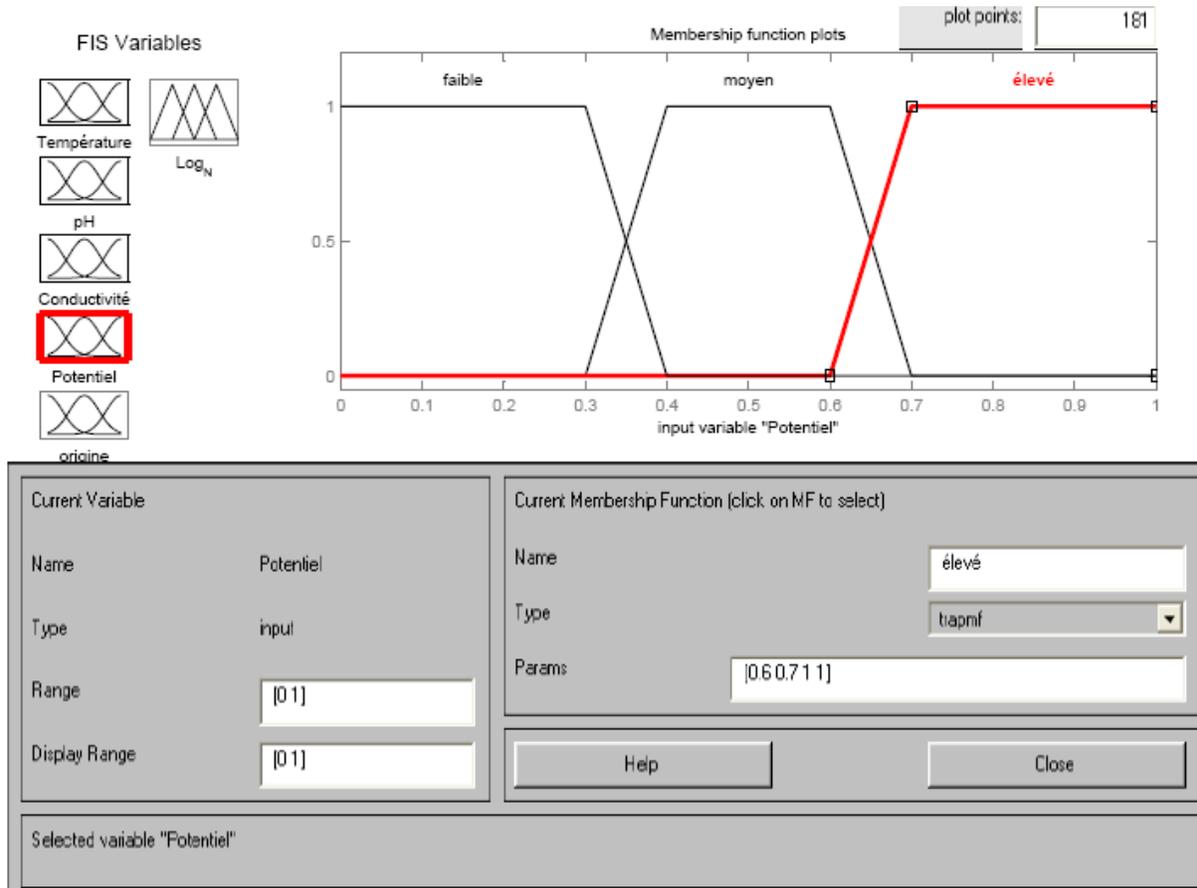


Figure 16: Fuzzification du potentiel électrique de l'eau en trois intervalles flous

III.5. Variables représentant les variétés de l'eau

On choisit quatre intervalles non flous pour définir l'origine de l'eau avec des fonctions d'appartenance en forme de raies correspondant à chaque variété. On définit les valeurs suivantes :

- Eau de surface [1]
- Eau usée [2]
- Eau de puits [3]
- Eau potable [4]

Ce qui définit les fonctions d'appartenance illustrées par la figure 17.

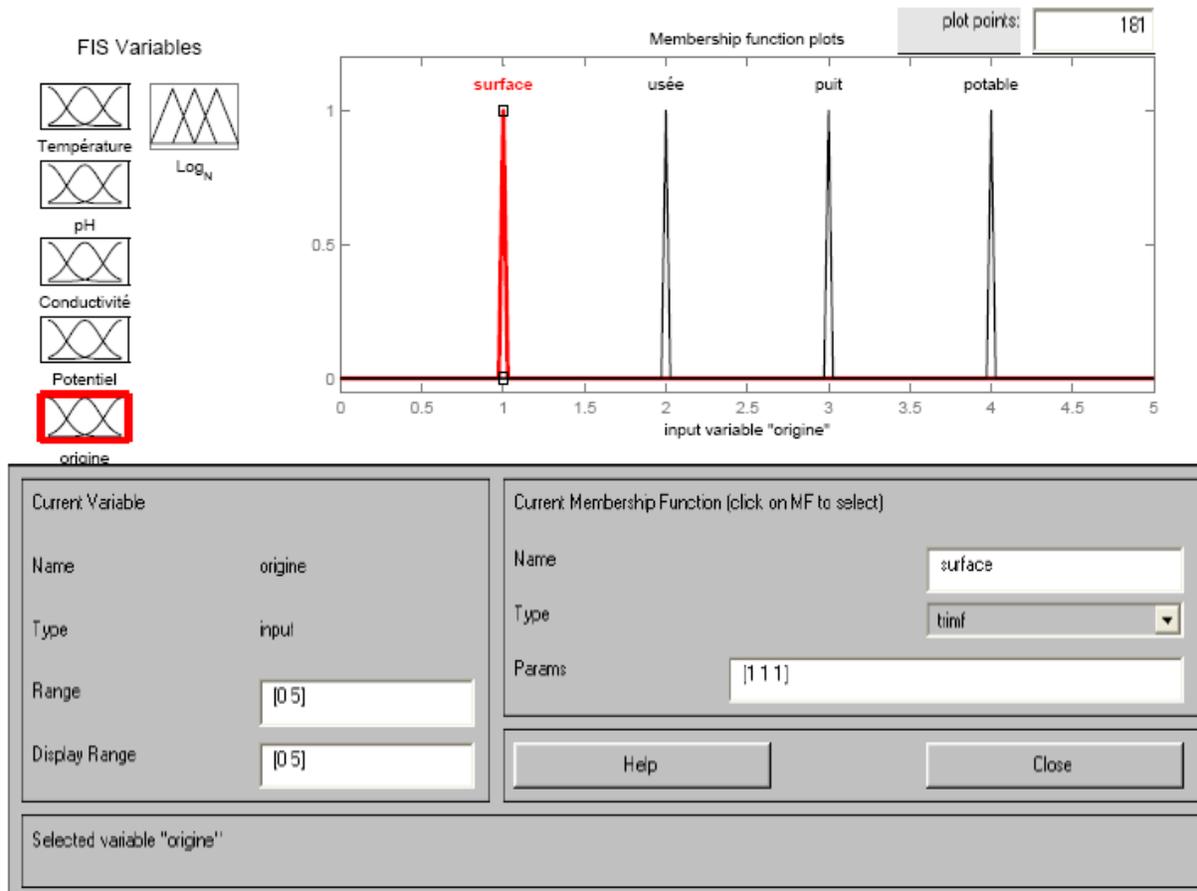


Figure 17: Affectation des valeurs non floues correspondant aux variétés des échantillons

III.6. Fuzzification du nombre bactérien

Comme variable de sortie du système, le logarithme du nombre bactérien, mesuré suivant les méthodes classiques d'analyse est réparti sur trois intervalles fous.

D'après les valeurs mesurées, on choisit trois intervalles flous et des fonctions d'appartenance de type trapézoïdales en définissant la nature de l'eau « potable » comme correspondant à une présence bactérienne avec un nombre inférieure à 10^5 germe/ml; « risquée » comme étant un nombre compris entre 10^4 germes/ml et 10^8 germes/ml et « contaminée » comme étant un nombre supérieure à 10^7 germes/ml (figure 18). Sachant que suivant les normes de l'organisation mondiale de la santé, la potabilité de l'eau est définie par une présence d'E.coli inférieure à 10^5 bactéries/ml.

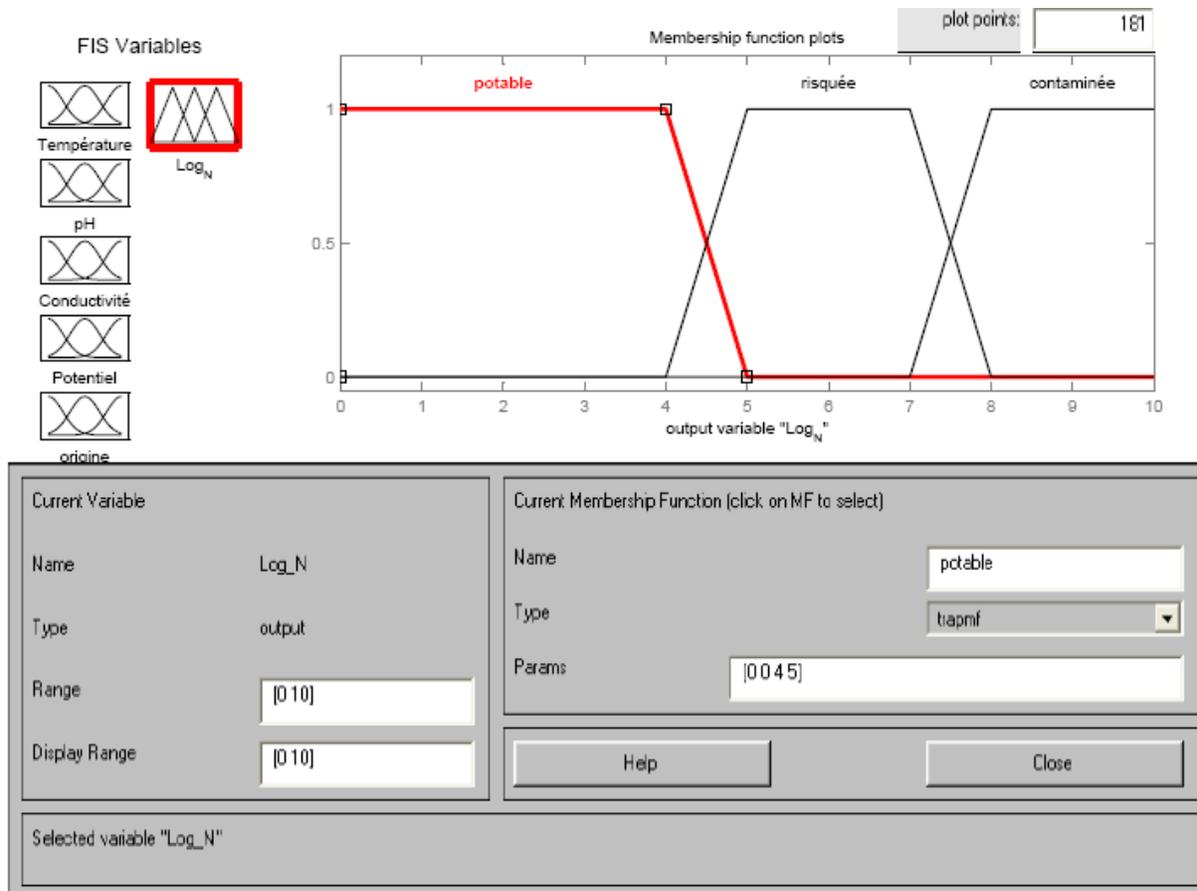
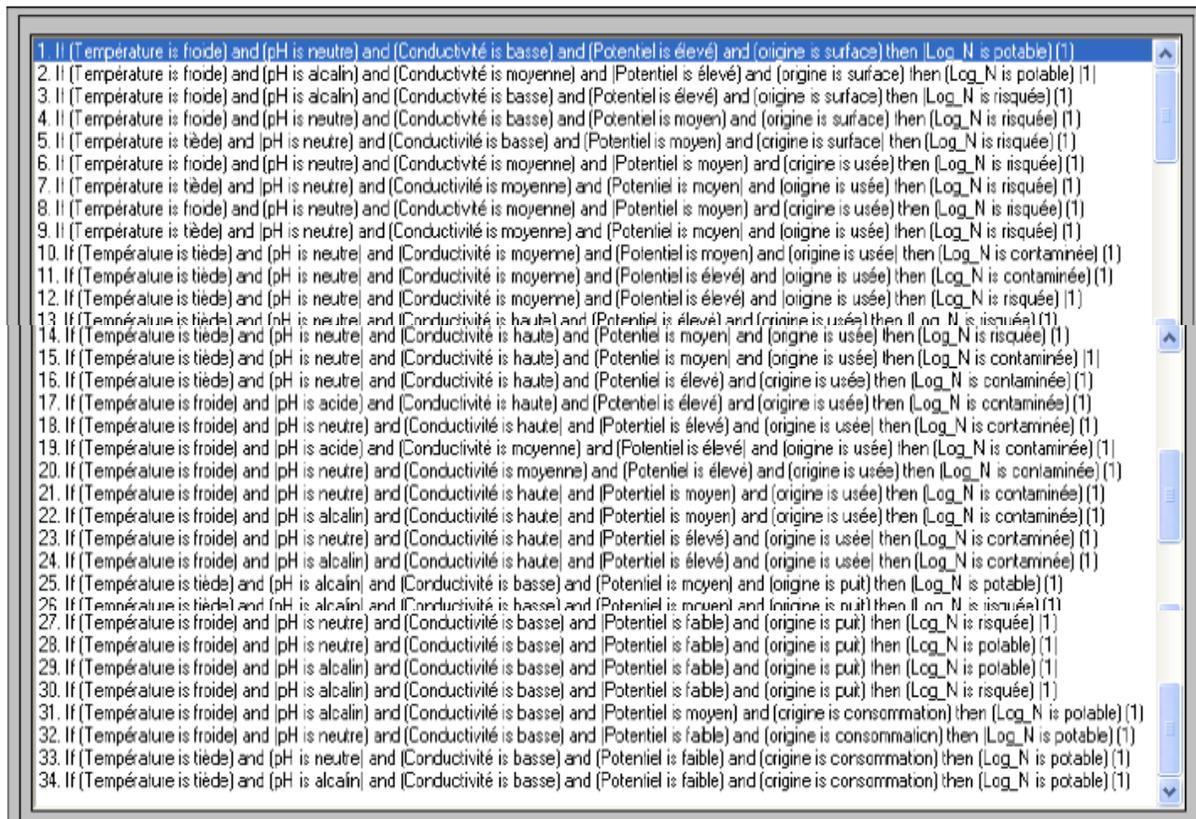


Figure 18 : Fuzzification du nombre bactérien mesuré dans l'eau

IV. REGLES D'INFERENCE

La manipulation de règles symboliques et logiques a rendu possible l'un des grands succès de l'intelligence artificielle. Leur but est, à travers la manipulation d'un grand nombre de règles, de porter un jugement sur un problème relevant d'un domaine précis. Dans notre cas, les mesures du nombre bactérien dans l'eau par les méthodes classiques d'analyse (détaillées dans la partie microbiologique) et les valeurs des différents paramètres physico-chimiques mesurés ont permis de définir les règles de fonctionnement de notre détecteur.

La combinaison de plusieurs de ces règles représentant tous les cas de figures possibles avec l'état de chaque paramètre et le résultat enregistré, traite toute les possibilités rencontrées dans la vie de tous les jours concernant tous les types d'eaux.



V. EXEMPLE D'APPLICATION

Hypothèse : la température de l'eau est de 27,41 °C et son acidité est de 7,6 et sa conductivité électrique est de 7,05 µS et son potentiel électrique est de 0.363 mV et il s'agit d'eau souterraine (de puit), alors la qualité de l'eau est considérée comme potable avec une présence bactérienne de $10^{3,86}$ germes/ml. (Figure 19).

Ces valeurs sont portées à titre d'exemple, le système proposé accepte toutes les combinaisons possibles. La fixation de l'origine de l'eau (par sa valeur représentative 1, 2, 3 ou 4), une valeur quelconque de température (dans la gamme fixée expérimentalement), d'acidité (pH), de potentiel et de conductivité électrique. Le nombre bactérien est automatiquement affiché correspondant au logarithme du nombre d'E.Coli présent dans l'eau. Cette valeur est située dans les trois domaines possibles (eau potable, eau risquée, eau contaminée).

Dans la pratique, les valeurs des paramètres physico-chimiques sont enregistrées par des capteurs spécifiques et lus automatiquement par le système flou de détection.

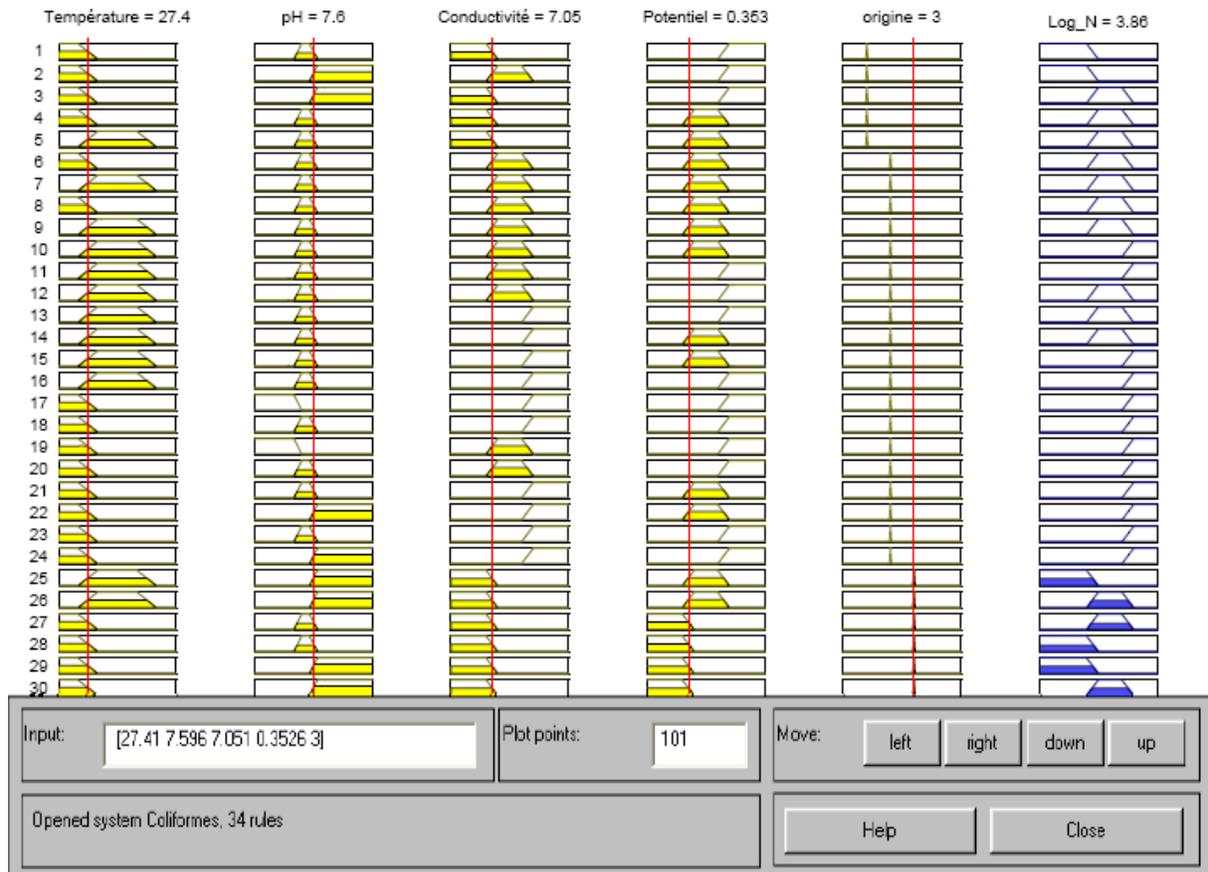


Figure 19 : Fuzzification du nombre bactérien mesuré dans l'eau

CONCLUSION

Les méthodes classiques de détection bactérienne sont caractérisées par plusieurs inconvénients, et comme les urgences épidémiologiques nécessitent de disposer d'un outil fiable et rapide, nous avons proposé un détecteur à logique floue.

Les paramètres physico-chimiques résultant de la croissance bactérienne sont caractérisés par leur incertitude et se situent dans un environnement flou.

Dans ce domaine, nous avons proposé une méthodologie basée sur la logique floue. Cette méthode utilise plusieurs paramètres physico-chimiques combinés à la fois. Cela sans doute participe amplement à l'approche de la fiabilité exigée. Mais comme les résultats obtenus des tests microbiologiques et les mesures des paramètres physico-chimiques s'avèrent incertains vu la complexité de l'environnement.

Comme la logique floue traite du domaine de l'incertain, son application s'avère alors adéquate dans ce domaine. Le système à logique flou proposé traite les données de départ comme des variables floues ou variables linguistiques. Les variables d'entrée résultant de la croissance bactérienne (Température, pH, conductivité électrique, potentiel électrique et l'origine de l'eau). Le traitement des données s'effectue suivant des règles pré établies à partir des résultats expérimentaux de la forme (si...alors...). L'utilisation du Matlab. a permis la lecture directe et instantanée de la variable de sortie en terme numérique (nombre de germes/ml). Cette valeur peut être attribuée à l'univers de discours de la variable de sortie pour une affectation symbolique (eau saine, eau risquée et eau contaminée).

1

2

PARTIE 3 : TRAITEMENT PAR RNA

CHAPITRE 1 : NOTIONS THEORIQUES

INTRODUCTION :

La biologie a apporté un grand nombre d'informations sur le fonctionnement du cerveau, des neurones... Des mathématiciens alors ont tenté de reproduire le fonctionnement du cerveau en intégrant ces connaissances en biologie dans des programmes informatiques, et en leur donnant la possibilité d'apprendre.

Les réseaux de neurones artificiels trouvent actuellement des applications variées dans le domaine des sciences et technologies. (G.M. Brion, T.R. Neelakantan, S. Lingireddy, 2002).

La prédiction de la contamination microbiologique est devenue un domaine important dans le processus de l'industrie alimentaire. (Buchanan, Stahl, and Whiting, 1989; Cerf, Davey, and Saoudi, 1996; Davey, 1989; Davey and Daughtry, 1995). Cependant, les réseaux de neurones artificiels ont la dynamique et la possibilité de lire les données expérimentales de l'environnement réel et sont par conséquent capable de résoudre les systèmes complexes des processus biophysiques.

Les réseaux de neurones sont des systèmes apprenant à réaliser des fonctions de mise en correspondance entre deux espaces, espace d'entrée et espace de sortie.

L'application des techniques connexionnistes a permis de traiter des problèmes de diagnostic médical en cas d'urgence. Dans ce cas, le réseau met en correspondance l'espace de départ constitué des symptômes avec l'espace d'arrivée composé des diagnostics possibles. La fonction associant les symptômes avec les diagnostics est apprise par le réseau à partir d'un ensemble de cas réels.

A cette image de raisonnement, nous proposons dans notre étude la détection automatique de la pollution microbiologique de l'eau. Il s'agit alors, de mettre en correspondance l'espace de départ constitué des paramètres physico-chimiques mesurés par des capteurs appropriés dans une eau déterminée avec l'espace d'arrivée composé de la valeur du nombre de germes / ml mesuré par les méthodes classiques d'analyse. La

fonction associant les paramètres d'entrée au nombre bactérien est alors apprise par le réseau à partir d'un ensemble de valeurs réelles mesurées par les tests de laboratoire.

I. HISTORIQUE

- 1890 : W. James, psychologue américain introduit le concept de mémoire associative, et propose ce qui deviendra une loi de fonctionnement pour l'apprentissage sur les réseaux de neurones connue plus tard sous le nom de loi de Hebb.

- 1943 : J. Mc Culloch et W. Pitts laissent leurs noms à une modélisation du neurone biologique (un neurone au comportement binaire).

- 1949 : D. Hebb, physiologiste américain explique le conditionnement chez l'animal par les propriétés des neurones eux-mêmes. La loi de modification des propriétés des connexions entre neurones qu'il propose explique en partie ce type de résultats expérimentaux.

- 1958 apparaît, proprement dit, le premier réseau de neurones artificiels, grâce aux travaux de Rosenblatt sur le perceptron. Le Perceptron est inspiré du système visuel et possède une couche de neurones d'entrée ("perceptive") ainsi qu'une couche de neurones de sortie ("décisionnelle"). Ce réseau parvient à apprendre à identifier des formes simples et à calculer certaines fonctions logiques.

- 1960 : B. Widrow, un automaticien, développe le modèle Adaline (Adaptative Linear Element). Celui à l'origine de l'algorithme de rétro propagation de gradient très utilisé aujourd'hui avec les perceptrons multicouches.

- 1969 : M. Minsky et S. Papert mettent en exergue les limitations théoriques du perceptron. Limitations alors connues, notamment concernant l'impossibilité de traiter par ce modèle des problèmes non linéaires. Ils étendent implicitement ces limitations à tous modèles de réseaux de neurones artificiels.

- 1967-1982 : Toutes les recherches se poursuivaient sous forme de traitement adaptatif du signal, la reconnaissance de formes, la modélisation en neurobiologie, etc.

- 1982 : Hopfield démontre tout l'intérêt d'utiliser des réseaux récurrents (dit "feed-back") pour la compréhension et la modélisation des processus mnésiques.

II. DÉFINITION

Les réseaux de neurones artificiels sont des réseaux fortement connectés de processeurs élémentaires fonctionnant en parallèle. Chaque processeur élémentaire calcule une sortie unique sur la base des informations qu'il reçoit. Toute structure hiérarchique de réseaux est évidemment un réseau.

III. PRÉSENTATION :

Dans un réseau, chaque sous-groupe fait un traitement indépendant des autres et transmet le résultat de son analyse au sous-groupe suivant. L'information donnée au réseau va donc se propager couche par couche, de la couche d'entrée à la couche de sortie, en passant soit par aucune, une ou plusieurs couches intermédiaires (dites couches cachées). Il est à noter qu'en fonction de l'algorithme d'apprentissage, il est aussi possible d'avoir une propagation de l'information à reculons ("back propagation"). Habituellement (excepté pour les couches d'entrée et de sortie), chaque neurone dans une couche est connecté à tous les neurones de la couche précédente et de la couche suivante.

Les réseaux de neurones artificiels ont la capacité de stocker de la connaissance empirique et de la rendre disponible à l'usage. Les habiletés de traitement (et donc la connaissance) du réseau vont être stockées dans les poids synaptiques, obtenus par des processus d'adaptation ou d'apprentissage. En ce sens, les réseaux de neurones artificiels ressemblent donc au cerveau car non seulement, la connaissance est acquise au travers d'un apprentissage mais de plus, cette connaissance est stockée dans les connexions entre les entités soit, dans les poids synaptiques.

Les neurones formels doivent être assemblés pour former un [réseau](#). Le type de réseau le plus simple s'appelle le "perceptron". Il est constitué en fait d'un seul neurone et permet de réaliser des opérations très simples. Il est cependant très limité. C'est pourquoi on utilise un type de réseau plus complexe, le Perceptron Multi-Couches (PMC). Comme son nom l'indique, il est constitué de plusieurs couches de neurones entièrement connectées entre elles (figure 20).

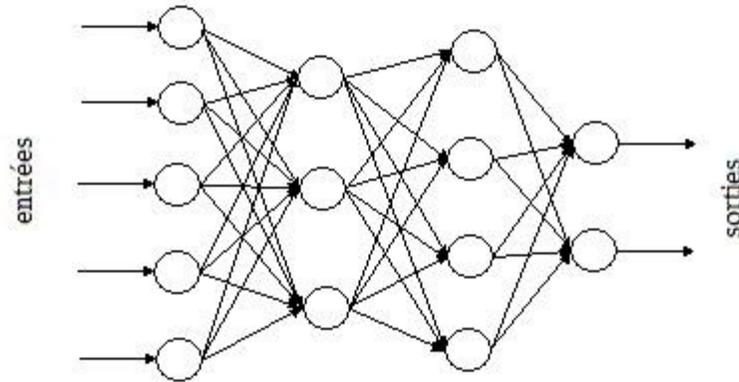


Figure 20. Schématisation d'un réseau de neurones multi couches

Ces réseaux à perceptron multi-couches sont les plus utilisés. Mais il existe d'autres types, notamment les réseaux récurrents qui sont des réseaux qui bouclent sur eux-mêmes.

IV. LE NEURONE MATHÉMATIQUE

Le neurone formel est donc une modélisation mathématique qui reprend les grands principes du fonctionnement du neurone biologique et particulièrement, la sommation des entrées. Sachant qu'au niveau biologique, les synapses n'ont pas toutes la même «valeur». L'algorithme pondère la somme de ses entrées par des poids synaptiques (coefficients de pondération).

Le principe du neurone artificiel peut être simplifié dans la figure 21. Ce neurone peut être considéré comme un opérateur (ou un élément processeur) qui reçoit plusieurs entrées et fournit une sortie seulement lorsque la somme dépasse un certain seuil interne. L'évaluation de la sortie se fait par la somme pondérée des entrées. Mathématiquement, ceci peut être modélisé par les équations suivantes :

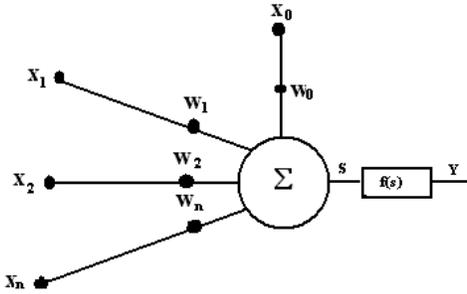


Figure 21. Structure d'un réseau de neurones avec (n) entrées et une sortie

$$Y = f\left(\sum_{j=1}^n w_j x_j - f(s)\right)$$

Où : x_j sont les vecteurs d'entrée

w_j sont les vecteurs des poids synaptiques.

Le terme $(x_0 \cdot w_0)$ représente la valeur du seuil interne qui doit être dépassée pour l'activation du neurone.

$f(s)$: représente la fonction d'activation.

IV.1. FONCTIONS D'ACTIVATION

Plusieurs fonctions d'activation monotones croissantes et bornées peuvent être utilisées. Ce vaste choix de fonctions permet aux modèles neuronaux de posséder des caractéristiques très variées. La sigmoïde reste la fonction d'activation la plus utilisée. L'un de ses avantages est sa dérivabilité. Historiquement, cette propriété a eu un impact important ; du fait qu'elle a permis de développer des algorithmes d'apprentissage à base du gradient pour les réseaux multicouches. La sigmoïde trouve également sa place dans d'autres applications dont plusieurs de celles-ci exigent une sortie continue plutôt qu'une sortie de type tout/rien (Simpson, P.K., 1989).

La fonction d'activation de la couche cachée est nécessaire afin d'introduire la non linéarité du réseau et le rendre ainsi capable de capturer la relation entre l'entrée et la sortie du réseau. Pour l'unité de la sortie, la sélection de la fonction d'activation est basée sur la distribution des valeurs cibles désirées. (Brion, M. G., Neelakantan, T.R. Lingireddy, S., 2002).

Malgré ses propriétés avantageuses, la non linéarité sigmoïdale présente certains inconvénients liés essentiellement à l'évaluation et à l'implémentation des termes exponentiels. Car dans les calculs numériques, la fonction exponentielle est approximée par la série de Taylor

$$e^{-s} = \frac{1}{\left(1 + \frac{s}{1!} + \frac{s^2}{2!} + \frac{s^3}{3!} + \dots\right)}$$

IV.1.1. Les variantes :

Dans sa première version, le neurone formel était donc implémenté avec une fonction à seuil (a), mais de nombreuses versions existent. Ainsi le neurone de McCulloch et Pitts a été généralisé de différentes manières, en choisissant d'autres fonctions d'activations, (figure 22) comme les fonctions linéaires par morceaux (b), des sigmoïdes (c) ou des gaussiennes (d) par exemples.

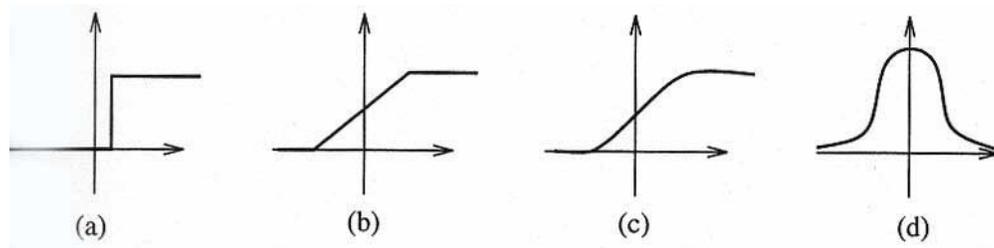


Figure 22. Les différentes fonctions d'activation

Dans la pratique, on trouve deux types de signaux: signés (bipolaires) et non signés (binaires) (Kosko, B., 1992). Ainsi, deux formes de sigmoïdes sont utilisées. La sigmoïde binaire, ayant deux niveaux de saturation (0 et 1), est définie comme suit

$$d(s) = \frac{1}{1 + e^{-gs}}$$

Sa dérivée est donnée par:

$$d'(s) = g \cdot \theta + [1 - f(s)] \cdot \eta \cdot 0$$

Une sigmoïde bipolaire peut être exprimée par la tangente-hyperbolique :

$$d(s) = \tanh(cs) = \frac{1 - e^{-gs}}{1 + e^{-gs}}$$

Sa dérivée est donnée par :

$$d'(s) = \frac{df(s)}{ds} = \frac{1}{2} [1 - f(s)^2]$$

Les neurones ayant des fonctions d'activation bipolaires sont appelés «neurones de McCulloch-Pitts » (Kosko, B., 1992).

Le gain [g] détermine la forme de la sigmoïde, c'est à dire la pente de la région de transition. On note que lorsque le gain [g] s'approche de l'infinie, la sigmoïde tends vers un élément tout/rien. Yamada, T. et Yabuta, Y., (1992) ont suggéré une méthode du gradient pour l'ajustement automatique de la forme optimale de la sigmoïde.

V. ASPECTS GÉNÉRAUX SUR LES RÉSEAUX DE NEURONES

V.1. TAXONOMIE GÉNÉRALE :

On peut grossièrement classer les réseaux de neurones artificiels en deux grandes catégories qui sont, les réseaux dits "feed-forward" (type Perceptron) ou "feedback" (encore appelés réseaux récurrents). Comme leurs noms l'indiquent, dans les réseaux "feed-forward", l'information se propage de couche en couche sans retour en arrière possible, contrairement aux réseaux "feedback" (figure 23).

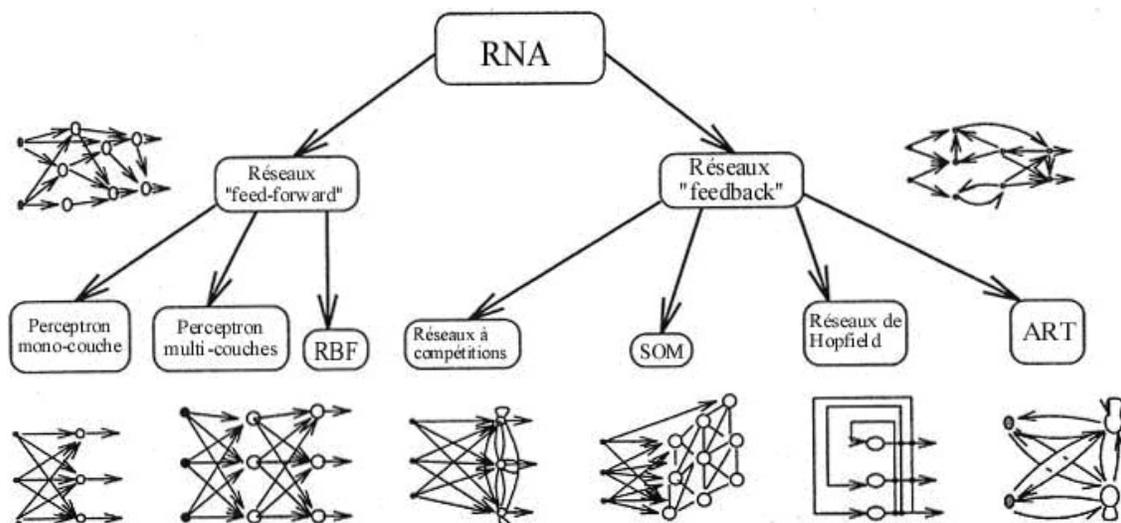


Figure 23. Classification des réseaux de neurones en réseaux 'feed-forward' et 'feed-back'.

Il est à noter, que les réseaux de neurones artificiels peuvent être également classés, en fonction du type d'apprentissage qu'ils subissent, ou de la règle d'apprentissage qu'ils utilisent. Ceci est particulièrement dû au fait, que chaque algorithme d'apprentissage a été défini pour entraîner une architecture particulière et donc, lorsque on parle d'un algorithme d'apprentissage, une architecture spécifique est induite dans le discours.

V.2. LES DIFFÉRENTS TYPES DE RNA

V.2.1. Les réseaux "feed-forward" :

*** Les Perceptrons :**

Le Perceptron mono-couche :

C'est historiquement le premier RNA, c'est le Perceptron de Rosenblatt. C'est un réseau simple, puisque il ne se compose que d'une couche d'entrée et d'une couche de sortie. Il est calqué, à la base, sur le système visuel et de ce fait a été connu dans un but premier de reconnaissance des formes. Cependant, il peut aussi être utilisé pour faire de la classification et pour résoudre des opérations logiques simples (telle "ET" ou "OU"). Sa principale limite est qu'il ne peut résoudre que des problèmes linéairement séparables. Il suit généralement un apprentissage supervisé selon la règle de correction de l'erreur (ou selon la règle de Hebb).

*** Le Perceptron multi-couches (PMC) :**

C'est une extension du précédent, avec une ou plusieurs couches cachées entre l'entrée et la sortie. Chaque neurone dans une couche est connecté à tous les neurones de la couche précédente et de la couche suivante (excepté pour les couches d'entrée et de sortie) et il n'y a pas de connexions entre les cellules d'une même couche. Les fonctions d'activation utilisées dans ce type de réseaux sont principalement les fonctions à seuil ou sigmoïde.

Comme notre application utilise ce type de réseaux de neurones, on se limite à la seule topologie de ce neurone sans pour autant s'étaler sur les autres réseaux tels que les

réseaux à fonction radiale, les réseaux 'feed-back', les réseaux de Hopfield ou les réseaux ART (adaptative résonance theory).

VI. L'APPRENTISSAGE DES RÉSEAUX DE NEURONES

VI.1. DÉFINITION :

L'apprentissage est une phase du développement d'un réseau de neurones durant laquelle le comportement du réseau est modifié jusqu'à l'obtention du comportement désiré.

L'apprentissage neuronal fait appel à des exemples de comportement. Dans le cas des réseaux de neurones artificiels, on ajoute souvent à la description du modèle l'algorithme d'apprentissage. Le modèle sans apprentissage présente en effet peu d'intérêt. Dans la majorité des algorithmes actuels, les variables modifiées pendant l'apprentissage sont les poids des connexions.

L'apprentissage est la modification des poids du réseau dans l'optique d'accorder la réponse du réseau aux exemples et à l'expérience. Il est souvent impossible de décider à priori des valeurs des poids des connexions d'un réseau pour une application donnée. A l'issue de l'apprentissage, les poids sont fixés : c'est alors la phase d'utilisation. Certains modèles de réseaux sont improprement dénommés à apprentissage permanent. Dans ce cas il est vrai que l'apprentissage ne s'arrête jamais, cependant on peut toujours distinguer une phase d'apprentissage (en fait de remise à jour du comportement) et une phase d'utilisation. Cette technique permet de conserver au réseau un comportement adapté malgré les fluctuations dans les données d'entrées.

Au niveau des algorithmes d'apprentissage, il a été défini deux grandes classes selon que l'apprentissage est dit supervisé ou non supervisé. Cette distinction repose sur la forme des exemples d'apprentissage. Dans le cas de l'apprentissage supervisé, les exemples sont des couples (Entrée, Sortie associée) alors que l'on ne dispose que des valeurs (Entrée) pour l'apprentissage non supervisé. Remarquons cependant que les modèles à apprentissage non supervisé nécessitent avant la phase d'utilisation une étape de labélisation effectuée l'opérateur, qui n'est pas autre chose qu'une part de supervision.

Pour un réseau de neurones artificiel, l'apprentissage peut être considéré comme le problème de la mise à jour des poids des connexions au sein du réseau, afin de réussir la tâche qui lui est demandée. L'apprentissage est la caractéristique principale des RNA et il peut se faire de différentes manières et selon différentes règles.

VI.2. LES TYPES D'APPRENTISSAGE :

VI.2.1. Le mode supervisé :

Dans cette sorte d'apprentissage, le réseau s'adapte par comparaison entre le résultat qu'il a calculé, en fonction des entrées fournies, et la réponse attendue en sortie. Ainsi, le réseau va se modifier jusqu'à ce qu'il trouve la bonne sortie, c'est-à-dire celle attendue, correspondant à une entrée donnée.

VI.2.2. Le renforcement :

Le renforcement est en fait une sorte d'apprentissage supervisé et certains auteurs le classe d'ailleurs, dans la catégorie des modes supervisés. Dans cette approche le réseau doit apprendre la corrélation entrée/sortie via une estimation de son erreur, c'est-à-dire du rapport échec/succès. Le réseau va donc tendre à maximiser un indice de performance qui lui est fourni, appelé *signal de renforcement*. Le système étant capable ici, de savoir si la réponse qu'il fournit est correcte ou non, mais il ne connaît pas la bonne réponse.

VI.2.3. Le mode non supervisé (ou auto organisationnel) :

Dans ce cas, l'apprentissage est basé sur des probabilités. Le réseau va se modifier en fonction des régularités statistiques de l'entrée et établir des catégories, en attribuant et en optimisant une valeur de qualité, aux catégories reconnues.

VI.2.4. Le mode hybride :

Le mode hybride reprend en fait les deux autres approches, puisque une partie des poids va être déterminée par apprentissage supervisé et l'autre partie par apprentissage non supervisé.

VI.3. LES RÈGLES D'APPRENTISSAGE :

VI.3.1. Règle de correction d'erreurs :

Cette règle s'inscrit dans le paradigme d'apprentissage supervisé, c'est-à-dire, dans le cas où on fournit au réseau, une entrée et la sortie correspondante. Si on considère $[y]$, la sortie calculée par le réseau et $[d]$, la sortie désirée, le principe de cette règle est d'utiliser l'erreur $[d-y]$, afin de modifier les connexions et de diminuer ainsi l'erreur globale du système. Le réseau va donc s'adapter jusqu'à ce que y soit égal à $[d]$. C'est ce principe qui est utilisé dans le perceptron simple.

VI.3.2. Apprentissage de Boltzmann :

Les réseaux de Boltzmann sont des réseaux symétriques récurrents et qu'ils possèdent deux sous-groupes de cellules, le premier étant relié à l'environnement (cellules dites visibles) et le second ne l'étant pas (cellules dites cachées). Cette règle d'apprentissage est de type stochastique (qui relève partiellement du hasard) et elle consiste à ajuster les poids des connexions, de telle sorte que l'état des cellules visibles satisfasse une distribution probabiliste souhaitée.

VI.3.3. Règle de Hebb :

Comme déjà dit dans l'historique, cette règle, basée sur des données biologiques, modélise le fait que si des neurones, de part et d'autre d'une synapse, sont activés de façon synchrone et répétée, la force de la connexion synaptique va aller croissant. Il est à noter ici que l'apprentissage est localisé, c'est-à-dire que la modification d'un poids synaptique $[w_{ij}]$ ne dépend que de l'activation d'un neurone $[i]$ et d'un autre neurone $[j]$.

VI.3.4. Règle d'apprentissage par compétitions :

La particularité de cette règle, c'est qu'ici l'apprentissage ne concerne qu'un seul neurone. Le principe de cet apprentissage est de regrouper les données en catégories. Les patrons similaires vont donc être rangés dans une même classe, en se basant sur les corrélations des données, et seront représentés par un seul neurone, on parle de «winner-take-all».

Dans un réseau à compétition simple, chaque neurone de sortie est connecté aux neurones de la couche d'entrée, aux autres cellules de la couche de sortie (connexions inhibitrices) et à elle-même (connexion excitatrice). La sortie va donc dépendre de la compétition entre les connexions inhibitrices et excitatrices.

CHAPITRE 2 :

APPLICATION À LA DÉTECTION BACTÉRIENNE

En dehors de la recherche fondamentale en intelligence artificielle et de la tentative de modélisation du cerveau, les réseaux de neurones artificiels sont utilisés concrètement dans de nombreux cas différents, dont nous allons voir le cas de notre application.

I. EXPRESSION DU PROBLÈME :

Mise en correspondance de l'espace des paramètres physico-chimiques mesurés (température de l'eau, pH, conductivité, potentiel électrique, origine de l'eau) avec celui du nombre de bactérie d'*E.coli* /ml mesuré suivant les méthodes classiques d'analyse.

La figure 24 décrit la topologie avec cinq entrées, une couche cache, et une sortie (5-1-1) dans la terminologie des modèles des réseaux de neurones artificiels. Les quatre entrées sont la température ($T^{\circ}\text{C}$), le pH, le potentiel électrique (mV) et la conductivité électrique (μS). La cinquième entrée représente la nature de l'eau (eau de surface -1-, eau souterraine -2-, eau usée -3-, eau potable -4-). W_{ij} et W_{jk} sont des poids, qui représentent la liaison entre les entrées et la sortie du système. Les poids contiennent toutes les informations concernant le réseau. L'objectif est l'apprentissage du réseau pour arriver à la valeur minimale de l'erreur de lecture observée à la sortie. (Chen, D.G., et al, 2000).

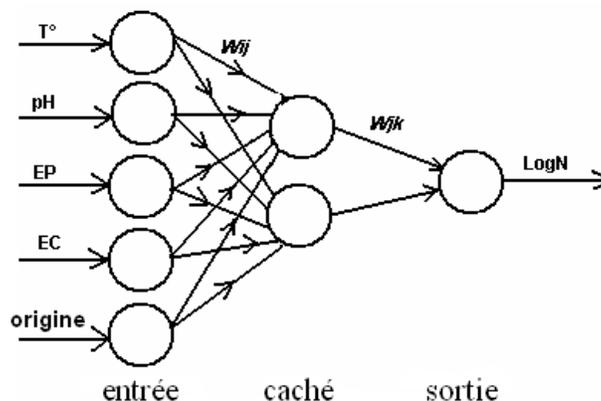


Figure24. L'affichage du logarithme du nombre bactérien en fonction des paramètres physico-chimiques à l'entrée du système passant par une couche cachée.

II. MODÈLE

La base d'exemples est constituée de 1000 tests effectués sur 04 échantillons d'eaux (eau de surface –lac-, eau souterraine –puit-, eau usée, eau potable -du robinet). Chaque échantillon subit des tests de mesure de son pH, sa conductivité électrique, son potentiel électrique dans différentes températures. On choisi de conserver 500 tests (50%) tandis que 500 autres tests (50%) sont utilisés pour l'apprentissage. A priori, la relation entre ces deux espaces est complexe (en particulier non linéaire) ce qui implique l'utilisation d'un réseau multicouche.

III. APPRENTISSAGE DU RÉSEAU DE NEURONES

Il s'agit dans notre cas d'introduire des données physico chimiques résultant de la croissance bactérienne dans l'eau ainsi que sa composante chimique originelle. Le logarithme du nombre bactérien mesuré par les méthodes classique d'analyse est considéré comme une fonction de sortie. Nous prendrons l'exemple de la reconnaissance du logarithme du nombre bactérien correspondant à différentes valeurs de la température de l'eau, de son acidité, de sa conductivité et de son potentiel électrique ainsi que l'origine de cette eau qu'elle soit de surface, souterraine, usée ou potable. Le réseau a pour objectif de reconnaître le nombre de germe d'*E.coli* / ml d'eau testée.

Pour réaliser cela, la méthode est en quelque sorte une imitation du cerveau: si la réponse est correcte, c'est bien, mais s'il y a une *erreur*, il faut *modifier* le réseau afin de ne pas réitérer l'erreur.

On recommence plusieurs centaines de fois l'opération, jusqu'à ce que le réseau ait la plus petite valeur d'erreur possible (figure 25).

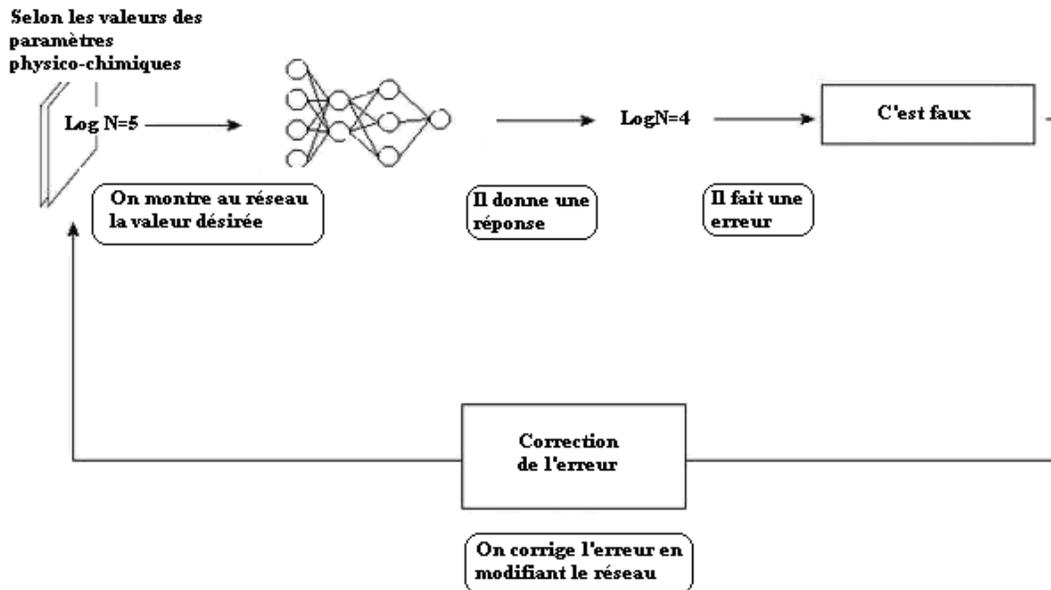


Figure 25. Schématisation du système de correction d'erreur lors de l'apprentissage du réseau.

Note: afin de modifier le réseau, il suffit d'intervenir sur les poids $[W]$ qui sont sous forme de nombres réels liant les neurones. Comme ces poids interviennent dans la somme effectuée par chaque neurone (la somme est pondérée), il est possible de modifier le réseau en changeant leurs valeurs sans pour autant changer le réseau lui-même. Ceci dit, il n'est pas évident de savoir de combien il faut modifier ces poids. Le but est d'arriver à converger vers une erreur minimale.

IV. TRAITEMENT DES DONNÉES PAR RÉSEAU DE NEURONES ARTIFICIELS:

Les données de départ sont :

IV.1. PARAMÈTRES D'ENTRÉE :

- Température de l'eau ($T^{\circ}\text{C}$)
- L'acidité de l'eau (son pH)
- La conductivité électrique de l'eau (μS)
- Le potentiel électrique de l'eau (mV)
- L'origine de l'échantillon d'eau (1 : eau de surface, 2 : eau de puit, 3 : eau usée, 4 : eau potable).

IV.2. PARAMÈTRES DE SORTIE :

- Le logarithme du nombre bactérien (germe/ml)

IV.3. RÉSEAU CHOISI :

- Réseau multi couche (avec une couche cachée).

IV.4. LA FONCTION D'ACTIVATION :

- De type sigmoïde

IV.5. LA CORRECTION D'ERREURS

- 1000 itération

Les paramètres d'entrée et de sortie sont présentés sur un fichier Excel (en annexe).

Le programme fait appel à ce fichier comme source de données.

Nous avons utilisé *Matlab 6.5* pour le traitement des données. L'architecture globale du programme est :

V. ARCHITECTURE DU PROGRAMME

Neural Network object:

architecture:

```
numInputs: 1
numLayers: 2
biasConnect: [1; 1]
inputConnect: [1; 0]
layerConnect: [1 0; 1 0]
outputConnect: [0 1]
targetConnect: [0 1]
```

```
numOutputs: 1 (read-only)
numTargets: 1 (read-only)
numInputDelays: 0 (read-only)
numLayerDelays: 1 (read-only)
```

subobject structures:

```
inputs: {1x1 cell} of inputs
layers: {2x1 cell} of layers
outputs: {1x2 cell} containing 1 output
targets: {1x2 cell} containing 1 target
biases: {2x1 cell} containing 2 biases
inputWeights: {2x1 cell} containing 1 input weight
layerWeights: {2x2 cell} containing 2 layer weights
```

functions:

```
adaptFcn: 'trains'
initFcn: 'initlay'
performFcn: 'mse'
trainFcn: 'traingdx'
```

parameters:

```
adaptParam: .passes
initParam: (none)
performParam: (none)
trainParam: .epochs, .goal, .lr, .lr_dec,
            .lr_inc, .max_fail, .max_perf_inc, .mc,
            .min_grad, .show, .time
```

weight and bias values:

```
IW: {2x1 cell} containing 1 input weight matrix
LW: {2x2 cell} containing 2 layer weight matrices
b: {2x1 cell} containing 2 bias vectors
```

other:

```
userdata: (user stuff)
```

Le résultat après training, est présenté sur la figure 26. Les eaux usées comportent évidemment le plus grand taux de germe / ml, elle est par conséquent contaminée de nature. Vient après par ordre de contamination les eaux de surface, puis les eaux souterraines et en dernier lieu les eaux du robinet dites potables.

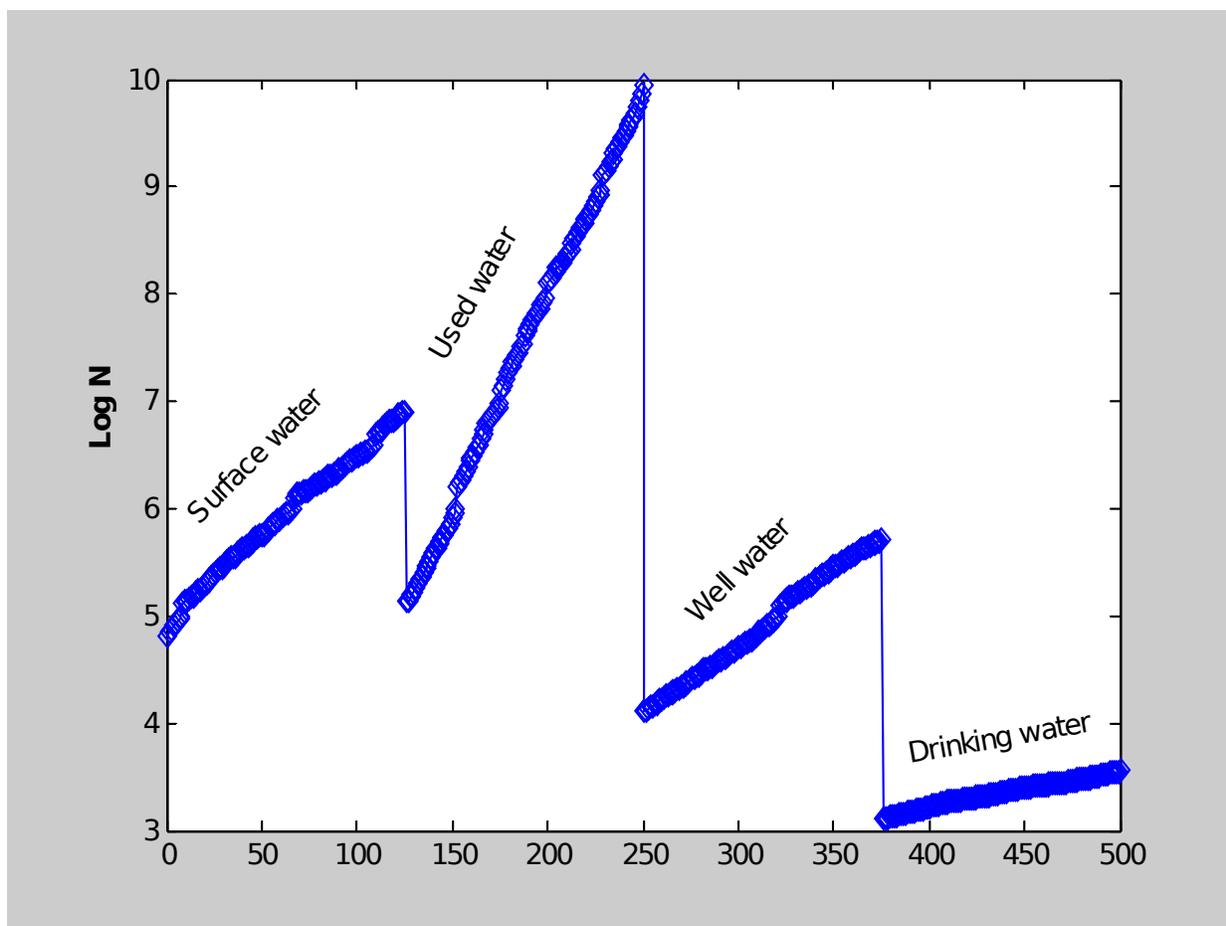


Figure 26. La variation du nombre bactérien dans différentes variétés d'eaux. Les valeurs testées se confondent parfaitement avec les valeurs d'apprentissage.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La détection automatique de la contamination microbiologique par réseaux de neurones artificiels montre sa capacité de répondre à la contamination de l'eau quel que soit sa nature du point de vue microbiologique.

Le nombre de germes/ml en sortie correspond à toute variation des paramètres d'entrées. La réponse est en terme symbolique et numérique en utilisant des capteurs spécifiques pour l'enregistrement des paramètres d'entrée dans un univers de discours (eau saine, eau risquée et eau contaminée). Lorsque le nombre de germes/ml est autour de 10^5 , l'eau est considérée contaminée, si ce nombre est inférieur à 10^4 , l'eau est considérée saine ou potable, lorsque ce nombre dépasse 10^6 , l'eau est très contaminée.

La figure 26, présente la courbe de variation du nombre bactérien. Elle permet de visualiser la synthèse du modèle de prédiction de la contamination bactérienne.

A partir de 1000 observations (500 ont été utilisées pour l'apprentissage), le résultat montre que l'erreur de mesure est négligeable.

CONCLUSION :

La détection microbiologique des eaux de consommation nécessite des méthodes d'analyse de laboratoires. Ces méthodes se caractérisent par le temps relativement long ainsi que la présence d'un opérateur qualifié. Dans cette étude, nous proposons l'utilisation une méthode de détection basée sur les réseaux de neurones artificiels. Comme instrument de mesures des paramètres d'entrées, des capteurs spécifiques sont utilisés.

Des résultats obtenus du détecteur à réseaux de neurones, ce système s'avère approprié dans la détection microbiologique de la contamination de l'eau.

Nous ne nous engageons en aucun cas de remplacer les analyses microbiologiques classiques de laboratoire. Cependant, nous proposons cet outil comme un instrument d'aide à la décision à titre préventif dans les laboratoires de microbiologie dans les cas d'urgence notamment les cas épidémiologiques concernant les maladies de l'eau.

PARTIE 4 : TRAITEMENT PAR UN SYSTEME NEURO-FUZZY

INTRODUCTION

L'un des défis majeurs de la détection microbiologiques dans les eaux est la détection des bactéries coliformes dans un environnement incertain, en particulier lorsque les paramètres physico-chimiques sont imprécis. Différentes techniques sont utilisées pour la résolution de ce problème. La détection floue peut être utilisée en conjonction avec les méthodes d'apprentissage (les réseaux de neurones artificiels) (Wernier, et al, 2000).

La contamination microbiologique de l'eau est une information que le responsable du service d'hygiène et de santé publique intègre dans le raisonnement qui le conduit à formuler une décision d'arrêter la distribution d'eau de consommation à une population ou éventuellement de détecter l'origine d'une épidémie. L'analyse microbiologique classique comporte plusieurs inconvénients cités ci avant. Le domaine de la pollution microbiologique de l'eau vise le développement d'outils informatiques pour l'aide à la détection bactérienne dans l'eau. En pratique, l'objectif est de développer des outils fournissant, d'une part des descriptions symboliques des souches bactériennes présentes dans l'eau, d'autre part les mesures de ces bactéries en vue de procéder à la prise de décision.

Plusieurs méthodes de détection bactérienne sont proposées, Bien que ces métaphores réalisent les tâches d'analyse avec un certain succès, elles présentent aussi des inconvénients. Pour pallier à ces inconvénients, la tendance actuelle est d'intégrer ces outils dans des architectures hybrides.

Le système neuro-flou combine les avantages des systèmes flous tel quel la représentation flou, et celles des réseaux de neurones, qui combinent les connaissances implicites pouvant ainsi être prises dans l'apprentissage. (Chen, et al., 2000 ; Brion, et al., 2002).

La plupart du temps, la couche d'entrée du réseau intègre une description pertinente des différents paramètres physico-chimiques résultant de la croissance bactérienne, et la couche de sortie permet d'identifier la nature de ces bactéries ainsi que leur nombre. Le réseau de neurones est calculé grâce à un algorithme d'apprentissage mis en oeuvre sur une variété d'exemples de valeurs expérimentales pour porter ensuite le processus de décision. Cependant, la non-interprétabilité des couches des réseaux de neurone dégrade ses capacités de généralisation et empêche toute tentative de modélisation de connaissances a priori acquises par un expert du domaine (laborantin).

La logique floue (Bouchon, 1995), avec ses capacités de modélisation de connaissances vagues et incertaines, a permis de surmonter cette difficulté liée à la non-interprétabilité des réseaux de neurones grâce à la modélisation des décisions prises par l'expert à l'aide de règles linguistiques. Néanmoins, l'élaboration d'un système flou demande beaucoup d'efforts dans l'ajustement des paramètres. La logique floue a été utilisée également avec les réseaux de neurones, les deux paradigmes ayant été combinés dans un système dit Réseau Neuro-Flou (RNF). Le RNF implémente le système flou par une architecture parallèle, et permet par rapport à un RN, de modéliser les règles linguistiques de décision et d'évaluer l'inférence floue par l'utilisation des neurones spécialisés (neurones flous). Il permet de réduire l'effort fourni lors de l'élaboration du système en utilisant l'apprentissage neuronal pour évaluer les paramètres du système flou.

Dans cet étude, nous présentons une stratégie d'hybridation entre les deux techniques: les réseaux de neurones et la logique floue en vue d'élaborer un système d'analyse microbiologique.

CHAPTITRE 1 : NOTIONS THEORIQUES

I. L'APPROCHE HYBRIDE

Cette partie présente des outils concernant l'aspect architectural des Réseaux Neuronaux Flous (RNF). Il s'agit, essentiellement, d'une formulation plus générale du modèle du neurone flou et de versions simplifiées de fonctions d'activation. Ainsi qu'une simplifiant la modélisation des opérations de conjonction floue, de la fuzzification non singleton et de la règle d'inférence floue. Une série de propositions (modifications, approximations, simplifications..) est justifiées par un ensemble d'illustrations, d'interprétations et de certaines considérations théoriques. L'application à la détection bactérienne présente son aspect pratique.

L'utilisation d'un RNF dans un problème de détection microbiologique offre la possibilité de modéliser des connaissances a priori et des règles linguistiques de décision obtenues par les experts du domaine. Il profite également des capacités et avantages de l'inférence floue modélisée par une architecture neuronale parallèle. Cette architecture arrive à pallier la dimension boîte noire des RN (non-interprétabilité des neurones) par l'introduction de neurones spécialisés. Ainsi, l'ajustement fin des paramètres du système flou se réalise par le biais de l'apprentissage neuronal.

I.1. CONCEPT DES ÉTATS FLOUS ET DES FONCTIONS D'APPARTENANCE

Nous pouvons utiliser un ensemble de règles qui décrivent le comportement et forment les inférences floues du système. En particulier, nous pouvons appliquer les réseaux de neurones et la méthode d'apprentissage dans un système à inférence floue.

Les systèmes neuro-flous représentent les règles (définies en termes linguistiques). Le nombre des règles qui sont données par :

$$P = \sum_i N_i$$

Avec i : nombre des entrées

N_i : le nombre des antécédents des états flous des entrées i

$$Q = \sum_i \mu_i$$

$$R = \sum_{i=1}^n \mu_i$$

L'implémentation des systèmes neuro-flous est un réseau *feed forward* avec trois couches appelées : la couche de fuzzification, la couche des règles, et la couche de déffuzification. La liaison entre les deux couches est non linéaire. La couche de fuzzification comporte deux composantes : les mesures des X_i qui sont les signaux d'entrées du système calculés à partir des antécédent sous forme des valeurs des fonctions d'appartenances $\mu_{A_{ij}}(x_i)$. La couche des règles floues calcule les règles qui indiquent quelle sont les conditions satisfaites des antécédents. A l'entrée X la règle cible le degré w $\in [0,1]$. Les calculs de la règle ciblée sont ajustés par la valeur de la fonction d'appartenance utilisée dans les règles antécédents.

Finalemt la couche de deffuzification converti les valeurs résultantes en valeurs numériques à la sortie.

I.2. IMPLICATION FLOUE CALCULÉE PAR RÉSEAU MULTICOUCHE

I.2.1. Inférence floue

La manipulation de règles et de faits flous entraîne plusieurs problèmes pratiques dont l'inférence floue (propagation des coefficients d'incertitude) :

La combinaison du coefficient d'incertitude d'une règle et celui de sa prémisse pour déterminer le coefficient d'incertitude ainsi que sa conclusion peut être illustré comme suit:

Soit la règle "S'il y a une conductivité électrique élevée alors il va y avoir un grand nombre de bactéries", qui est vrai dans 80% des cas (valeur 0.8). La conductivité est relativement élevée (à 60%, soit valeur 0.6). Quelle est la probabilité de contamination ?

De manière plus formelle, le problème de la propagation des coefficients d'incertitude (inférence floue) revient à déterminer une fonction $[g]$ telle que :

$C_i(Q) = g(C_i(P), C_i(P \rightarrow Q))$ pour toute règle $P \rightarrow Q$ du système,

avec :

$C_i(P \rightarrow Q)$ = coefficient d'incertitude de la règle $P \rightarrow Q$,

$C_i(P)$ = coefficient d'incertitude avec laquelle la condition [P] a été établie

$C_i(Q)$ = coefficient d'incertitude de la conclusion Q, à déterminer.

Dans les systèmes experts actuels, la fonction [g] est réalisée à l'aide d'une règle de calcul obtenue à partir d'un modèle mathématique d'implication floue (par exemple, l'inférence floue de Lee) ou construite par le cognicien. L'inconvénient est qu'il est difficile de garantir que le mécanisme utilisé reflète le raisonnement de l'expert. En effet, il n'existe pas de modèles mathématiques dont on serait certain qu'il traduise parfaitement la problématique du raisonnement flou humain. De plus, un modèle mathématique général est a priori indépendant de l'application et du domaine d'expertise, ce qui ne paraît pas être conforme à la réalité. L'analyse des formules utilisées montre avec certitude qu'elles comportent une bonne part d'arbitraire. Cette remarque reste valable en ce qui concerne les formules construites par le cognicien.

I.3. LES RÈGLES FLOUES

Les règles floues sont automatiquement apprises (c'est-à-dire automatiquement extraites et archivées dans une base de connaissances) par le système à partir de l'ensemble de données qui lui sont fournies. Cependant, il est aussi possible (mais non nécessaire) pour l'utilisateur d'intégrer manuellement certaines connaissances dans le système. L'insertion de connaissances peut être effectuée soit en modifiant certaines règles apprises par le système, soit en en ajoutant ou en en supprimant.

I.5. ARCHITECTURE DU PERCEPTRON

Le perceptron multicouches est paramétré selon les spécifications suivantes. Au niveau architectural, le réseau est composé d'une couche d'entrée, d'une couche cachée et d'une couche de sortie. Le nombre de neurones de la couche d'entrée correspond au nombre de variables présentes dans les patrons d'apprentissage. La couche cachée correspond aux règles floues apprises par le système. Le nombre de neurones de cette

couche est équivalent au nombre de règles. La couche de sortie correspond aux variables de sortie. Il y a donc dans cette troisième couche autant de neurones que de catégories possibles. Les ensembles flous sont représentés par les poids de connexion (flous) entre les neurones. Finalement, l'apprentissage est réalisé par rétropropagation. Cependant le perceptron multicouches peut être composé d'un réseau de neurones de type perceptron multicouches. Ce type de réseau est composé d'une couche d'entrée, d'une ou de plusieurs couches cachées et d'une couche de sortie.

II. AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS

Les avantages et les inconvénients découlant de l'utilisation de la logique floue à des fins de détection peuvent être présentés comme suit: l'utilisation de techniques hybrides neuro-floues à des fins de détection microbiologique possède de nombreux avantages. En plus de fournir des résultats, une approche hybride neuro-floue permet d'obtenir plusieurs informations utiles afin d'interpréter les résultats : des ensembles flous pour chacune des variables et un ensemble de règles nous permettant de mieux comprendre les éléments ayant servi à effectuer le processus de détection. À titre d'exemple, lors d'expérimentations préliminaires menées sur un échantillon d'eau, les paramètres prélevés sont cinq variables (Température, pH, Conductivité, Potentiel et la nature de l'eau même) préalablement catégorisés manuellement en deux catégories l'exemple d'une seule variable (« pH » et « contamination »), voici les deux règles (obtenues suite au processus d'élagage) permettant d'expliquer le processus ayant mené à la catégorisation de l'eau :

- 1) IF « pH » (en tant que variable) *est faible* [CONDITION 1]
THEN « CONTAMINATION » (en tant que catégorie) [CONCLUSION] et
- 2) IF « pH » (en tant que variable) *élevée* [CONDITION 1]
THEN « pH » (en tant que catégorie) [CONCLUSION].

À partir de ces deux règles extraites, nous sommes donc en mesure d'affirmer que la variable « pH » peut permettre à elle seule de catégoriser correctement l'échantillon de corpus sur lequel nous nous sommes attardés. Ainsi, si cette variable est fortement présente dans un document, alors il s'agit indubitablement d'un document appartenant à la catégorie « pH ». En contrepartie, si cette même variable n'y est que faiblement présente, alors le document doit être catégorisé dans la catégorie « CONTAMINATION ». Bien qu'évidentes, ces informations sont très utiles, car elles permettent à l'utilisateur d'identifier les variables importantes sur la base desquelles la catégorisation repose. Ce type d'informations n'est malheureusement pas disponible lorsque le processus de catégorisation est effectué par un simple réseau de neurones de type perceptron multicouches. En contrepartie, le chercheur qui utilisera néanmoins un réseau de neurones de type perceptron multicouches (sans aucun mécanisme de logique floue) bénéficiera à tout le moins d'un avantage non négligeable : un temps de traitement plus rapide. En effet, le temps de traitement pour effectuer la tâche de catégorisation s'avère généralement entre deux et trois fois plus court avec un perceptron multicouches qu'avec un système hybride neuro-flou. Le tableau 7 suivant présente de manière synthétique les principaux avantages d'un système hybride neuro-flou (par opposition à un réseau de neurones).

Réseaux neuronaux	Systèmes à base de logique floue
Avantages	
<ul style="list-style-type: none"> • Formalisme robuste • Plusieurs architectures possibles • Plusieurs algorithmes d'apprentissage possibles • Rapide et efficace • Permet de traiter des données bruitées 	<ul style="list-style-type: none"> • Formalisme robuste • Ne nécessite aucun modèle mathématique • Permet l'intégration de connaissances <i>a priori</i> sous forme de règles • Suivi et interprétation des processus et des résultats • Implémentation relativement facile • Permet l'extraction de règles
Inconvénients	
<ul style="list-style-type: none"> • Aucune information explicite sur la dynamique interne (boîte noire) • Ne permet pas l'extraction de règles • Requiert possiblement des phases de réapprentissage • Ne permet pas l'intégration de connaissances <i>a priori</i> • Convergence incertaine des résultats 	<ul style="list-style-type: none"> • Aucun apprentissage possible • Adaptation relativement difficile aux modifications des données • Calibrage un peu difficile et incertain • Nécessite un processus de dé-fuzzification • Sensible aux données bruitées

Tableau 7. Les principaux avantages et inconvénients des réseaux de neurones et des systèmes à base de logique floue (Nauck, 1999).

CHAPITRE 2 : TRAITEMENT DES DONNEES PAR NEURO-FLOU

I. RESEAU NEURO-FLOU PROPOSE

Le RNF de simulation est un réseau appelé «Adaptive Network Based Fuzzy Classifier». (figure 27). Le réseau comporte quatre couches. La 1^{ère} couche représente l'entrée du réseau. X_1, X_2, \dots, X_n sont les attributs caractéristiques de chaque paramètre physico-chimique résultant de la croissance bactérienne assimilés à des variables linguistiques. A travers les neurones de la première couche sont représentées dans le réseau les valeurs des attributs relatives à chaque exemple (un exemple d'apprentissage ou de généralisation représente une valeur caractéristique de la bactérie recherchée qui résulte de l'expérimentation). Les neurones de la 2^{ème} couche réalisent la première phase de l'inférence floue, encore appelée « fuzzification ». A chaque neurone d'entrée correspondent trois neurones de la deuxième couche, chargées de calculer les degrés d'appartenance des variables floues aux différents sous-ensembles flous des termes linguistiques. La fonction d'appartenance utilisée est la fonction triangulaire symétrique (figure 28).

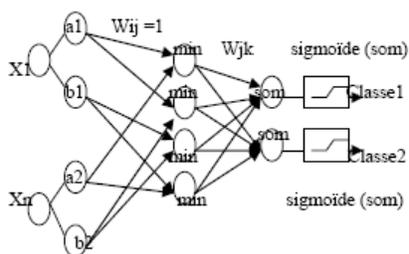


Figure 27. Architecture du Réseau RNF de Simulation

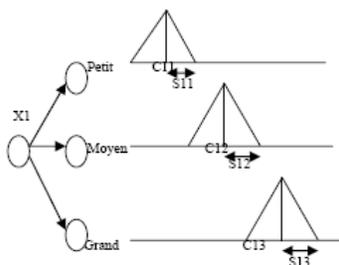


Figure 28. Fonction d'appartenance des termes linguistiques

Les neurones de la 3^{ème} couche calculent le degré de vérité des antécédents des règles floues par l'intermédiaire de la T-norme MIN. Le nombre de neurones dans cette couche est égal à la taille de la base de règles. La connexion entre la 2^{ème} et la 3^{ème} couche n'est pas totale car définie par la structure de la règle linguistique.

Les neurones de la 4^{ème} couche calculent le degré de vérité α de la règle floue. Cette opération d'agrégation des résultats est réalisée par l'opération SOM. Chaque neurone i de cette couche calcule la valeur de sortie comme suit:

$$\alpha = \sum_{j=1}^N Y_j^3 W_{ij}$$

Où Y_j^3 désigne la sortie du $j^{\text{ème}}$ neurone de la 3^{ème} couche, et w_{ij} le poids de la connexion entre le neurone j et le neurone i de la 4^{ème} couche. La valeur du poids w_{ij} représente la partie conclusion de la règle représentée par le neurone i . Il existe deux neurones seulement dans cette couche correspondant aux deux classes qui existent : eau potable ou eau contaminée pour le réseau de détection, et avec grand risque ou avec petit risque pour le réseau de spécification. La phase de défuzzification est représentée par la fonction d'activation sigmoïde appliquée aux valeurs de sortie des neurones de la 4^{ème} couche. Cette fonction donne des valeurs appartenant à l'intervalle $[0,1]$. Cette valeur permet de décider si l'exemple appartient ou non à la classe correspondante. La connexion de la dernière couche est totale.

II. TRAITEMENT DES DONNÉES PAR NEURO-FLOU:

Les données de départ sont :

II.1. PARAMÈTRES D'ENTRÉE :

- Température de l'eau (T°C)
- L'acidité de l'eau (son pH)
- La conductivité électrique de l'eau (μS)
- Le potentiel électrique de l'eau (mV)
- L'origine de l'échantillon d'eau (1 : eau de surface, 2 : eau de puits, 3 : eau usée, 4 : eau potable).

II.2. PARAMÈTRES DE SORTIE :

- Le logarithme du nombre bactérien (germe/ml)

II.3. RÉSEAU CHOISI :

- Réseau multi couche

II.4. LA FONCTION D'ACTIVATION :

- De type sigmoïde

II.5. LA CORRECTION D'ERREURS

- 500 epocs

II.6. FONCTION D'APPARTENANCE

- De type triangulaire

Les paramètres d'entrée et de sortie sont présentés sur un fichier Excel (en annexe).
Le programme fait appel à ce fichier comme source de données.

Nous avons utilisé *Matlab* pour le traitement des données. L'architecture globale du programme est :

III. ARCHITECTURE DU PROGRAMME

```

lear all
close all
A = XLSREAD('book5');
A1=A(1:2:end,:);
A2=A(2:2:end,:);
% the following command chose the number of linguistic variables
%(e.g small..etc) on each input feature (they do not have to be the same)
nummfs=[3 3 3 4];          % les fonctions de transfert au nombre de 4 chaque fonction avec ses trois intervalles et la dernière
avec 4 intervalles
%The following command selects the shape of the membership functions. bell shape in this case)
mftype=str2mat('gbellmf','gbellmf','gbellmf','gbellmf');
%The following command prepare the data for ANFIS (WHAT DATA, # OF
%LINGUISTIC VARIABLES AND THEIR SHAPE TYPE)
fismat=genfis1(A2,nummfs,mftype);
% Starting the training:
% =====
numepochs=500;
%This command is to train
fismat1=anfis(A2,fismat,numepochs);
% Verification of learning results:
% =====
% START WITH EVALUATING THE DATA WE TRAINED IT ON
trnout1=evalfis(A2(:,1:4),fismat1);
%Then evaluate the images which have not been seen
out1=evalfis(A1(:,1:4),fismat1);
plot(out1, '*')
hold
plot(A2(:,5),'s')
%%%%%%%%%%%%%%

```

Le résultat après training, est présenté sur la figure 29. Les eaux usées comportent évidemment le plus grand taux de germe / ml, elle est par conséquent contaminée de nature. Vient après par ordre de contamination les eaux de surface, puis les eaux souterraines et en dernier lieu les eaux du robinet dites potables.

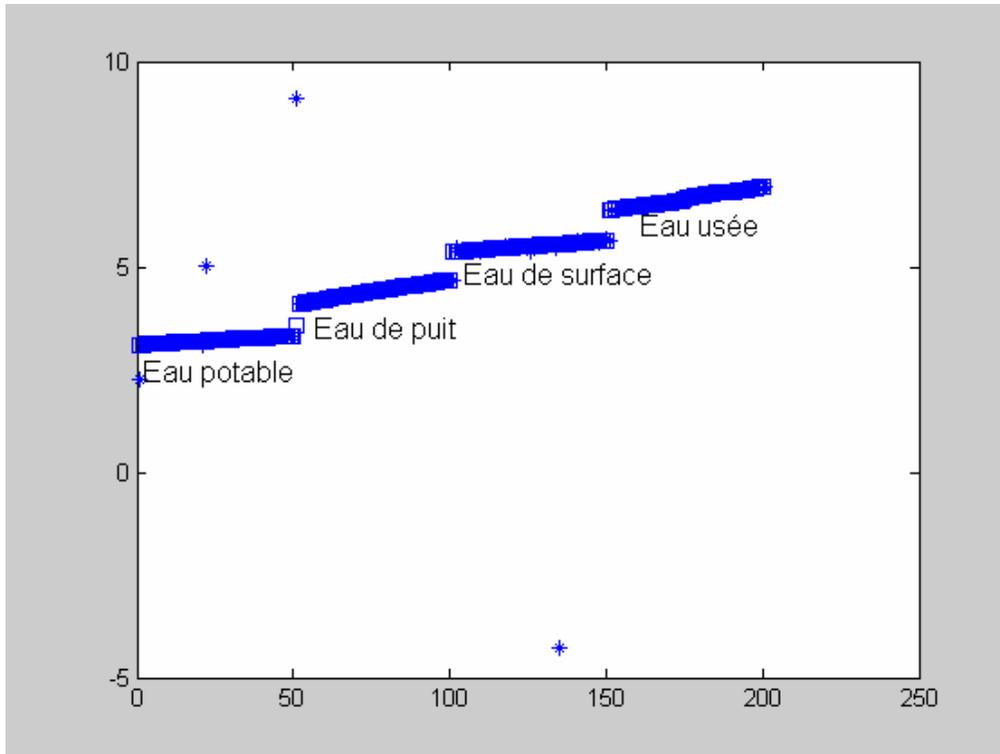


Figure. 29: La variation du nombre bactérien dans différentes variétés d'eaux. Les valeurs testées se confondent totalement avec les valeurs d'apprentissage.

RÉSULTAT ET DISCUSSION

Les résultats obtenus des valeurs d'essai se confondent parfaitement avec les valeurs d'apprentissage introduites en entrée des paramètres physico-chimiques. Les valeurs qui n'appartiennent pas au domaine du test sont négligeables. Le nombre d'itération comme correction d'erreurs en apprentissage est de 500. En augmentant ce nombre, cela donnera une coïncidence parfaite. Le système neuro-flou démontre que la sortie en nombre bactérien correspond à toute variation des paramètres d'entrée. Le résultat du programme est exprimé en terme symbolique et numérique de la présence bactérienne dans l'eau utilisant des entrées dont les signaux sont recueillis par des capteurs. La sortie est située dans l'univers de discours (saine, risquée, contaminée). Si le nombre bactérien est aux alentours de 5 ($\text{Log } N=5$), l'eau est considérée risquée, si cette valeur est inférieure à 4, l'eau est considérée comme saine, si cette valeur est supérieure à 6, l'eau est considérée comme étant très contaminée.

CONCLUSION

Cette étude propose un système de détection microbiologique basé sur l'hybridation des réseaux de neurones et de la logique floue.

Les réseaux de neurones avec leurs capacités à s'adapter à des situations inconnues par le biais de l'apprentissage, et la logique floue avec sa capacité de modélisation de connaissances imprécises et gestion de l'incertitude ont été combinés dans un système appelé réseau neuro-flou. Cette hybridation a pu remédier aux problèmes liés à l'apprentissage par descente de gradient notamment l'initialisation aléatoire, la modélisation de connaissances et la gestion de décisions floues.

Face à la lenteur des résultats des tests classiques obtenus par les méthodes suivies jusqu'alors, ainsi que la nature non numérique des connaissances en jeu dans le domaine de l'interprétation résultats, l'utilisation de l'inférence floue a été bénéfique et a simplifié l'élaboration de l'architecture du RNF.

L'algorithme d'apprentissage hybride permet de palier les inconvénients de l'algorithme d'apprentissage classique des RN, souvent piégé par des minima locaux. Le temps d'exécution de la phase d'apprentissage a été réduit. Cette réduction est due à l'amélioration de la complexité de l'architecture du RNF, qui devient ainsi une transcription directe de la base de règles du système flou sur une architecture neuronale parallèle. Avec cette hybridation, le système d'interprétation proposé a permis de progresser dans cette détection.

Le détecteur microbiologique est utilisé pour limiter les manipulations des opérateurs de laboratoires ainsi que pour le gain du temps. Les paramètres physico-chimiques sur lesquelles nous travaillons, ne sont pas dans la possibilité de donner une affirmation définitive sur la contamination de l'eau. Cependant, leur utilisation se trouve parfaitement adéquate dans les cas des urgences épidémiologique. Dans le but de disposer d'un outil de tests rapides de la contamination microbiologique dans les cas d'extrêmes. Nous considérons que le détecteur proposé offre un résultat adéquat. En plus de son temps de réponse. Cet outil offre la possibilité de variation des paramètres d'entrées et la

lecture directe et instantanée de la contamination microbiologique de l'eau en terme symbolique et numérique.

Cet outil, peut donc trouver son application optimale dans les situations des urgences épidémiologiques comme outil de prévention, dans l'attente de la confirmation des tests par les méthodes classiques d'analyse.

CONCLUSION GENERALE

Les méthodes classiques de détection bactérienne se distinguent par leur précision et leur fiabilité ce qui a leur valu leur homologation par les instances internationales de santé publique. Cependant, Ces mêmes méthodes se caractérisent par leur lenteur. En raison de l'intensification des contrôles sanitaire, il devient nécessaire de disposer d'un outil à la disposition des instances de santé publique nécessitent des interventions rapides et sur les lieux même de consommation des eaux.

Des méthodes indirectes de détection alternatives qui sont proposées ont de leur tour des inconvénients soit de coût ou de manque de précision. Parmi ces méthodes celles qui utilisent la variation de l'un des paramètres physico-chimiques accompagnant la croissance bactérienne. Malgré plusieurs efforts, à l'échelle mondiale, ces auteurs n'arrivent pas encore à s'imposer dans le domaine des analyses microbiologiques et continuent à trouver une opposition farouche de la part des microbiologistes dans ce domaine.

Dans ce domaine, nous avons proposé une méthodologie nouvelle par sa précision, car elle utilise plusieurs paramètres physico-chimiques combinés à la fois. Cela sans doute participe amplement à l'approche de la fiabilité exigée. Mais comme les résultats obtenus des tests microbiologiques et physico-chimique s'avèrent incertains vu la complexité de l'environnement, nous avons proposé un outil d'analyse et de traitement de ces données par des techniques d'intelligence artificielle notamment la logique floue, les réseaux de neurones artificielles et les systèmes neuro-flous.

Comme la logique floue traite du domaine de l'incertain, son application s'avère alors adéquate dans ce domaine. Le système à logique flou proposé traite les données de départ comme des variables floues ou variables linguistiques. Les variables d'entrée résultant de la croissance bactérienne (Température, pH, conductivité électrique, potentiel électrique et l'origine de l'eau). Le traitement des données s'effectue suivant des règles pré établies à partir résultats expérimentaux de la forme (si...alors...). L'utilisation du Matlab 6.5 a permis la lecture directe et instantanée de la variable de sortie en terme

numérique (nombre de germes /ml). Cette valeur peut être attribuée à l'univers de discours de la variable de sortie pour une affectation symbolique (eau saine, eau risquée et eau contaminée).

Nous jugeons aussi que le traitement de ces données par réseaux de neurones artificiels donne des résultats satisfaisants. Le système proposé est constitué de trois couches. Une couche d'entrée des variables, une couche cachée et une couche de sortie traduisant le résultat en nombre bactérien. 1000 tests effectués expérimentalement (500 valeurs des différents paramètres sont introduites à titre d'apprentissage et 500 valeurs à titre de test) les résultats obtenus confirment que les valeurs tests se confondent parfaitement avec les valeurs d'essais.

Comme synthèse d'analyse des données, nous proposons un système neuro-flou. La combinaison de ces deux outils permettra d'arriver à répondre à la contamination des eaux de consommation en terme qualitatif et quantitatif.

Les réseaux de neurones avec leurs capacités à s'adapter à des situations inconnues par le biais de l'apprentissage, et la logique floue avec sa capacité de modélisation de connaissances imprécises et gestion de l'incertitude ont été combinés dans un système appelé réseau neuro-flou. Cette hybridation a pu remédier aux problèmes liés à l'apprentissage par descente de gradient notamment l'initialisation aléatoire, la modélisation de connaissances et la gestion de décisions floues. Les résultats obtenus par le biais de cette méthode démontrent bien la concordance des valeurs tests avec les valeurs d'apprentissage.

Les résultats d'analyse par cet outil, seront instantanés et fiables. Par cela nous espérons résoudre le paradoxe posé jusqu'aujourd'hui dans le domaine des analyses microbiologiques des eaux de consommation.

A la limite, nous pouvons considérer cet outil comme un système préventif jusqu'à la confirmation par les méthodes classiques en terme de santé publique notamment dans les cas des urgences épidémiologiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

APHA, AWWA, AEF., (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater , 20th edn. Washington, DC.

APHA. (1989). Standard method for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. 15th (ed.). Washington, D.C. 5, Pp: 91-94.

AFNOR (Association Française de Normalisation). (1990). Eaux - méthodes d'essais. Recueil de Normes Françaises, 4th ed. La Défense, Paris, p : 735.

AFNOR (Agence française de normalisation). (2001). Eaux - méthodes d'essais. Recueil de normes françaises. 6th edition. Paris, la Défense, France, 695 pages.

Anonyme (2001). Flore buccale et microbiologie des maladies parodontales

Avril, J.L. ; Abernat, M. ; Denis, F. and Montiel. (1992). Bactériologie clinique. 2ème édition. Paris. p :162.

Bej, A.K.; Steffan, R.J.; DiCesare, J.; Haff, L.; Atlas, R.M. (1990). Detection of coliform bacteria in water by polymerase chain reaction and gene probes. Appl. Environ. Microbiol. 56, pp: 307–314.

Bouchanan R.L., Stahi H.G., and Whiting R.C. (1989). Effects and inactivation of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride, and sodium nitrate on the growth of *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 32: 844-851.

Brenner, K.P.; Rankin, C.C. ; Roybal, Y.R.; Stelma, G.N.; Scarpino, P.V.; Dufour, A. (1993). New medium for the simultaneous detection of total coliforms and *Escherichia coli* in water. Appl. Environ. Microbiol. 59, Pp: 3534– 3544.

Brion, G.M., Neelakantan, T.R., Lingireddy, S. (2002). A neural-network-based classification scheme for sorting sources and ages of fecal contamination in water. Water research, 36:3765-3774.

Burtscher, C.; Fall, P.A.; Wilderer, P.A.; Wuertz, S. (1999). Detection of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in suspended organic waste by nucleic acid extraction and PCR. Appl. Environ. Microbiol. 65, Pp: 2235– 2237.

Bütle, M.; Reuter. G. (1989). Glucuronidase-Nachweis und indol- Kapillartest als zuverlässige schnellidentifizierungsverfahren zue erfassung von *E. coli* in lebensmitteln-toxinogene stämme eingeschlossen. Zentralbl. Hygiene B 188, Pp: 284– 293.

Cerf O., Davey K.R., and Sadoudi A.K. (1996). Thermal inactivation of bacteria. A new predictive model for the combined effects of three environmental factors temperature, pH, and water activity. Food Research International, 29:219-226.

Chen D.G., Haregreaves N.B., Ware D.M., and Liu Y. (2000). A Fuzzy logic model with genetic algorithm for analyzing fish stock-recruitment relationships. *Can J. Fish. Aquat. Sci.*, 57:1878-1887.

Cox, D.C., Freeman, L.C.G. (1990). «Managing the Development of a New Mine Project». *IMinE*. Vol. , pp. 277-283.

Dahlen, G.; Linde, A. (1973). Screening plate method for detection of bacterial b-glucuronidase. *Appl. Microbiol.* 26, Pp: 863– 866.

Davey K.R., Daughtry B.J. (1995). Validation of a model for predicting the combined effect of three environmental factors on both exponential and log phase of bacterial growth: temperature, salt concentration, and pH. *Food Research International*, 28:233-237.

Dewettnick, T. ; Van Hee, K. ; Verstraete, W. (2001). Development of a rapid pH-based biosensor to monitor and control the hygienic quality of reclaimed domestic wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 62, Pp: 809-815.

Domach, M.M. (1984). Computer method for glucose limited growth of a single cell of *E. coli*. *B.P.A. Biotechnol. Bioeng.* 26, Pp : 203-216.

Dubois, D. and Prade, H. (1987). *Théorie des Possibilités*. Masson. Paris. France, 2ème édition.

Edberg, S.C.; Kontnick, C.M. (1986). Comparison of b-glucuronidase-based substrate systems for identification of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 24, Pp 368– 371.

Evans, T.M. ; Waarvick, C.E.; Seidler, R.J. et LeChevallier, M.W. (1981a). Failure of the most probable number technique to detect coliforms in drinking water and raw water supplies. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, Pp: 130-138.

Evans, D.J.; Evans, D.G. (1983). Classification of pathogenic *E. Coli* according to serotype and the production of virulence factor with special reference to colonization factors antigen. *Rev. Infect. Dis.* 5, Pp : 692-701.

Fasquelle. (1974). *Eléments de Bactériologie médiale*. Flammarion. (ed.). Paris, p : 137.

Feng, P.C.S.; Hartman, P.A. (1982). Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, Pp: 1320–1329.

Grabow, W.O.K. ; du Preez, M. (1979). Comparison of m-Endo LES, MacConkey, and Teepol media for membrane filtration counting of total coliform bacteria in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 38, Pp: 351– 358.

Geldreich, E. E. et Kennedy, H. (1982). The cast of microbial monitoring. In: W.U. Pipes, (ed.). J. Water Poll. Cont. 54, Pp: 931-941.

George, I.; Petit, M. ; Servais, P. (2000). Use of enzymatic methods for rapid enumeration of coliforms in freshwaters. Journal of Applied Microbiology 88(3): 404-413.

George, I. et Servais, P. (2002). Sources et dynamique des coliformes dans le bassin de la Seine. Rapport de synthèse. Programme PIREN Seine. Février 2002.

Gérald, H., (2004). logique_floue. EIAJ / GHU Pp : 20.

Guiraud, J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. Edition Dunod-Paris. p. 672.

Hardy, D.; Kraeger, S.J.; Dufour, S.W. and Cady, P. (1977). Rapid detection of microbial contamination in frozen vegetables by automated impedance measurements. Appl Environ Microbiol.; 34(1), Pp: 14-17

Hadley, W.K.; Senyk, G. (1975). Early detection of microbial metabolism and growth by measurement of electrical impedance. In microbiology 1975, edited by O Schlessinger, American Society for Microbiology, Washington, DC, Pp 12-21.

Hazen, T. (1978). Faecal coliforms as indicators in tropical water. Toxicity assessment. Ann. Int. J.3. Pp:461-477.

Heid, C.A.; Stevens, J.; Livak, K.J.; Williams, P.M. (1996). Real time quantitative PCR. Genome Res. 6, p: 986.

Kaspar, C.W.; Hartman, P.A.; Benson, A.K. (1987). Coagglutination and enzyme capture tests for detection of E. coli *β*-galactosidase, *β*-glucuronidase, and glutamate decarboxylase. Appl. Environ. Microbiol. 53, Pp: 1073–1077.

Kilian, M.; Bulow, P. (1976). Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae: Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B. 84, Pp: 245– 251.

Kosko, B. (1992). Neural Networks and Fuzzy Systems: A Dynamical Systems Approach to Machine Intelligence. Englewood Cliffs, Nj: Prentice-Hall.

Landolt, O., Marchal, P. et Vittoz, E. (CSEM) : divers articles dont certains en cours de publication

LeChevallier, M.W. et McFeters, G.A. (1985). Interactions between heterotrophic plate count bacteria and coliform organisms. Appl. Environ. Microbiol., 49, Pp : 1338-1341.

Leclerc, H. (1981). Les bio-indicateurs bactériens de santé publique en milieu aquatique. In : Dynamique des populations et qualité de l'eau. Gauthier-villars. (ed), Hoestland. Paris. 2, Pp : 18-52.

Leclerc, H. ; Mossel, D.D. (1989a). Microbiologie du tube digestif, l'eau et les aliments. Doin (ed.), Paris, p. 99.

Martin, S.B. and Selby, J. (1980). Evaluation of a rapid method for the quantitative estimation of coliforms in meat by impedimetric procedures. Appl. Env. Microbiol. p.524.

Meyer, A.; Diana, J.; Leclerc, H. (2000). Cours de microbiologie générale, nouveau programme. Edition Doin-France, P. 365.

Meynell, G.G.; Meynell, E. (1970). Theory and practice in experimental bacteriology. Cambridge University Press, Cambridge.

Oteng, K. ; Kyyang. (1984). Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Doin. (ed.). Lyon. p : 25.

OMS (1971). Normes internationales pour l'eau de boisson. 3e édition. Organisation mondiale de la santé, Genève.

Rice, E.W.; Fox K.R.; Nash, H.D.; Read, E.J.; Smith, A.P. (1987). Comparison of media for recovery of total coliform bacteria from chemically treated water. Appl. Environ. Microbiol. 53, Pp : 1571–1573.

Richard, C. (1989). Nouvelles Enterobacteriaceae rencontrées en bactériologie médicale : Moellerella ; Koserella ; Lecledia ; Escerichia ; Enterobacter ; Rahnella. Ann. Biol. Clin., A.B.C. Lai. (ed.), Paris, 47, Pp. 231-236.

Rodier, J. (1984). L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduelles, eaux de mer. Chimie et Biologie. Dunod. (ed.). Paris, p : 901.

Rompré, A. et al., (2002). Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. Journal of Microbiological Methods. 49, p: 31-54.

Seidler, R.J. ; Evans, T.M. ; Kaufman, J.R. ; Warwick, C.E. ; Le Chevalier, M.W. (1981). Limitations of standard coliform enumeration techniques. J. AWWA 73, Pp: 538-542.

Shen, Z. (1993). Book Review "Fuzzy Sets and Applications: Selected Papers by Zadeh. Artificial Intelligence, 61: 351-358.

Silverman, M.P. and Munoz, E.F. (1979). Automated electrical impedance technique for rapid enumeration of fecal coliforms in effluents from sewage treatment plants. Appl Environ Microbiol. 37(3), Pp: 521–526.

Simpson, P.K. (1989). Artificial Neural Systems. Pergmon Press Elmsford, New York

Trevors, J.T.; van Elsas, J.D. (1995). In: Trevors, J.T. van Elsas, J.D. (Eds.), Nucleic Acids in the Environment. Springer-Verlag, New York, USA.

Watkins, W.D.; Rippey, S.R.; Clavet, C.R.; Kelley-Reitz, D.J.; Burkhardt, W. (1988). Novel compound for identifying *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, Pp: 1874– 1875.

Ur, A. and Brown, D.F. (1975). impedance monitoring of bacterial activity. *The Journal of Medical Microbiology*, by Society for General Microbiology. 8 (1), pp: 19-28.

Wilikin, J.R. ; Boylin, E.H. (1976). Electrochemical method for early detection and monitoring of coliforms in water. *J. Am. Wks. Ass.* 68, Pp: 257-263.

Waage, A.S. , Vardund, T.; Lund, V.; Kapperud, G. (1999a). Detection of low numbers of *Salmonella* in environmental water, sewage and food samples by a nested polymerase chain reaction assay. *J. Appl. Microbiol.* 87 (3), Pp: 418–428.

Waage, A.S.; Vardund, T.; V. Lund.; Kapperud, G. (1999b). Detection of low numbers of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in environmental water and sewage samples by nested polymerase chain reaction. *J. Appl. Microbiol.* 87, Pp: 814–821.

Yamada, T., and Yabuta, T. (1992). Neural Network Controller Using Autotuning Method for Nonlinear Functions. *IEEE Trans. neural net.*, vol. 3, No.4, July 1992.

Zadeh, L. A. (1965). Fuzzy sets. *Information and Control.* 8:338-353..

Zafary, Y. ; Martin, W.J. (1977). Comparison of the bactometer microbial monitoring system with conventional methods for detection of micro organisms in urine specimen. *J. Clin. Microbiol.* 5, Pp: 545-547.

Figures :

Figure 1 : Aspect morphologique de l'*Escherichia Coli*. (Natural Resources Research Institute, University of Minnesota; USA).

Figure 2 : Aspect morphologique des colonies d'*Escherichia Coli*. (Natural Resources Research Institute, University of Minnesota; USA).

Figure 3 : représentation des variables suivant la logique binaire

Figure 4 : représentation des variables suivant la logique floue

Figure 5. Représentation des maximums des fonctions d'appartenances

Figure 6. Représentation d'une fonction d'appartenance

Figure 7. Le degré d'appartenance et les intervalles flous

Figure 8. Illustration des raisonnements par mini-max

Figure 9. Représentation graphique de la méthode du centre de gravité

Figure 10. Représentation d'un afficheur flou

Figure 11. Représentation structurelle d'un afficheur flou

Figure 12. Structure du système flou avec cinq entrées et une sortie

Figure 13. Fuzzification de la température en trois intervalles flous

Figure 14. Fuzzification de l'acidité de l'eau en trois intervalles flous

Figure 15. Fuzzification de la conductivité électrique de l'eau en trois intervalles flous

Figure 16. Fuzzification du potentiel électrique de l'eau en trois intervalles flous

Figure 17. Affectation des valeurs non floues correspondant aux variétés des échantillons

Figure 18. Fuzzification du nombre bactérien mesuré dans l'eau

Figure 19.: Fuzzification du nombre bactérien mesuré dans l'eau

Figure 20. Schématisation d'un réseau de neurones multi couches

Figure 21. Structure d'un réseau de neurones avec (n) entrées et une sortie

Figure 22. Les différentes fonctions d'activation

Figure 23. Classification des réseaux de neurones en réseaux 'feed-forward' et 'feed-back'.

Figure 24. L'affichage du logarithme du nombre bactérien en fonction des paramètres physico-chimiques à l'entrée du système passant par une couche cachée.

Figure 25. Schématisation du système de correction d'erreur lors de l'apprentissage du réseau.

Figure 26. La variation du nombre bactérien dans différentes variétés d'eaux. Les valeurs testées se confondent parfaitement avec les valeurs d'apprentissage.

Figure 27. Architecture du Réseau RNF de Simulation

Figure 28. Fonction d'appartenance des termes linguistiques

Figure 29: La variation du nombre bactérien dans différentes variétés d'eaux. Les valeurs testées se confondent totalement avec les valeurs d'apprentissage.

Tableaux :

Tableau -1 : Les différentes bactéries avec les maladies qu'elles engendrent.

Tableau 2 : Les différentes valeurs du pH favorables à la croissance des bactéries pathogènes

Tableau 3 : Le logarithme du nombre bactérien en correspondance avec les paramètres physico-chimiques de chaque variété d'eau.

Tableau 4. Représentation des maximums des intervalles flous

Tableau 6. Représentation des opérateurs flous

Tableau 7. Les principaux avantages et inconvénients des réseaux de neurones et des systèmes à base de logique floue (Nauck, 1999).

Annexe

Log N	T°C	pH	Pot. (mV)	Cond (µS)	Origin						
						4,16	35	8,06	0,58	2,13	3
						4,16	25	8,05	0,59	2,13	3
4,8	15	8,45	0,85	3,01	1	4,17	24	8,04	0,58	2,14	3
4,81	22	8,45	0,85	3,01	1	4,18	26	8,03	0,59	2,14	3
4,84	18	8,44	0,84	3,02	1	4,18	32	8,02	0,58	2,14	3
4,85	12	8,43	0,84	3,02	1	4,18	35	8,02	0,57	2,13	3
4,86	17	8,43	0,83	3,03	1	4,19	25	8,01	0,57	2,14	3
4,88	20	8,42	0,83	3,03	1	4,2	24	8,01	0,57	2,15	3
4,9	14	8,42	0,84	3,04	1	4,21	26	8	0,56	2,15	3
4,91	15	8,41	0,84	3,05	1	4,21	24	8	0,56	2,15	3
4,92	18	8,42	0,83	3,04	1	4,21	28	7,99	0,54	2,15	3
4,94	10	8,41	0,83	3,05	1	4,23	26	7,98	0,55	2,14	3
4,94	13	8,41	0,82	3,06	1	4,24	21	7,98	0,55	2,15	3
4,95	17	8,4	0,81	3,06	1	4,25	20	7,97	0,55	2,15	3
4,98	16	8,4	0,81	3,07	1	4,25	16	7,96	0,54	2,16	3
4,98	15	8,39	0,81	3,08	1	4,26	19	7,96	0,54	2,16	3
4,99	12	8,39	0,8	3,09	1	4,26	14	7,95	0,53	2,16	3
4,99	24	8,38	0,79	3,1	1	4,26	15	7,95	0,53	2,16	3
5,1	16	8,38	0,8	3,1	1	4,27	12	7,94	0,53	2,17	3
5,12	15	8,37	0,79	3,11	1	4,28	23	7,94	0,52	2,17	3
5,12	12	8,36	0,78	3,12	1	4,28	21	7,93	0,52	2,17	3
5,13	16	8,36	0,79	3,12	1	4,29	20	7,92	0,51	2,18	3
5,13	24	8,35	0,79	3,13	1	4,29	12	7,92	0,51	2,18	3
5,14	28	8,35	0,77	3,13	1	4,3	25	7,91	0,5	2,18	3
5,14	31	8,34	0,77	3,12	1	4,3	26	7,91	0,5	2,18	3
5,15	25	8,33	0,76	3,14	1	4,31	24	7,9	0,49	2,19	3
5,16	24	8,32	0,77	3,14	1	4,31	23	7,9	0,49	2,18	3
5,17	26	8,32	0,76	3,14	1	4,32	15	7,89	0,49	2,18	3
5,18	24	8,31	0,75	3,15	1	4,32	18	7,89	0,49	2,19	3
5,19	29	8,3	0,76	3,16	1	4,33	17	7,88	0,48	2,19	3
5,19	24	8,3	0,77	3,16	1	4,34	19	7,87	0,48	2,19	3
5,2	26	8,29	0,77	3,17	1	4,35	39	7,87	0,48	2,2	3
5,2	25	8,29	0,76	3,17	1	4,35	34	7,86	0,47	2,21	3
5,22	24	8,28	0,75	3,19	1	4,36	35	7,86	0,47	2,21	3
5,23	26	8,27	0,75	3,18	1	4,37	35	7,85	0,47	2,21	3
5,24	24	8,27	0,74	3,18	1	4,38	35	7,85	0,46	2,22	3
5,25	28	8,26	0,74	3,19	1	4,38	32	7,84	0,46	2,22	3
5,25	15	8,26	0,74	3,2	1	4,39	21	7,84	0,45	2,23	3
5,26	26	8,25	0,72	3,2	1	4,39	35	7,83	0,45	2,22	3
5,27	24	8,25	0,73	3,2	1	4,4	26	7,83	0,45	2,23	3
5,28	15	8,25	0,74	3,2	1	4,41	24	7,82	0,44	2,23	3
5,29	12	8,24	0,73	3,21	1	4,41	21	7,82	0,44	2,24	3
5,3	24	8,24	0,73	3,22	1	4,42	20	7,81	0,44	2,24	3
5,31	12	8,23	0,72	3,23	1	4,42	16	7,8	0,44	2,23	3
5,32	28	8,22	0,72	3,24		4,43	18	7,8	0,43	2,24	3
5,33	26	8,21	0,71	3,24	1	4,43	32	7,79	0,43	2,25	3
5,34	16	8,21	0,71	3,24	1	4,44	17	7,79	0,42	2,25	3
5,35	17	8,2	0,7	3,25	1	4,45	23	7,78	0,42	2,25	3
5,36	19	8,2	0,7	3,25	1	4,45	19	7,78	0,42	2,25	3
5,37	20	8,19	0,69	3,26	1	4,46	32	7,77	0,41	2,25	3
5,38	25	8,19	0,71	3,25	1	4,47	12	7,76	0,41	2,26	3
5,39	24	8,18	0,7	3,26	1	4,47	14	7,75	0,4	2,25	3
5,4	26	8,18	0,69	3,26	1	4,48	15	7,75	0,4	2,26	3
5,41	28	8,17	0,69	3,27	1	4,47	13	7,76	0,41	2,27	3
5,42	28	8,17	0,68	3,28	1	4,49	21	7,74	0,4	2,26	3
5,43	26	8,16	0,69	3,29	1						

5,43	24	8,15	0,68	3,28	1	4,51	18	7,73	0,39	2,27	3
5,44	26	8,14	0,67	3,28	1	4,51	14	7,72	0,38	2,27	3
5,44	24	8,14	0,68	3,3	1	4,51	11	7,71	0,38	2,28	3
5,45	26	8,14	0,69	3,31	1	4,51	21	7,71	0,37	2,28	3
5,46	24	8,13	0,68	3,32	1	4,52	12	7,7	0,37	2,29	3
5,47	16	8,13	0,67	3,32	1	4,52	12	7,69	0,37	2,3	3
5,48	15	8,14	0,67	3,31	1	4,52	35	7,69	0,36	2,3	3
5,49	25	8,12	0,66	3,33	1	4,53	25	7,68	0,36	2,31	3
5,5	16	8,12	0,66	3,33	1	4,54	29	7,68	0,36	2,31	3
5,51	21	8,13	0,65	3,34	1	4,54	26	7,67	0,36	2,32	3
5,51	19	8,11	0,65	3,35	1	4,55	34	7,67	0,35	2,32	3
5,52	20	8,11	0,65	3,35	1	4,55	23	7,66	0,35	2,33	3
5,53	18	8,1	0,64	3,36	1	4,56	32	7,65	0,34	2,34	3
5,54	16	8,09	0,64	3,36	1	4,57	35	7,65	0,34	2,34	3
5,54	25	8,19	0,63	3,35	1	4,57	23	7,64	0,34	2,35	3
5,54	24	8,1	0,64	3,35	1	4,58	32	7,63	0,34	2,35	3
5,55	26	8,08	0,63	3,37	1	4,58	38	7,62	0,33	2,36	3
5,55	16	8,08	0,63	3,38	1	4,59	25	7,62	0,33	2,36	3
5,56	15	8,07	0,62	3,38	1	4,59	13	7,62	0,33	2,37	3
5,57	13	8,06	0,62	3,38	1	4,6	24	7,61	0,33	2,37	3
5,58	12	8,07	0,62	3,39	1	4,6	29	7,6	0,32	2,38	3
5,59	14	8,06	0,62	3,39	1	4,61	26	7,6	0,32	2,38	3
5,6	28	8,05	0,62	3,4	1	4,62	34	7,6	0,31	2,39	3
5,61	19	8,05	0,63	3,4	1	4,62	23	7,59	0,31	2,4	3
5,62	19	8,04	0,63	3,4	1	4,63	32	7,59	0,3	2,41	3
5,63	22	8,03	0,62	3,41	1	4,64	35	7,58	0,3	2,41	3
5,63	23	8,03	0,62	3,41	1	4,64	23	7,58	0,3	2,42	3
5,64	23	8,02	0,61	3,42	1	4,65	32	7,57	0,29	2,42	3
5,64	25	8,01	0,6	3,42	1	4,66	38	7,57	0,29	2,43	3
5,65	24	8,01	0,6	3,43	1	4,67	34	7,56	0,28	2,44	3
5,65	23	8	0,59	3,44	1	4,67	39	7,55	0,28	2,45	3
5,66	25	8	0,59	3,45	1	4,67	34	7,54	0,28	2,45	3
5,66	18	8,01	0,59	3,45	1	4,68	35	7,53	0,28	2,46	3
5,68	28	7,99	0,58	3,46	1	4,68	35	7,52	0,27	2,46	3
5,69	24	7,98	0,58	3,46	1	4,69	35	7,51	0,27	2,47	3
5,7	26	7,97	0,58	3,47	1	4,7	32	7,51	0,26	2,47	3
5,71	25	7,97	0,58	3,48	1	4,71	21	7,5	0,26	2,48	3
5,72	28	7,96	0,57	3,48	1	4,71	35	7,5	0,27	2,48	3
5,73	29	7,96	0,57	3,48	1	4,71	26	7,49	0,27	2,49	3
5,73	27	7,95	0,56	3,49	1	4,72	24	7,48	0,26	2,49	3
5,73	23	7,95	0,55	3,5	1	4,73	21	7,47	0,26	2,49	3
5,74	24	7,94	0,56	3,49	1	4,74	20	7,47	0,27	2,51	3
5,74	26	7,94	0,56	3,5	1	4,74	16	7,47	0,27	2,52	3
5,75	21	7,93	0,55	3,51	1	4,75	18	7,46	0,26	2,52	3
5,76	25	7,93	0,55	3,52	1	4,75	32	7,45	0,26	2,53	3
5,76	26	7,92	0,56	3,52	1	4,76	17	7,45	0,27	2,53	3
5,76	22	7,92	0,56	3,53	1	4,76	23	7,45	0,26	2,54	3
5,76	20	7,91	0,55	3,51	1	4,77	19	7,44	0,25	2,54	3
5,77	21	7,9	0,54	3,54	1	4,77	32	7,43	0,25	2,54	3
5,78	20	7,9	0,54	3,55	1	4,78	12	7,42	0,25	2,55	3
5,78	21	7,9	0,53	3,55	1	4,79	14	7,42	0,26	2,55	3
5,79	20	7,89	0,52	3,56	1	4,8	15	7,42	0,26	2,56	3
5,81	18	7,89	0,52	3,56	1	4,8	21	7,41	0,25	2,56	3
5,82	19	7,88	0,51	3,57	1	4,81	16	7,4	0,24	2,56	3
5,83	24	7,87	0,5	3,57	1						

5,84	17	7,86	0,5	3,58	1	4,83	14	7,39	0,25	2,58	3
5,84	16	7,85	0,49	3,58	1	4,84	11	7,38	0,24	2,58	3
5,85	18	7,84	0,48	3,59	1	4,85	21	7,38	0,23	2,59	3
5,85	25	7,83	0,48	3,6	1	4,85	12	7,37	0,24	2,59	3
5,86	21	7,82	0,47	3,6	1	4,86	12	7,37	0,22	2,59	3
5,88	20	7,81	0,47	3,61	1	4,87	35	7,36	0,23	2,68	3
5,89	16	7,8	0,47	3,62	1	4,87	25	7,36	0,23	2,68	3
5,9	19	7,8	0,46	3,62	1	4,88	29	7,35	0,23	2,61	3
5,9	14	7,79	0,47	3,63	1	4,89	12	7,34	0,23	2,62	3
5,91	15	7,78	0,46	3,62	1	4,9	24	7,34	0,22	2,62	3
5,91	18	7,77	0,45	3,63	1	4,91	10	7,33	0,22	2,63	3
5,92	16	7,76	0,45	3,63	1	4,91	18	7,32	0,21	2,63	3
5,92	25	7,75	0,46	3,61	1	4,92	14	7,32	0,21	2,64	3
5,92	29	7,75	0,45	3,62	1	4,93	26	7,31	0,2	2,64	3
5,93	35	7,74	0,45	3,62	1	4,94	24	7,31	0,2	2,65	3
5,94	23	7,74	0,44	3,63	1	4,95	14	7,3	0,2	2,65	3
5,95	34	7,73	0,44	3,63	1	4,95	15	7,3	0,19	2,65	3
5,95	36	7,72	0,43	3,64	1	4,96	18	7,3	0,19	2,66	3
5,96	32	7,71	0,44	3,64	1	4,97	16	7,29	0,18	2,67	3
5,97	32	7,7	0,43	3,65	1	4,98	25	7,29	0,18	2,67	3
5,98	32	7,69	0,44	3,65	1	4,98	29	7,28	0,18	2,68	3
5,99	35	7,68	0,44	3,66	1	4,99	23	7,28	0,17	2,68	3
6	31	7,68	0,43	3,67	1	4,99	34	7,27	0,17	2,69	3
6,1	21	7,67	0,42	3,68	1	5	36	7,27	0,16	2,69	3
6,11	24	7,66	0,42	3,68	1	5,1	32	7,26	0,16	2,71	3
6,12	26	7,65	0,42	3,69	1	5,11	32	7,26	0,15	2,72	3
6,12	25	7,64	0,41	3,7	1	5,12	32	7,25	0,15	2,72	3
6,13	26	7,64	0,41	3,71	1	5,12	35	7,25	0,14	2,73	3
6,14	24	7,63	0,4	3,72	1	5,13	25	7,24	0,14	2,73	3
6,14	29	7,62	0,4	3,72	1	5,13	24	7,23	0,14	2,74	3
6,14	28	7,61	0,39	3,73	1	5,14	26	7,23	0,13	2,74	3
6,15	21	7,6	0,38	3,74	1	5,15	24	7,22	0,13	2,75	3
6,15	15	7,6	0,38	3,75	1	5,16	28	7,22	0,14	2,75	3
6,15	14	7,59	0,37	3,75	1	5,16	35	7,21	0,13	2,76	3
6,16	16	7,59	0,37	3,74	1	5,17	23	7,21	0,13	2,76	3
6,16	16	7,58	0,38	3,75	1	5,17	34	7,2	0,13	2,77	3
6,16	13	7,57	0,38	3,75	1	5,18	36	7,2	0,12	2,78	3
6,17	14	7,56	0,37	3,79	1	5,18	32	7,2	0,12	2,79	3
6,17	34	7,55	0,37	3,79	1	5,19	32	7,19	0,12	2,8	3
6,18	35	7,55	0,36	3,75	1	5,2	32	7,19	0,12	2,8	3
6,18	32	7,54	0,36	3,77	1	5,2	35	7,18	0,13	2,81	3
6,19	30	7,53	0,35	3,77	1	5,21	25	7,18	0,14	2,82	3
6,19	31	7,52	0,35	3,78	1	5,22	24	7,17	0,14	2,83	3
6,2	25	7,51	0,34	3,79	1	5,22	26	7,16	0,14	2,84	3
6,21	16	7,51	0,35	3,78	1	5,23	24	7,15	0,14	2,85	3
6,21	26	7,5	0,34	3,79	1	5,23	28	7,15	0,14	2,85	3
6,22	25	7,49	0,35	3,8	1	5,24	26	7,15	0,13	2,86	3
6,22	19	7,49	0,36	3,8	1	5,25	21	7,14	0,13	2,86	3
6,23	23	7,48	0,35	3,81	1	5,25	20	7,14	0,13	2,86	3
6,24	24	7,48	0,34	3,81	1	5,26	16	7,13	0,12	2,87	3
6,24	25	7,47	0,33	3,8	1	5,26	19	7,13	0,12	2,87	3
6,25	26	7,47	0,33	3,82	1	5,27	14	7,12	0,12	2,88	3
6,25	23	7,46	0,32	3,82	1	5,27	15	7,12	0,11	2,88	3
6,26	34	7,46	0,32	3,82	1	5,28	18	7,11	0,11	2,89	3
6,26	21	7,45	0,31	3,83	1						

6,27	26	7,45	0,31	3,82	1	5,28	32	7,11	0,12	2,9	3
6,27	26	7,44	0,3	3,83	1	5,29	35	7,1	0,12	2,91	3
6,28	24	7,43	0,29	3,84	1	5,29	25	7,1	0,11	2,91	3
6,29	15	7,42	0,29	3,84	1	5,3	24	7,09	0,11	2,92	3
6,29	25	7,41	0,3	3,84	1	5,31	26	7,09	0,1	2,93	3
6,3	24	7,4	0,3	3,85	1	5,32	24	7,08	0,1	2,93	3
6,3	26	7,39	0,29	3,84	1	5,32	28	7,08	0,1	2,94	3
6,31	28	7,38	0,29	3,85	1	5,33	35	7,07	0,1	2,96	3
6,31	26	7,39	0,3	3,85	1	5,34	23	7,07	0,1	2,95	3
6,31	27	7,38	0,3	3,86	1	5,34	34	7,07	0,11	2,95	3
6,32	29	7,37	0,29	3,87	1	5,35	36	7,06	0,11	2,96	3
6,32	26	7,36	0,29	3,87	1	5,36	32	7,06	0,11	2,97	3
6,32	24	7,35	0,29	3,88	1	5,36	32	7,06	0,11	2,97	3
6,33	26	7,35	0,28	3,89	1	5,37	32	7,05	0,1	2,98	3
6,33	24	7,34	0,28	3,89	1	5,38	35	7,05	0,1	3	3
6,34	25	7,34	0,27	3,89	1	5,38	25	7,05	0,1	3,1	3
6,35	15	7,33	0,27	3,89	1	5,38	24	7,05	0,1	3,11	3
6,36	26	7,33	0,26	3,9	1	5,39	26	7,04	0,09	3,12	3
6,36	24	7,32	0,26	3,9	1	5,4	32	7,04	0,1	3,13	3
6,37	28	7,31	0,25	3,91	1	5,4	35	7,03	0,09	3,14	3
6,38	29	7,31	0,24	3,92	1	5,41	25	7,03	0,08	3,15	3
6,39	15	7,3	0,24	3,92	1	5,42	24	7,03	0,09	3,16	3
6,4	16	7,3	0,24	3,93	1	5,42	26	7,02	0,09	3,16	3
6,41	28	7,29	0,23	3,93	1	5,43	24	7,02	0,08	3,16	3
6,41	19	7,29	0,24	3,94	1	5,44	28	7,02	0,08	3,18	3
6,42	25	7,28	0,23	3,93	1	5,45	26	7,01	0,08	3,19	3
6,43	18	7,28	0,23	3,94	1	5,46	21	7	0,08	3,2	3
6,44	32	7,27	0,24	3,95	1	5,46	20	7	0,07	3,21	3
6,44	34	7,27	0,24	3,95	1	5,47	16	7	0,08	3,23	3
6,45	32	7,28	0,23	3,96	1	5,47	19	6,99	0,09	3,25	3
6,45	31	7,28	0,22	3,96	1	5,47	14	6,98	0,08	3,25	3
6,46	26	7,27	0,21	3,97	1	5,48	15	6,98	0,08	3,26	3
6,47	35	7,26	0,21	3,97	1	5,49	12	6,99	0,07	3,28	3
6,47	32	7,25	0,2	3,97	1	5,49	23	6,98	0,08	3,28	3
6,48	26	7,25	0,2	3,98	1	5,5	21	6,95	0,07	3,29	3
6,48	24	7,24	0,2	3,98	1	5,5	20	6,97	0,07	3,35	3
6,49	29	7,25	0,2	3,98	1	5,51	18	6,97	0,07	3,35	3
6,5	26	7,24	0,19	3,99	1	5,52	14	6,96	0,06	3,36	3
6,51	34	7,23	0,19	4	1	5,52	11	6,96	0,07	3,37	3
6,51	23	7,22	0,18	4	1	5,53	21	6,95	0,07	3,38	3
6,51	32	7,22	0,17	3,99	1	5,53	12	6,95	0,06	3,39	3
6,52	35	7,21	0,19	3,98	1	5,54	12	6,95	0,05	3,41	3
6,52	23	7,2	0,18	4,1	1	5,54	35	6,96	0,06	3,42	3
6,53	32	7,19	0,18	4,1	1	5,54	25	6,96	0,06	3,42	3
6,53	38	7,2	0,17	4,12	1	5,55	29	9,96	0,05	3,45	3
6,54	34	7,19	0,16	4,12	1	5,56	12	6,95	0,05	3,46	3
6,54	39	7,18	0,15	4,13	1	5,56	24	6,95	0,05	3,48	3
6,55	34	7,18	0,15	4,13	1	5,57	10	6,95	0,06	3,48	3
6,56	35	7,17	0,15	4,14	1	5,57	18	6,94	0,05	3,49	3
6,56	35	7,17	0,14	4,14	1	5,58	14	6,94	0,05	3,52	3
6,57	35	7,16	0,14	4,14	1	5,59	26	6,94	0,05	3,52	3
6,58	32	7,16	0,12	4,15	1	5,59	24	6,94	0,04	3,56	3
6,58	21	7,15	0,13	4,15	1	5,6	14	6,94	0,05	3,56	3
6,59	35	7,14	0,13	4,16	1	5,57	18	6,76	0,03	3,46	3
6,59	26	7,14	0,12	4,17	1	5,6	15	6,95	0,04	3,58	3

6,7	24	7,13	0,12	4,17	1	5,62	16	6,96	0,04	3,59	3
6,71	21	7,12	0,11	4,16	1	5,62	25	6,96	0,04	3,62	3
6,71	20	7,12	0,11	4,16	1	5,63	29	6,96	0,04	3,64	3
6,72	16	7	0,11	4,17	1	5,63	39	6,97	0,05	3,65	3
6,72	18	7,11	0,12	4,18	1	5,64	34	6,97	0,04	3,65	3
6,73	32	7,11	0,11	4,19	1	5,64	35	6,96	0,04	3,68	3
6,74	17	7,1	0,1	4,2	1	5,64	35	6,96	0,03	3,71	3
6,75	23	7,1	0,1	4,21	1	5,65	35	6,95	0,04	3,72	3
6,76	19	7,09	0,1	4,21	1	5,65	32	6,95	0,03	3,74	3
6,77	32	7,08	0,09	4,22	1	5,66	21	6,94	0,03	3,75	3
6,78	12	7,08	0,09	4,22	1	5,66	35	6,93	0,03	3,76	3
6,78	14	7,08	0,08	4,23	1	5,67	26	6,94	0,03	3,78	3
6,79	15	7,07	0,08	4,24	1	5,67	24	6,95	0,03	3,82	3
6,8	21	7,06	0,08	4,25	1	5,68	21	6,94	0,03	3,85	3
6,81	16	7,05	0,07	4,24	1	5,68	20	6,94	0,03	3,92	3
6,81	18	7,06	0,08	4,25	1	5,69	16	6,93	0,02	3,95	3
6,82	14	7,05	0,07	4,25	1	5,69	18	6,92	0,03	3,95	3
6,82	11	7,04	0,07	4,26	1	5,7	32	6,93	0,02	4,1	3
6,82	21	7,04	0,06	4,26	1	5,7	17	6,93	0,02	4,12	3
6,83	12	7,03	0,05	4,26	1	5,7	23	6,92	0,02	4,15	3
6,84	12	7,03	0,06	4,27	1	5,71	19	6,92	0,02	4,23	3
6,84	35	7,02	0,06	4,27	1	5,72	32	6,91	0,02	4,25	3
6,85	25	7,02	0,05	4,28	1	3,11	12	8,2	0,51	2,08	4
6,86	29	7,01	0,05	4,28	1	3,11	14	8,2	0,51	2,08	4
6,87	12	7,01	0,04	2,28	1	3,11	15	8,2	0,5	2,08	4
6,87	24	7	0,04	4,29	1	3,11	21	8,19	0,5	2,08	4
6,88	10	7	0,04	4,3	1	3,12	16	8,19	0,49	2,09	4
6,88	18	6,99	0,05	4,3	1	3,12	18	8,18	0,48	2,09	4
6,89	14	6,99	0,03	4,31	1	3,12	14	8,19	0,48	2,09	4
6,9	26	6,98	0,02	4,31	1	3,12	11	8,18	0,48	2,09	4
6,9	24	6,98	0,04	4,32	1	3,13	21	8,17	0,47	2,09	4
5,12	16	6,42	0,3	11,01	2	3,13	12	8,18	0,47	2,08	4
5,13	15	6,43	0,3	11,02	2	3,13	12	8,16	0,46	2,1	4
5,14	12	6,43	0,32	11,02	2	3,13	35	8,16	0,46	2,1	4
5,14	16	6,44	0,31	11,03	2	3,13	25	8,15	0,45	2,1	4
5,16	24	6,45	0,32	11,04	2	3,14	29	8,15	0,45	2,1	4
5,18	28	6,45	0,33	11,04	2	3,14	34	8,15	0,45	2,1	4
5,19	31	6,46	0,33	11,03	2	3,14	23	8,14	0,44	2,1	4
5,2	25	6,46	0,34	11,05	2	3,14	32	8,14	0,43	2,1	4
5,22	24	6,45	0,34	11,06	2	3,15	35	8,14	0,43	2,11	4
5,23	26	6,45	0,33	11,08	2	3,15	23	8,13	0,43	2,11	4
5,25	24	6,47	0,32	11,1	2	3,15	32	8,13	0,42	2,11	4
5,26	29	6,48	0,35	11,1	2	3,15	38	8,12	0,42	2,11	4
5,27	24	6,48	0,36	11,12	2	3,16	34	8,12	0,42	2,11	4
5,3	26	6,48	0,35	11,12	2	3,16	39	8,12	0,42	2,12	4
5,32	25	6,47	0,34	11,13	2	3,16	34	8,11	0,41	2,11	4
5,34	24	6,48	0,36	11,13	2	3,16	35	8,11	0,42	2,12	4
5,36	26	6,49	0,35	11,12	2	3,16	35	8,11	0,42	2,12	4
5,37	24	6,51	0,38	11,14	2	3,17	35	8,12	0,41	2,12	4
5,39	28	6,5	0,37	11,14	2	3,17	32	8,12	0,41	2,12	4
5,41	16	6,5	0,37	11,14	2	3,17	21	8,11	0,41	2,13	4
5,42	15	6,51	0,36	11,15	2	3,17	35	8,1	0,41	2,13	4
5,44	12	6,52	0,38	11,16	2	3,18	26	8,1	0,42	2,13	4
5,46	16	6,53	0,38	11,17	2	3,18	24	8,1	0,41	2,13	4
5,47	24	6,54	0,38	11,18	2						

5,49	28	6,53	0,39	11,19	2	3,18	20	8,1	0,4	2,13	4
5,51	31	6,54	0,34	11,19	2	3,18	16	8,09	0,41	2,13	4
5,52	25	6,55	0,41	11,21	2	3,19	18	8,09	0,41	2,13	4
5,54	24	6,55	0,42	11,2	2	3,19	32	8,08	0,4	2,14	4
5,56	26	6,56	0,42	11,2	2	3,19	17	8,08	0,4	2,14	4
5,58	24	6,56	0,45	11,23	2	3,19	23	8,07	0,4	2,14	4
5,59	29	6,57	0,45	11,22	2	3,2	19	8,07	0,39	2,13	4
5,62	24	6,57	0,45	11,24	2	3,2	32	8,07	0,39	2,14	4
5,63	26	6,57	0,43	11,25	2	3,2	12	8,06	0,39	2,14	4
5,64	25	6,58	0,42	11,25	2	3,2	14	8,06	0,4	2,15	4
5,68	24	6,57	0,46	11,26	2	3,2	15	8,07	0,38	2,14	4
5,68	26	6,58	0,45	11,26	2	3,21	21	8,05	0,39	2,15	4
5,69	24	6,59	0,47	11,27	2	3,21	16	8,05	0,38	2,15	4
5,7	28	6,59	0,48	11,28	2	3,21	18	8,04	0,38	2,15	4
5,72	26	6,6	0,49	11,28	2	3,21	14	8,04	0,38	2,15	4
5,74	24	6,61	0,48	11,29	2	3,22	11	8,04	0,37	2,15	4
5,74	29	6,61	0,5	11,3	2	3,22	21	8,03	0,38	2,16	4
5,76	24	6,62	0,51	11,31	2	3,23	12	8,03	0,37	2,16	4
5,78	26	6,62	0,52	11,3	2	3,23	12	8,02	0,37	2,16	4
5,8	25	6,63	0,49	11,32	2	3,23	35	8,02	0,37	2,15	4
5,81	24	6,64	0,51	11,32	2	3,23	24	8,02	0,36	2,16	4
5,81	26	6,65	0,52	11,34	2	3,23	28	8,01	0,36	2,16	4
5,84	24	6,64	0,53	11,35	2	3,23	26	8,01	0,36	2,16	4
5,86	28	6,65	0,53	11,36	2	3,24	21	8,01	0,37	2,16	4
5,9	16	6,65	0,55	11,38	2	3,24	20	8	0,36	2,16	4
5,92	15	6,66	0,54	11,38	2	3,24	16	8	0,35	2,16	4
5,92	12	6,67	0,54	11,4	2	3,24	19	8	0,35	2,17	4
5,96	16	6,68	0,54	11,45	2	3,25	14	7,99	0,35	2,17	4
5,98	24	6,69	0,56	11,44	2	3,25	15	7,98	0,35	2,17	4
6	28	6,7	0,57	11,42	2	3,25	12	7,98	0,34	2,17	4
6,2	31	6,71	0,57	11,42	2	3,25	23	7,99	0,34	2,17	4
6,21	25	6,7	0,58	11,45	2	3,26	21	7,98	0,34	2,17	4
6,23	24	6,71	0,58	11,45	2	3,26	20	7,99	0,34	2,17	4
6,25	26	6,72	0,59	11,46	2	3,26	12	7,98	0,33	2,16	4
6,26	24	6,72	0,56	11,48	2	3,26	25	7,97	0,33	2,18	4
6,27	29	6,73	0,57	11,51	2	3,26	26	7,97	0,33	2,18	4
6,28	24	6,73	0,57	11,52	2	3,27	24	7,98	0,33	2,18	4
6,3	26	6,74	0,59	11,53	2	3,27	23	7,97	0,33	2,18	4
6,34	25	6,74	0,58	11,56	2	3,27	15	7,96	0,32	2,18	4
6,35	24	6,75	0,58	11,55	2	3,27	18	7,96	0,31	2,19	4
6,36	26	6,75	0,59	11,54	2	3,27	17	7,96	0,32	2,18	4
6,38	24	6,75	0,56	11,57	2	3,27	19	7,95	0,32	2,18	4
6,4	28	6,76	0,57	11,58	2	3,27	39	7,96	0,32	2,19	4
6,44	24	6,76	0,58	11,59	2	3,28	34	7,95	0,31	2,19	4
6,45	26	6,77	0,61	11,6	2	3,28	35	7,95	0,31	2,19	4
6,47	25	6,78	0,61	11,62	2	3,28	35	7,94	0,31	2,2	4
6,49	24	6,79	0,62	11,65	2	3,28	35	7,94	0,31	2,2	4
6,5	26	6,8	0,63	11,64	2	3,28	32	7,94	0,31	2,2	4
6,52	24	6,81	0,63	11,68	2	3,28	21	7,94	0,3	2,21	4
6,54	28	6,82	0,65	11,69	2	3,28	35	7,93	0,3	2,21	4
6,56	26	6,82	0,64	11,69	2	3,28	26	7,94	0,3	2,21	4
6,57	24	6,83	0,65	11,71	2	3,29	24	7,93	0,3	2,21	4
6,57	29	6,84	0,63	11,73	2	3,29	21	7,93	0,3	2,22	4
6,59	24	6,84	0,67	11,74	2	3,29	20	7,94	0,29	2,22	4
6,64	26	6,85	0,68	11,75	2						

6,65	25	6,85	0,68	11,75	2	3,29	18	7,92	0,29	2,23	4
6,68	24	6,86	0,69	11,76	2	3,3	32	7,92	0,29	2,23	4
6,7	26	6,86	0,68	11,78	2	3,3	17	7,92	0,28	2,23	4
6,72	24	6,87	0,7	11,82	2	3,3	23	7,92	0,28	2,23	4
6,74	28	6,88	0,71	11,86	2	3,3	19	7,91	0,28	2,24	4
6,76	16	6,87	0,71	11,89	2	3,3	32	7,91	0,27	2,23	4
6,79	18	6,87	0,71	11,92	2	3,3	12	7,91	0,28	2,24	4
6,8	25	6,88	0,72	11,95	2	3,3	14	7,92	0,27	2,24	4
6,81	21	6,88	0,73	11,96	2	3,3	24	7,92	0,27	2,24	4
6,82	20	6,88	0,73	11,96	2	3,3	28	7,91	0,27	2,24	4
6,82	20	6,89	0,73	11,98	2	3,31	26	7,91	0,27	2,25	4
6,83	16	6,89	0,74	12	2	3,31	21	7,9	0,26	2,25	4
6,85	19	6,89	0,74	12,1	2	3,31	21	7,9	0,26	2,25	4
6,87	14	6,9	0,75	12,12	2	3,31	20	7,9	0,26	2,25	4
6,88	15	6,9	0,75	12,13	2	3,31	16	7,9	0,26	2,25	4
6,89	18	6,91	0,76	12,15	2	3,31	19	7,89	0,26	2,25	4
6,91	16	6,9	0,74	12,16	2	3,31	14	7,89	0,26	2,26	4
6,92	25	6,9	0,76	12,18	2	3,32	15	7,88	0,26	2,26	4
6,94	29	6,92	0,78	12,2	2	3,32	12	7,88	0,25	2,26	4
6,94	35	6,91	0,77	12,23	2	3,32	23	7,88	0,25	2,25	4
6,95	23	6,91	0,77	12,4	2	3,32	21	7,87	0,25	2,26	4
6,98	34	6,92	0,77	12,26	2	3,32	20	7,86	0,25	2,25	4
7	36	6,93	0,78	12,67	2	3,32	12	7,86	0,25	2,26	4
7,1	32	6,93	0,78	12,3	2	3,32	25	7,85	0,25	2,27	4
7,12	32	6,94	0,79	12,34	2	3,32	26	7,85	0,24	2,27	4
7,15	32	6,93	0,78	12,32	2	3,33	24	7,85	0,24	2,27	4
7,18	35	6,94	0,79	12,35	2	3,33	23	7,85	0,24	2,27	4
7,2	25	6,94	0,8	12,36	2	3,33	15	7,84	0,24	2,27	4
7,24	24	6,95	0,71	12,34	2	3,33	18	7,84	0,24	2,27	4
7,26	26	6,95	0,8	12,38	2	3,33	17	7,83	0,24	2,28	4
7,28	24	6,95	0,81	12,38	2	3,34	19	7,84	0,24	2,28	4
7,31	28	6,96	0,82	12,45	2	3,34	39	7,83	0,24	2,28	4
7,32	26	6,96	0,83	12,49	2	3,34	34	7,83	0,24	2,28	4
7,33	24	6,96	0,83	12,52	2	3,34	35	7,82	0,24	2,28	4
7,35	29	6,97	0,84	12,56	2	3,34	35	7,82	0,23	2,28	4
7,36	24	6,97	0,85	12,58	2	3,34	35	7,82	0,23	2,28	4
7,39	26	6,97	0,86	12,59	2	3,35	32	7,81	0,23	2,29	4
7,4	25	6,96	0,86	12,65	2	3,35	21	7,82	0,24	2,28	4
7,42	24	6,96	0,86	12,65	2	3,35	35	7,82	0,23	2,29	4
7,43	26	6,97	0,85	12,68	2	3,35	26	7,82	0,23	2,29	4
7,44	24	6,98	0,85	12,71	2	3,35	24	7,81	0,23	2,29	4
7,46	28	6,98	0,86	12,72	2	3,35	21	7,8	0,22	2,29	4
7,48	16	6,99	0,87	12,73	2	3,36	20	7,8	0,22	2,29	4
7,51	18	6,98	0,89	12,74	2	3,36	16	7,8	0,22	2,3	4
7,53	25	6,99	0,88	12,78	2	3,36	18	7,79	0,21	2,3	4
7,54	21	7	0,89	0,81	2	3,36	32	7,79	0,22	2,3	4
7,58	20	7	0,89	12,83	2	3,37	17	7,78	0,22	2,3	4
7,61	16	7,01	0,88	12,84	2	3,37	23	7,78	0,21	2,3	4
7,62	19	7,01	0,87	12,86	2	3,37	19	7,76	0,21	2,3	4
7,65	14	7,02	0,87	12,88	2	3,37	32	7,76	0,21	2,3	4
7,66	15	7,01	0,91	12,9	2	3,37	12	7,75	0,21	2,3	4
7,68	18	7,02	0,92	12,95	2	3,37	14	7,75	0,21	2,3	4
7,7	16	7,03	0,92	12,96	2	3,38	19	7,75	0,22	2,31	4
7,72	25	7,03	0,93	12,98	2	3,38	39	7,74	0,21	2,31	4
7,73	29	7,02	0,94	13,1	2	3,38	34	7,74	0,2	2,32	4
7,75	35	7,03	0,95	13,15	2						

7,76	23	7,04	0,92	13,16	2	3,38	35	7,74	0,2	2,32	4
7,77	21	7,04	0,93	13,18	2	3,38	35	7,73	0,2	2,32	4
7,8	20	7,03	0,94	13,21	2	3,39	32	7,73	0,19	2,33	4
7,81	16	7,04	0,95	13,25	2	3,39	21	7,73	0,19	2,33	4
7,82	19	7,03	0,96	13,26	2	3,39	35	7,72	0,2	2,33	4
7,84	14	7,04	0,97	13,28	2	3,39	26	7,72	0,19	2,33	4
7,85	15	7,04	0,96	13,32	2	3,39	24	7,72	0,19	2,34	4
7,86	18	7,05	0,97	13,35	2	3,39	21	7,72	0,18	2,34	4
7,88	16	7,04	0,98	13,36	2	3,4	20	7,71	0,19	2,34	4
7,9	25	7,05	0,98	13,37	2	3,4	16	7,71	0,18	2,34	4
7,92	29	7,05	0,97	13,39	2	3,4	18	7,71	0,18	2,35	4
7,93	35	7,05	0,98	13,41	2	3,4	32	7,71	0,18	2,35	4
7,94	23	7,06	0,96	13,42	2	3,4	17	7,71	0,17	2,35	4
7,96	34	7,05	0,96	13,45	2	3,4	23	7,73	0,17	2,35	4
7,98	36	7,06	0,95	13,46	2	3,41	19	7,72	0,17	2,36	4
8,1	32	7,07	0,94	13,48	2	3,41	32	7,73	0,17	2,36	4
8,12	32	7,06	0,95	13,51	2	3,41	12	7,7	0,18	2,36	4
8,13	32	7,06	0,94	13,52	2	3,41	14	7,7	0,18	2,36	4
8,14	35	7,07	0,94	13,53	2	3,41	24	7,7	0,17	2,37	4
8,15	25	7,07	0,93	13,54	2	3,41	28	7,7	0,17	2,37	4
8,16	24	7,07	0,93	13,59	2	3,41	26	7,69	0,16	2,38	4
8,18	26	7,08	0,92	13,61	2	3,42	21	7,68	0,16	2,37	4
8,19	24	7,09	0,94	13,62	2	3,42	20	7,69	0,16	2,38	4
8,21	28	7,08	0,95	13,65	2	3,42	16	7,67	0,16	2,38	4
8,23	26	7,09	0,94	13,66	2	3,42	19	7,67	0,16	2,38	4
8,24	21	7,1	0,93	13,68	2	3,42	14	7,68	0,15	2,39	4
8,25	20	7,11	0,92	13,69	2	3,42	15	7,67	0,16	2,39	4
8,26	16	7,12	0,91	16,72	2	3,42	12	7,66	0,15	2,39	4
8,26	19	7,11	0,9	13,74	2	3,42	23	7,66	0,15	2,4	4
8,27	14	7,12	0,88	13,75	2	3,42	21	7,67	0,15	2,4	4
8,28	15	7,12	0,89	13,76	2	3,42	20	7,66	0,15	2,41	4
8,29	18	7,13	0,9	13,78	2	3,43	12	7,65	0,14	2,4	4
8,31	16	7,13	0,89	13,8	2	3,43	25	7,65	0,14	2,41	4
8,34	25	7,14	0,88	13,82	2	3,43	26	7,64	0,14	2,41	4
8,35	29	7,13	0,88	13,83	2	3,43	24	7,65	0,14	2,41	4
8,37	35	7,14	0,87	13,84	2	3,43	23	7,66	0,14	2,41	4
8,37	23	7,14	0,87	13,85	2	3,43	15	7,65	0,14	2,41	4
8,39	21	7,15	0,86	13,86	2	3,43	18	7,65	0,14	2,42	4
8,41	20	7,15	0,87	13,87	2	3,44	17	7,64	0,15	2,42	4
8,42	16	7,14	0,85	13,89	2	3,44	12	7,64	0,14	2,42	4
8,45	19	7,16	0,86	13,92	2	3,44	35	7,64	0,14	2,42	4
8,48	14	7,15	0,86	13,93	2	3,44	24	7,63	0,13	2,42	4
8,49	15	7,16	0,85	13,94	2	3,44	28	7,63	0,13	2,45	4
8,51	18	7,16	0,84	13,95	2	3,44	26	7,62	0,13	2,45	4
8,54	16	7,17	0,84	13,96	2	3,45	21	7,62	0,13	2,45	4
8,54	25	7,17	0,83	13,98	2	3,45	20	7,61	0,13	2,45	4
8,56	29	7,18	0,82	14,1	2	3,45	16	7,61	0,13	2,46	4
8,58	23	7,18	0,81	14,12	2	3,45	19	7,6	0,14	2,46	4
8,6	34	7,19	0,81	14,15	2	3,45	14	7,6	0,13	2,46	4
8,61	36	7,19	0,79	14,18	2	3,45	15	7,6	0,13	2,46	4
8,62	32	7,19	0,8	14,2	2	3,45	12	7,59	0,12	2,46	4
8,63	32	7,2	0,8	14,21	2	3,46	23	7,58	0,12	2,47	4
8,64	32	7,21	0,79	14,23	2	3,46	21	7,58	0,13	2,47	4
8,65	35	7,22	0,78	14,25	2	3,46	20	7,57	0,12	2,47	4
8,68	25	7,21	0,77	14,26	2						

8,7	24	7,2	0,76	14,27	2	3,45	2	7,5	0,11	2,49	4
8,71	26	7,21	0,75	14,28	2	3,46	4				
8,73	24	7,21	0,76	14,32	2		2	7,56	0,12	2,48	4
8,74	28	7,22	0,75	14,35	2	3,46	5				
8,75	26	7,23	0,76	14,36	2		2	7,56	0,12	2,48	4
8,76	21	7,23	0,76	14,37	2	3,47	6				
8,78	20	7,24	0,75	14,39	2		2	7,55	0,13	2,48	4
8,8	16	7,24	0,74	14,41	2	3,47	4				
8,82	19	7,25	0,73	14,46	2		2	7,55	0,12	2,47	4
8,83	14	7,23	0,74	14,47	2	3,47	3				
8,86	15	7,24	0,73	14,48	2		1	7,55	0,12	2,49	4
8,88	12	7,26	0,73	14,49	2	3,47	5				
8,9	23	7,27	0,74	14,52	2		1	7,54	0,12	2,49	4
8,91	21	7,26	0,74	14,54	2	3,47	8				
8,93	20	7,27	0,74	14,55	2		1	7,54	0,14	2,49	4
8,94	16	7,28	0,72	14,56	2	3,47	7				
8,96	19	7,28	0,71	14,58	2		1	7,53	0,13	2,49	4
8,98	14	7,29	0,71	14,59	2	3,48	9				
9,1	15	7,3	0,7	14,61	2		3	7,53	0,12	2,5	4
9,12	18	7,29	0,72	14,62	2	3,48	9				
9,14	16	7,31	0,71	14,63	2		3	7,53	0,11	2,5	4
9,15	25	7,3	0,7	14,64	2	3,48	4				
9,16	29	7,3	0,7	14,65	2		3	7,52	0,12	2,5	4
9,18	23	7,31	0,69	14,68	2	3,48	5				
9,2	34	7,32	0,68	14,71	2		3	7,52	0,11	2,5	4
9,21	36	7,32	0,68	14,74	2	3,48	5				
9,23	32	7,32	0,69	14,75	2		3	7,52	0,11	2,5	4
9,24	32	7,34	0,68	14,76	2	3,48	5				
9,26	32	7,34	0,68	14,78	2		3	7,52	0,11	2,5	4
9,28	35	7,33	0,67	14,78	2	3,48	5				
9,31	25	7,33	0,66	14,8	2		3	7,52	0,11	2,5	4
9,32	24	7,34	0,66	14,84	2	3,48	5				
9,35	26	7,35	0,65	14,85	2		3	7,51	0,11	2,5	4
9,36	24	7,35	0,64	14,86	2	3,49	6				
9,38	28	7,36	0,64	14,88	2		2	7,51	0,11	2,51	4
9,4	35	7,36	0,63	14,92	2	3,49	6				
9,41	23	7,36	0,62	14,96	2		2	7,51	0,11	2,52	4
9,43	34	7,37	0,62	14,97	2	3,49	4				
9,45	36	7,38	0,61	14,99	2		2	7,51	0,11	2,52	4
9,46	32	7,38	0,61	15,1	2	3,49	2				
9,47	32	7,37	0,6	15,12	2		1	7,5	0,12	2,52	4
9,49	32	7,37	0,6	15,14	2	3,49	6				
9,51	35	7,38	0,59	15,16	2		1	7,5	0,11	2,52	4
9,52	25	7,38	0,59	15,18	2	3,5	2				
9,56	24	7,39	0,58	15,21	2		2	7,5	0,11	2,51	4
9,57	26	7,4	0,58	15,23	2	3,5	1				
9,59	24	7,4	0,59	15,24	2		2	7,49	0,1	2,51	4
9,61	28	7,4	0,57	15,25	2	3,5	0				
9,62	26	7,41	0,56	15,28	2		1	7,49	0,1	2,52	4
9,63	21	7,42	0,55	15,29	2	3,5	2				
9,64	20	7,43	0,54	15,31	2		5	7,49	0,1	2,52	4
9,65	16	7,42	0,56	15,35	2	3,51	5				
9,68	19	7,42	0,55	15,38	2		2	7,48	0,1	2,53	4
9,7	14	7,42	0,54	15,41	2	3,51	4				
9,75	15	7,43	0,53	15,42	2		3	7,48	0,1	2,53	4
						3,51	5				
							4	7,47	0,1	2,53	4
						3,52	1				
							7	7,46	0,09	2,53	4
						3,52	1				
							2	7,46	0,09	2,52	4
						3,52	2				
							3	7,46	0,1	2,53	4
						3,52	5				
							2	7,45	0,09	2,53	4
						3,52	4				
							2	7,45	0,09	2,54	4
						3,53	8				
							2	7,47	0,09	2,54	4

