

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Science Biologiques

Spécialité/Option : Microbiologie Appliquée

Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

Thème

**Degrés de contamination et isolement des Bactéries multi-résistantes aux Antibiotiques dans l'eau de l'Oued Seybouse
« Guelma, Nord-Est de l'Algérie ».**

Présenté par :

- ✓ **KHALFALLAH Amina**
- ✓ **MAHBOUBI Dounya**
- ✓ **SAIDIA Ikhlas**

Devant le jury composé :

Président : YOUNSI Mourad	MCB	Université 8 Mai 1945 Guelma
Examineur : ROUBI Abdelhakim	MCB	Université 8 Mai 1945 Guelma
Encadreur : HOUHAMDI Moussa	(Pr)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Co-Encadrante : RAZKALLAH Zahra	(Dr)	Université 8 Mai 1945 Guelma

Juillet 2021

Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Dieu** le tous puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciement et notre profonde gratitude à Monsieur **YOUNSI Mourad**, Maitre de conférence B, d'avoir bien accepté de présider ce jury.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Monsieur **ROUIBI Abdelhakim**, Maitre de conférences B, pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury et examiner ce mémoire.*

*Nos sincère remerciement et nos respects vont à notre encadreur le professeur **HOUHAMDI Moussa**, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail, votre modestie, vos qualités pédagogiques et scientifiques, votre rigueur et votre dynamisme font de vous un maitre tant apprécié. Monsieur **HOUHAMDI**, permettons-nous de vous renouveler l'expression de nous vive reconnaissance et de notre profond respect.*

*A notre maitre et codirecteur de mémoire Madame **RAZKALLAH Zahra**, avec gentillesse, patience, compétence et une grande disponibilité vous avez guidé ce travail.*

*Nous remercions très spécialement les deux enseignants **ATHAMNIA Mohammed**, et **GUEROUI Yassine** pour leurs aides et leurs encouragements pendant la période de pratique.*

*Nous remercions vivement les techniciennes de laboratoire de l'université Madame **Hayat** et Madame **Wafa** et un grand merci à Madame **ABBES Leila**, ingénieur de laboratoire de recherche de biologie pour son aide.*

*On remercie tout nos collègues d'étude particulièrement notre promotion et surtout notre collègue **SELMI Amir** pour son aide.*

Enfin, on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces



*Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir,
la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout de rêve et le
bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Ya Karim »*

Je dédie ce modeste travail

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de
mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore.*

*A mon père, mon soutien moral et source de joie et de bonheur,
celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

*A mes frères et mes sœurs : Hemza, Mohamed et sa femme
Marwa, à ma sœur Warda et son mari Bachir, et à ma petite sœur
Sarra inchallah que tu réussis dans ton Bac*

A mes anges : Mayar, Baraa, et Jouri

*A mes cousins, mes cousines et toute ma grande famille pour
leurs encouragements et à la mémoire de ma tante, qu'il puisse
reposer en paix*

A mon trinôme Ikhlas et Dounya

*A mes amies : Meriem, Yousra, Dounia, Lamis, Oumaima, Ilhem,
Chaima, Boutheyna, Kholoud,.....*

A toute la promotion de la Microbiologie Appliquée

*Et enfin à tous ceux qui me sont chers, à tous ceux qui m'aiment, à
tous ceux que j'aime.*

Amina

Dédicace



*Merci mon dieu pour m'avoir donné la force et le soutien spirituel,
merci de m'avoir amené à mon souhait, à ce rêve, à se tenir sur ce
sommet pour je lève la tête vers le ciel et de dire sous le souffle de la
paix " YA RAB "....*

*Je dédie ce travail à la personne la plus précieuse, le symbole de
patience et de courage, le symbole de tendresse et de bonheurA ma
mère*

A mon prince... mon père

*A tous mes enseignants, particulièrement le professeur de l'école
BOUBAKER AMMAR que dieu les gardes et les protèges*

A ma sœur et mon frère : INES, SALAH ELDINE

A mon ange ; ABD ELRAHMANE

A mes grands-pères et mes grandes mères

A tout la famille de MAHBOUBI et la famille de BENHACENE

*A mes amies : AMINA, BOUTHEYNA, CHAIMA, DOUNIA, LAMIS,
IKHLAS, ILHEM, OUMAIMA, YOUSRA*

A mon amie d'enfance : RAYENE

*A tous ceux qui me sont chers, A tous ceux qui m'aiment, A tous ceux
que j'aime*

Je dédie ce travail.

DOUNYA

Dédicace *Alhamdoulillah*



Sans cesse mes remerciements au bon Dieu, qui dans l'accomplissement de ce modeste travail m'a permis d'écrire ces quelques lignes. Cette dédicace m'a été la partie la plus dure à faire dans ce mémoire car je savais que je ne pouvais jamais le terminer sans larmes :

A vous mes adorables parents dont je ne cesserai jamais de remercier de m'avoir donné la vie, je vous dédie entièrement ce modeste travail et vous témoigne ma profonde affection vous êtes et avez été un excellent repère et soutien dans ma vie. Les mots me manquent pour vous décrire la joie que je ressens en écrivant ces quelques lignes.

*A ces quelques membres de ma famille :
Mon grands père : Mostafa Mes sœurs: Madjda, Safa, Maissa et
Chams, Amina je vous témoigne ici ma profonde affection et
reconnaissance pour votre soutien sans fin.*

*A tous ces quelques rares et précieux (es) ami(es) :
Lamis, Dounya, Oumaima, Dounia, Chayma, Ilhem, Maya, Amira,
Charaf, Chems Eddine Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de
loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci*

Ikhlas

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Listes des abréviations et acronymes

Introduction 1

Chapitre I

Présentation de la zone d'étude « Oued Seybouse »

1-Présentation de la zone d'étude..... 3

1-1-Description géographique de la Seybouse..... 3

1-2-Réseau hydrographique 6

1-2-1-Hautes plaines (Haute –Seybouse) 7

1-2-2-Tell méridional (Moyenne-Seybouse) 8

1-2-3-Tell septentrional (Basse-Seybouse)..... 8

1-3-Description climatique 9

1-4-Exploitation du bassin de la Seybouse 12

1-5- Contexte socio-économique 13

1-6-Pédologie de la Seybouse 14

1-7- Cadre biotique de la Seybouse..... 14

1-8-Les dangers menaçant le bassin Seybouse 14

1-9-Maladies à transmission hydrique..... 15

Chapitre II

Matériel et méthodes

1-Introduction..... 17

2-Echantillonnage..... 17

2-1-Matériels d'échantillonnages 17

2-2-Transport et conservation au laboratoire 17

2-3-Méthode de prélèvement 18

2-4-Point de prélèvement..... 18

3-Analyses physico-chimique de l'eau d'Oued Seybouse 19

4-Analyse bactériologique de l'eau de l'Oued Seybouse 20

4-1 – Recherche et dénombrement des micro-organismes	21
4-1-1- Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et fécaux	21
4-1-2- Recherche et dénombrement des Streptocoque fécaux.....	25
4-1-3-Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies Sulfito-réductrices (ASR).....	28
4-2- Recherche des germes pathogènes.....	30
4-2-1-Recherche des Salmonelles	30
4-2-2-Recherche des Shigelles.....	30
4-2-3-Recherche des Vibrions	30
4-2-4-Recherche des Pseudomonas.....	30
4-2-5-Recherche des Staphylocoques.....	30
4-3- Test d'identification	32
4-3-1-Identification macroscopique	32
4-3-2-Identification microscopique.....	32
4-3-3-Identification Biochimique.....	33
4-3-2- Identification Enzymatique	35
5-Evaluation de l'Antibiorésistance	37
5-1-Méthode d'Antibiogramme	37
5-2-Les Anti -biotiques utilisés.....	38
5-3-Méthode de réalisation	38

Chapitre III

Résultats et discussion

1-Résultats des Analyses physico-chimiques des eaux d'oued Seybouse.....	40
2-Analyses microbiologiques.....	45
2-1-Résultats des recherches et dénombrement des microorganismes	46
2-1-1-Coliformes totaux	46
2-1-2-Coliformes fécaux.....	47
2-1-3-Streptocoques fécaux	48
2-1-4-Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	49
2-2-Origine de la contamination fécale	50
2-3-Recherche et identification des germes pathogènes.....	50
2-3-1-Identification macro et microscopique.....	51
2-3-2-Résultats de l'identification biochimique	53
2-3-3-Résultats de l'identification enzymatique	55

3-Evaluation de l'Antibiorésistance	56
3-1-Antibiorésistance des Staphylocoques	56
3-2-Antibiorésistance des Entérobactéries	58
3-3-Antibiorésistance des Non Entérobactéries	63
Conclusion	66
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	
Abstract	
الملخص	

Liste des tableaux

Tableau 1. Répartition des sous bassins de la Seybouse (A.B.H.1999).	4
Tableau 2. Les barrages du bassin de la Seybouse (A, B, H, 2002).....	6
Tableau 3. Répartition de la population.....	13
Tableau 4. Les principaux sources de pollution pour la Seybouse (in Charchar, 2009).	15
Tableau 5. Principales maladies à transmission hydrique. (Association française pour l'étude des eaux (A.F.E.E.1985).....	16
Tableau 6. Classification des eaux d'après leur pH (Agrigon, 2000; Hakm, 2002).	19
Tableau 7. Les antibiotiques utilisés dans notre travail.....	38
Tableau 8. Grille d'appréciation de la qualité d'eau en fonction de la température (Monod, 1989).....	41
Tableau 9. La grille de la qualité des eaux des rivières selon la conductivité électrique (Monod, 1989).....	43
Tableau 10. Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous. (Masson, 1988; Merzoug, 2009).	44
Tableau 11. Evaluation du nombre des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).	49
Tableau 12. Détermination de la source de pollution à partir du rapport coliformes fécaux/streptocoques fécaux.	50
Tableau 13. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes.	51
Tableau 14. Résultats du profil biochimique des staphylocoques isolés.....	53
Tableau 15. Résultats de l'identification par les API systèmes (API 20 E, API 20 NE).	54
Tableau 16. Résultats de l'identification enzymatique (oxydase, catalase).	56
Tableau 17. Résultat de l'antibiogramme <i>Staphylococcus epidermidis</i>	57
Tableau 18. Résultat de l'antibiogramme <i>Raoutella planticola</i>	58
Tableau 19. Résultat de l'antibiogramme <i>Serratia odorifera</i>	59
Tableau 20. Résultat de l'antibiogramme <i>Burkholderia cepacia</i>	60
Tableau 21. Résultat de l'antibiogramme <i>Erwinia</i> spp.	62
Tableau 22. Résultat de l'antibiogramme <i>Vibrio fluvialis</i>	63
Tableau 23. Résultat de l'antibiogramme <i>Pseudomonas luteola</i>	64

Liste des figures

Figure 1. Bassin hydrographique de la Seybouse (Reggam, 2015).....	4
Figure 2. Découpage administratif du bassin de la Seybouse(A.B.H.2002).....	5
Figure 3. Réseau hydrographique du bassin de la Seybouse (Reggam, 2015).	9
Figure 4. Température mensuelle en (C°) durant la période (2013-2017) (Station météorologique de Guelma, 2018).	10
Figure 5. Précipitation moyenne mensuelle en (mm) durant la période (2013-2017) (Station météorologique de Guelma, 2018).	11
Figure 6. Variation mensuelle de l’humidité relative durant la période (2013-2017) (Station météorologique de Guelma, 2018).	11
Figure 7. Variation mensuelle de vent durant la période (2013-2017) (Station météorologique de Guelma, 2018).	12
Figure 8. Vue générale de point de prélèvement: Oued Seybouse (Photo pris par Saidia, Ikhlas le 18-04-2021).....	18
Figure 9. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et fécaux.	24
Figure 10. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.	27
Figure 11. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies Sulfito-réductrices(ASR).	29
Figure 12. Recherche des germes pathogènes (Salmonelles, Shigelles, Staphylocoques, Vibriion, Pseudomonas).....	31
Figure 13. Procédure de la coloration de Gram (in Razkallah et al., 2013).....	33
Figure 14. A droite : réaction d’oxydasenégative(-)	35
Figure 15. Réaction de catalase positive (Denis et al., 2007).	36
Figure 16. Méthode de réalisation de l’antibiogramme.	39
Figure 17. Multi paramètre utilisé (photo pris par MahboubiDounya).	40
Figure 18. Variation des taux de la température dans les sites de prélèvement.	41
Figure 19. Variation des taux de pH dans les sites de prélèvement.	42
Figure 20. Variation des taux de la conductivité électrique dans les sites de prélèvement.	43
Figure 21. Variation des taux de l’oxygène dissous dans les sites de prélèvement.	44
Figure 22. Variation des taux de la salinité dans les sites de prélèvement.	45
Figure 23. Évolution spatio-temporelle des coliformes totaux de l’eau de l’Oued Seybouse.	46
Figure 24. Résultat de dénombrement de coliformes totaux (photo pris par Khalfallah Amina).	47

Figure 25. Évolution spatio-temporelle des coliformes fécaux de l'eau de l'Oued Seybouse.	47
Figure 26. Résultats de dénombrement des coliformes fécaux (photo pris par Mahboubi Dounya).	48
Figure 27. Évolution spatio-temporelle des streptocoques fécaux de l'eau de l'Oued Seybouse.	48
Figure 28. Résultats de dénombrement les streptocoques fécaux (photo pris par Mahboubi Dounya).	49
Figure 29. Résultats des dénombrements des ASR (photo pris par Mahboubi Dounya).	50
Figure 30. Résultats d'un test staphylocoagulase négative (photo pris par Khalfallah Amina).	53
Figure 31. Profil biochimique de la souche <i>Burkholderia cepacia</i> (photo pris par Saidia Ikhlas).	54
Figure 32. Profil biochimique de la souche <i>Raoutella planticola</i> (photo pris par Saidia Ikhlas).	54
Figure 33. Profil biochimique de la souche <i>Vibrio fluvialis</i> (photo pris par Khalfallah Amina).	55
Figure 34. Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonas luteola</i> (photo pris par Khalfallah Amina).	55
Figure 35. Profil biochimique de la souche <i>Serratia odorifera</i> (photo pris par Mahboubi Dounya).	55
Figure 36. Profil biochimique de la souche <i>Erwinia</i> spp (photo pris par Mahboubi Dounya).	55
Figure 37. Résultats de l'identification enzymatique (photo pris par Khalfallah Amina).	56
Figure 38. Taux de résistance de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	57
Figure 39. Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus epidermidis</i> (photo pris par Mahboubi Dounya).	57
Figure 40. Taux de résistance de <i>Raoutella planticola</i> (photo pris par Khalfallah Amina).	58
Figure 41. Résultats de l'antibiogramme de <i>Raoutella planticola</i> (photo pris par Saidia Ikhlas).	59
Figure 42. Taux de résistance de <i>Serratia odorifera</i>	60
Figure 43. Résultats de l'antibiogramme de <i>Serratia odorifera</i> (photo pris par Khalfallah Amina).	60
Figure 44. Taux de résistance de <i>Burkholderia cepacia</i>	61
Figure 45. Résultats de l'antibiogramme de <i>Burkholderia cepacia</i> (photo pris par Mahboubi Dounya).	61
Figure 46. Taux de résistance de <i>Erwinia</i> spp.	62

Figure 47.Résultats de l'antibiogramme de *Erwinia* spp(photo pris parKhalfallah Amina). ..62

Figure 48.Taux de résistance de *Vibrio fluvialis*.63

Figure 49.Résultats de l'antibiogramme de *Vibrio fluvialis*(photo pris parSaidia Ikhlas).64

Figure 50.Taux de résistance de *Pseudomonas luteola*.64

Figure 51. Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas luteola* (photo pris par Mahboubi Dounya).65

Liste des abréviations et acronymes

°C : Degrés Celsius.

AbH : Agence de bassin hydrographique

AFEE: Association Française pour l'étude des eaux.

ASR : Anaérobie sulfito-réducteur.

ATB : Antibiotique.

BCPL : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol.

CE : Conductivité électrique

DSA : Direction des services Wilaya de Guelma.

E coli : *Escherichia coli*.

Fertial (ASMIDAL). Association des Fertilisants Algériens.

GNAB: Gélose Nutritive Alcaline Bilée.

NPP : Nombre le plus probable.

S/C : Simple concentration.

Sider : Société National de sidérurgie.

SS: Salmonella Shigella.

VF: Viande Foie.

Introduction

Tout au long de l'histoire de l'humanité l'eau est une ressource première au service des hommes : elle est partout, spatialement et économiquement, elle conditionne notre vie. Elle offre aujourd'hui de considérables possibilités de développement dans des domaines essentiels : alimentation, thermalisme, hydro-électricité, loisirs..., elle est un patrimoine inestimable à valoriser en même temps qu'à sauvegarder (Wackermann et Rougier, 2009).

Généralement la contamination intensive des espèces bactériennes polluantes dans les écosystèmes aquatiques entraînant des perturbations environnementales et des risques sanitaires importants. Universellement, la pollution bactériologique de l'eau est évaluée par la recherche et le dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale dont la présence en nombre élevé indique une pollution d'origine fécale et la présence probable de microorganismes pathogènes (Burton *et al.*, 1987).

Le contrôle de la qualité de l'eau joue un rôle important dans la santé publique car celle-ci est susceptible d'engendrer des altérations catastrophiques sur le sol, sur l'organisme humain et même à la santé de toute une population (Roux, 1987).

La pollution hydrique est un phénomène courant en Algérie vu l'évolution socioéconomique du pays qui compte dix-sept bassins versants alimentaires à la fois par des eaux de surface et des eaux souterraines renouvelables et parfois non renouvelables. Aussi, faut-il indiquer que les ressources hydriques sont très changeantes notamment celles qui proviennent des nappes tributaires des conditions climatiques et surtout de l'exposition aux sources polluants (Chaoui *et al.*, 2013).

L'Oued Seybouse est l'un des cours d'eau les plus importants de l'extrême Nord-est de l'Algérie. Son réseau hydrographique est actuellement menacé par les activités humaines (rejets urbains et industriels, utilisation d'eau pour les besoins agricoles). L'eau de ce hydrosystème est cependant utilisée dans l'irrigation des champs avoisinants (Reggam, 2015).

L'objectif de cette étude est d'évaluer, d'une part le degré de pollution qui affecte l'eau de l'Oued Seybouse, de déterminer les causes possibles de cette pollution et son influence sur l'évolution des quelques paramètres physico-chimiques et d'autre part de présenter un protocole de travail basé sur l'évaluation de degré de contamination bactériologique et d'isoler des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques dans l'eau de l'Oued Seybouse.

Notre travail est structuré en trois chapitres interdépendants:

- Le premier chapitre présente une description générale du site d'étude (Oued Seybouse).

- Le deuxième est une étude expérimentale consacrée à la présentation du matériel et la méthodologie suivie pour la réalisation des analyses physico-chimiques et bactériologiques ainsi que la résistance des bactéries isolées aux antibiotiques.
- Le troisième et dernier chapitre illustre l'ensemble des résultats et leur discussion.
Une conclusion générale clôture ce mémoire.

Chapitre I

**Présentation de la zone d'étude
« Oued Seybouse »**

1-Présentation de la zone d'étude

1-1-Description géographique de la Seybouse

La Seybouse est une rivière du Nord- Est de l'Algérie qui prend naissance à l'ouest de la ville de Guelma précisément à Medjez Amar ou se rencontre ses deux principaux affluents ; Oued Cherf et Oued Bouhamdane et se termine au nord dans la mer Méditerranée après un parcours de 160Km. Le bassin de l'Oued Seybouse est l'un des plus grands bassins hydrologiques en Algérie (troisième Oued d'Algérie après Oued El Kabirdu Rhumelet Oued Medjerdah-Mellegue), sa superficie est de l'ordre de 6471km²(Debeiche, 2002; Satha, 2008).

Le bassin de Guelma est localisé dans la zone tellienne de la chaîne alpine de l'Algérie du nord-orientale. Il a forme allongée d'Est en Ouest sur 20 km de longueur et de 3 à 10 km de largeur. Cette zone est constituée d'un ensemble de terrasses emboîtées les unes aux autres correspondant à une dépression de 50km²de surface, traversée d'Ouest en Est par la Seybouse qui constitue le principal cours d'eau superficiel de la région et où viennent se jeter des petits oueds du bassin versant secondaire.

Localité : Guelma.

Longitude : 07 ° 28' E et Latitude 36°28'N.

Altitude : 227 m (in Mouassa, 2006).

Oued Seybouse est divisé en six sous-bassins principaux, c'est le bassin le plus vaste, après celui de la Medjerda, de la partie orientale de l'Afrique du Nord (Blayac 1912).

Bordé au nord par la mer Méditerranée, le bassin inférieur de la Seybouse entre Annaba et Medjez Amar se trouve comme étranglé entre la dépression où se loge le Lac Fetzara, déversoir des eaux du massif cristallin de l'Edough, à l'Ouest, et les territoires tributaires de l'Oued Bounamoussa, à l'Est. Alors que dans ses cours moyens et supérieur, il s'étale et s'élargit remarquablement. Cette expansion devient encore plus marquée quand elle atteint les hautes plaines où elle trouve de vastes et plats espaces à drainer. Au Sud, le bassin de la Seybouse touche la vallée de la haute Medjerda et ses nombreux affluents, celle-ci est limitrophe de la ligne de partage des eaux du Ranem (tributaire de la Seybouse), du Cherf et de la Mejerda à Ras et Alia, où naissent les cours supérieurs de l'oued Krab et Tiffech, qui tous les eaux affluents du Cherf.

Tableau 1. Répartition des sous bassins de la Seybouse (A.B.H.1999).

Sous bassin (code)	Superficie (km ²)	Nom	Caractère général	Longueur (Km)
14-01	1739	Oued Cherf amont	Haut Seybouse	25
14-02	1166	Oued Cherf aval	Moyenne Seybouse	32
14-03	1136	Oued Bouhamdane	Moyenne Seybouse	32
14-04	818	Oued Seybouse(moyenne Seybouse)	Moyenne Seybouse	50
14-05	555	Oued Mellah	Moyenne Seybouse	36
14-06	1057	Oued Seybouse(Seybouse maritime)	Basse Seybouse	65
total	6471	/	/	240

L'Oued Seybouse est l'un des oueds les plus importants de l'Algérie par la longueur de son parcours, le nombre de ses affluents et la superficie de son bassin, qui prend naissance près de la ville de Guelma par la réunion de deux affluents, l'Oued Cherf et Oued Bouhamdane et se jeter dans la baie d'Annaba par l'embouchure de Sidi Salam (Figure1).

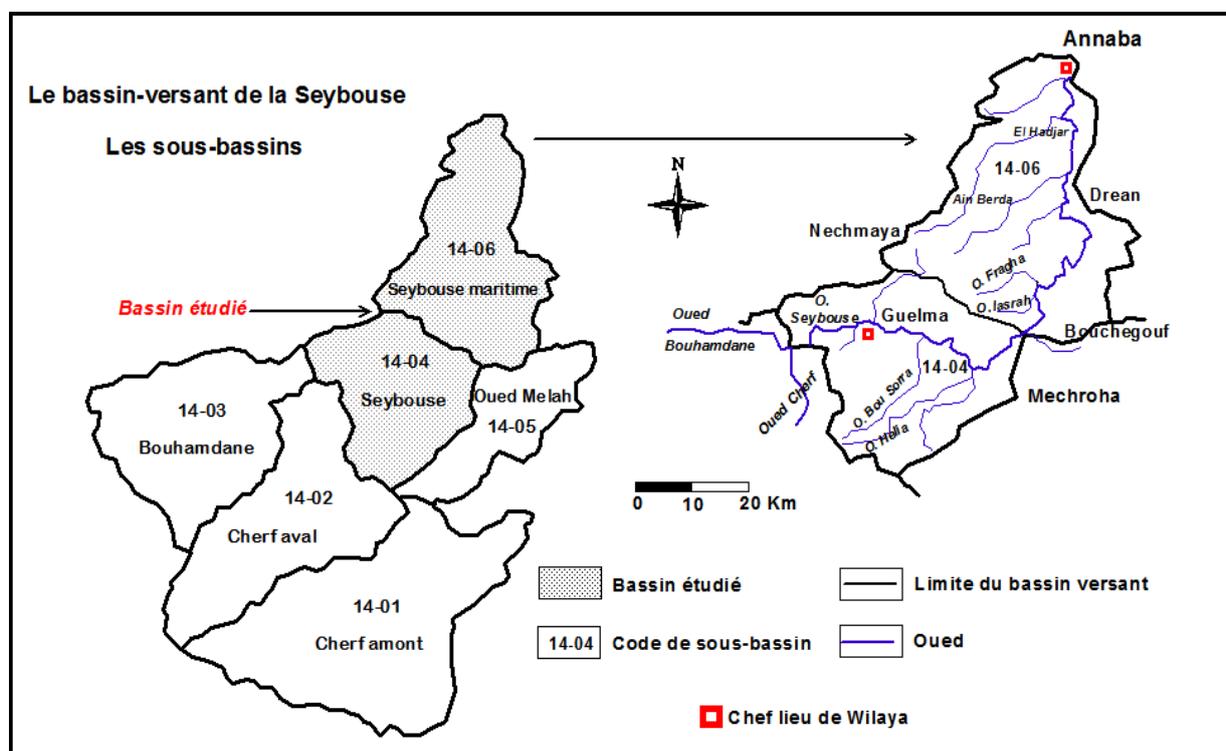


Figure 1. Bassin hydrographique de la Seybouse (Reggam, 2015).

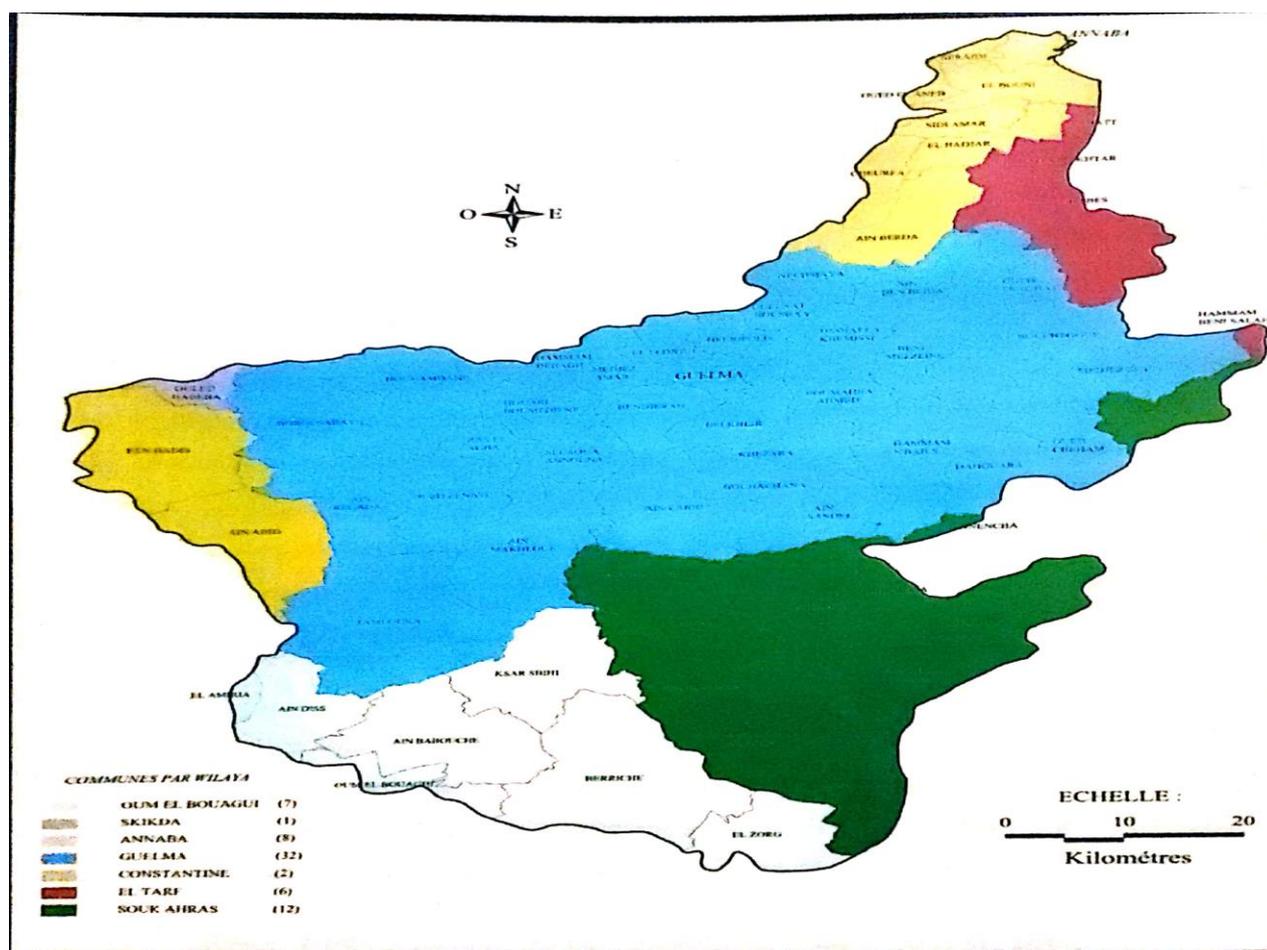


Figure 2. Découpage administratif du bassin de la Seybouse (A.B.H.2002).

Puis plus bas, l'Oued Mellègue, le plus gros tributaire de la Medjerda, drainent une vaste superficie mitoyenne de celle de la moyenne et de la haute Seybouse, une région, qui présente un relief montagneux de Souk Ahras et de Tiffech, principalement occupé par des zones forestières. Au Sud, les hautes plaines du Cherf, se soudent avec celles des Chotts salés du Guéllif, du Tarf, d'Ank Djemel. Une région peu accidentée, parsemée de petits massifs montagneux isolés contrastent sa belle monotonie au-dessus des hautes plaines comme le djebel Sidi Rghis (1635m) d'altitude (I), appartient par son flanc nord au domaine de la Seybouse.

Au Sud-Ouest, la grande plaine des Harectas est séparée de celle des Sellaoua par la chaîne montagneuse de Chebka, un relief à structure imbriquée, appartenant seulement dans sa moitié Nord au contingent territorial de la Seybouse est encore contigu par son côté Ouest, du bassin de oued Boumerzoug, par les monts des Ouled Rahmoun, ce dernier se réunit au Rhummel, et devient plus loin l'oued El Kebir. Au-delà, toujours à l'Ouest, le bassin de la Seybouse est jalonné par la chaîne numidique dont l'axe dirigé Est-Ouest, comme les monts

Taya et Debar, le côté Nord de cette chaîne dépend du lac Fetzara; le côté Sud, de l'Oued Bouhamdane, le plus important affluent de la Seybouse après le Cherf (Bouchlaghem. 2008).

1-2-Réseau hydrographique

Le réseau hydrographique du bassin de la Seybouse possède un régime hydrologique de type pluvial, fortement dominé par les précipitations sur l'ensemble de l'année avec un chevelu hydrologique de plus de (3.000 Km). Quarante-deux oueds ont une longueur supérieure à 10Km, dont deux : le Cherf (88.61 Km), et le Bouhamdane (37.49Km), se réunissent à Medjez Ammar pour donner naissance à l'Oued Seybouse(160), qui serpente vers le Nord en parcourant la base plaine d'Annaba, souvent inondée au moment des crues, avant de se jeter dans la baie d'Annaba par l'estuaire de Sidi Salem. (Bouchlaghem, 2008).

Le bassin de la Seybouse compte cinq barrages, dont deux sont classés en barrage de catégories 1 (grands barrages), une capacité totale de 377 hm³, et qui peuvent régulariser 110 hm³. Les trois autres font partie de la catégorie 2 (moyens barrages) (tableau 2). Soixante-quatre retenues collinaires sont essentiellement destinées à satisfaire les besoins en eau d'irrigation. Ces ouvrages ont une capacité totale de 7.5 hm³ (A.B.H-C,S,M,2002).

Tableau 2. Les barrages du bassin de la Seybouse (A, B, H, 2002).

Sous bassin (Code)	Wilaya	Commune	Dénomination	Capacité (hm ³)
14.01	41	Zouabi	Foum El Khanga	157
14.01	41	Tiffech	Tiffech	5.8
14.03	25	Ben Badis	El Haria	1.8
14.03	24	Bouhamdane	Hammam Debagh	220
14.03	24	Ain Makhoulf	Medjez El Bgar	2.86

Au niveau du bassin de la Seybouse, le territoire est ainsi divisé en trois terrasses physiographiques bien distinctes:

1-2-1-Hautes plaines (Haute –Seybouse)

Qui comprend le Sous-Bassin appelé 14.01. Il est peu perméable dans le secteur amont malgré un sol protégé par une végétation dense et une pluviométrie élevée (Djabri, 1996) Cette partie du bassin est divisé en trois sous-bassins :

a-Sous-Bassin de Cherf amont

Ce sous-bassin est traversé par l'Oued Cherf dont la longueur est de 25Km, et qui est alimenté par de nombreux affluents :

- ✓ OuedSettara:10Km.
- ✓ Oued Trouch:33Km.
- ✓ Oued Ain Snob:18Km.
- ✓ OuedLahamimine: 19,44Km.
- ✓ OuedTiffech:16,76Km.
- ✓ Oued Krab: 10,13Km(A,B,H,2002).

b-Sous-Bassin de Cherf aval

Ce sous-bassinest traversé par l'oued Cherf dont la longueur est de 32Km, ce dernier est alimenté par les affluents suivants:

- ✓ Oued M'Guisba:15Km.
- ✓ OuedMedjez El Bgar:12Km.
- ✓ OuedBouEalFrais:12Km.
- ✓ Oued El Aar:18Km.
- ✓ OuedCheniour:12Km.
- ✓ Oued Nil:10Km(A,B,H,2002).

c-Sous-Bassin de Bouhamdane

Ce sous-bassin est traversé par l'oued Bouhamdane dont la longueur est de 32Km, il est alimenté par plusieurs affluents dont les principaux sont :

- ✓ OuedBouskhoun:11Km.
- ✓ OuedSabath: 10,86Km.
- ✓ OuedHamira:10Km.
- ✓ Oued Zenati:40Km(A,B,H,2002).

Les deux oueds Zenati et Sabath forment par leur jonction l'oued Bouhamdane qui rencontre l'oued Cherf à Medjaz Ammar pour former la Seybouse (Satha, 2008).

1-2-2-Tell méridional (Moyenne-Seybouse)

Qui commence au Moulin Rochefort, qui s'est noyé après la mise en eau des terrains submergés, du barrage de Foum El Khanga, point où l'oued Cherf pénètre dans la Tell, et qui finit à Bouchegouf où cette oued devient alors la Seybouse proprement dite, couvrant les Sous-bassins : 14-02, 14-04 et 14-05.

Plusieurs cours d'eau viennent y affluer :

- ✓ Oued Boumia: 20Km.
- ✓ Oued BouSorra: 27Km.
- ✓ Oued El Maiz: 10,16Km.
- ✓ Oued Halia: 28Km.
- ✓ Oued Bradae: 12Km.
- ✓ Oued Zimba: 17Km.

L'Oued est orienté de l'Ouest à l'Est et traverse Nador pour déboucher dans la dépression de Bouchegouf où converge un nouveau système hydrographique qui vient se jeter dans la Seybouse au Sud-Ouest de Bouchegouf.

1-2-3-Tell septentrional (Basse-Seybouse)

Entre Bouchegouf et Annaba, à travers laquelle l'oued garde le nom de la Seybouse, qui appartient au Sous-bassin 14-06.

Basse Seybouse est divisée en deux sous bassins :

a-Sous bassin de Mellah

Ce sous-bassin est alimenté par de nombreux affluents parmi lesquelles:

- ✓ Oued Zouara: 10Km.
- ✓ Oued Renam: 37Km (A, B, H, 2002).

Son cours principal est formé par la réunion de l'oued Sfa. Cheham et oued Ranem. Ce dernier, qui plus haut porte le nom de l'oued R'biba, Sekaka avant de recevoir les eaux de l'oued Rihane formé à son tour par la réunion oued Hammam et oued Rbiba. Au Nord-Est, les oueds Bou Redine et Maaza forment oued El Mellah en aval (Satha, 2008).

b-Sous-Bassin de Seybouse Maritime

A ce niveau, la Seybouse est alimentée par :

- ✓ Oued Frarah: 11Km.
- ✓ Oued Khranga: 29Km.

✓ Oued Meboudja:27Km (A,B,H,2002).

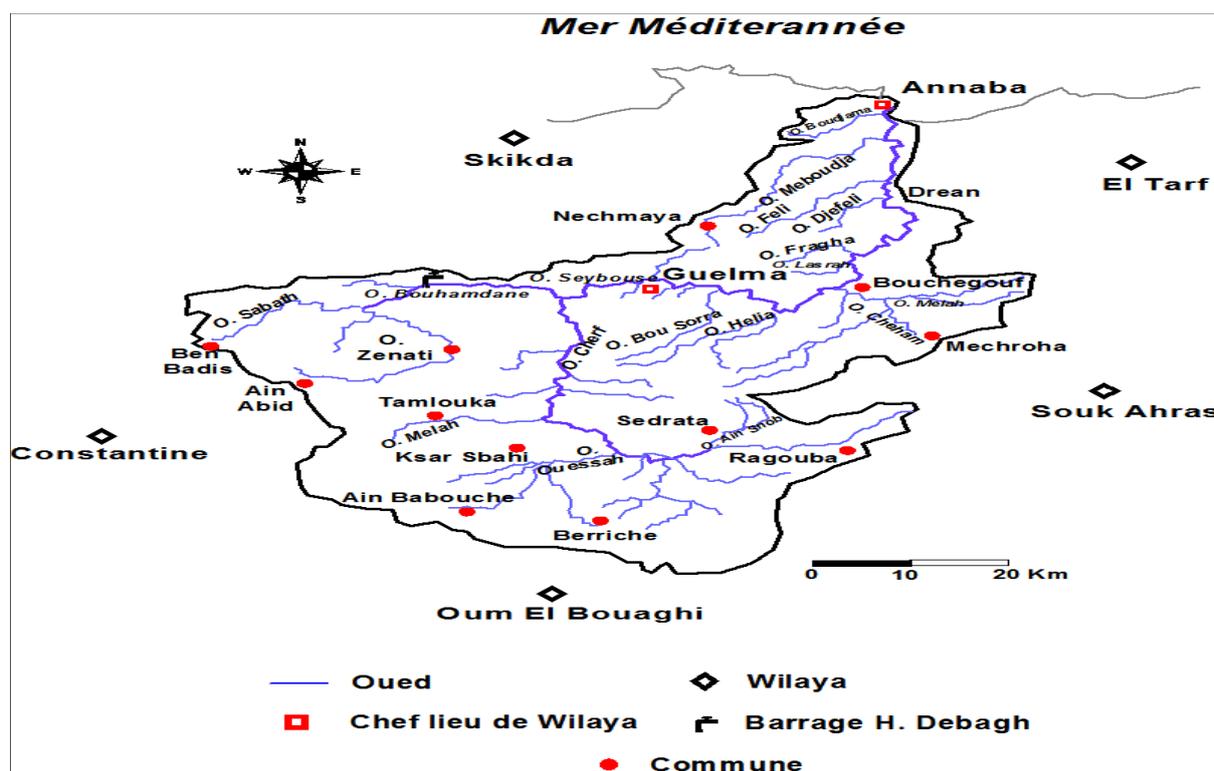


Figure 3. Réseau hydrographique du bassin de la Seybouse (Reggam, 2015).

1-3-Description climatique

Le climat est un facteur abiotique important dans l'étude de la typologie et le fonctionnement d'un milieu naturel. Il nous permet de déterminer les composants et les caractéristiques de ce dernier. L'étude des données climatologiques est une opération indispensable dans toute étude hydrogéologique, car elle facilite la compréhension des mécanismes d'alimentation et de circulation des eaux naturelles (in Sayad, 2015).

Les hivers sont froids avec des épisodes neigeux parfois importants sur les régions Sud. Les étés sont très chauds et secs, quelques nuage orageux rompent la monotonie du temps, accompagnés d'averses de grêle et de fortes précipitation brève et locale, alterne souvent avec des chaleurs brûlantes qui peuvent se manifester de manière violenté même en Juillet et début Aout(Bouchlaghem,2008).

A. La température

La température est l'un des facteurs les plus importants dans l'étude climatique car elle agit directement sur le phénomène d'évapotranspiration et donc le déficit d'écoulement annuel et saisonnier. Les moyennes mensuelles les plus élevées sont observées pendant la période d'été entre juin et octobre. Par contre les températures les plus basses sont observées pendant la période hivernale entre décembre et mars (Figure 4). Le suivi de l'évolution de la température nous donne une courbe en cloche ou les maximums sont observés en été et les minimums en hiver (in Mahdjoub, 2017).

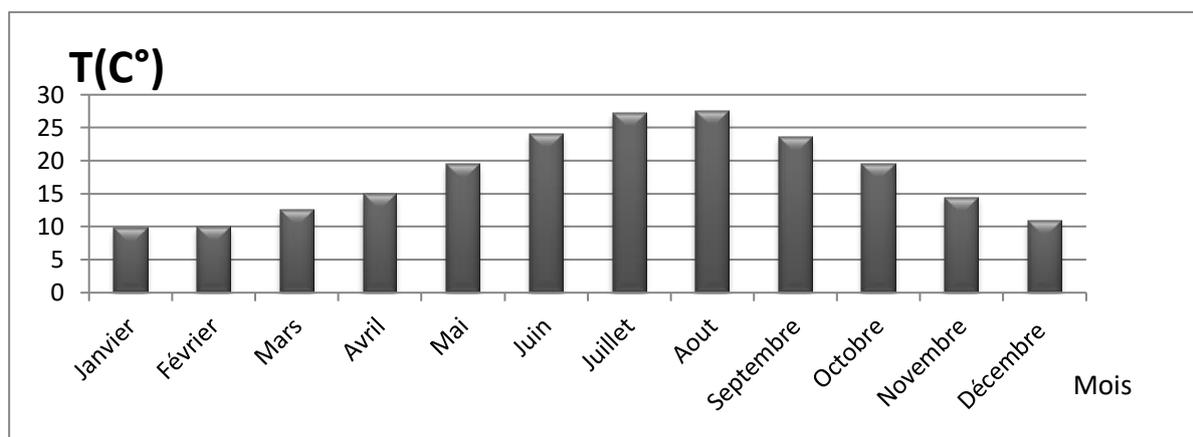


Figure 4. Température mensuelle en (C°) durant la période (2013-2017) (Station météorologique de Guelma, 2018).

B. Les précipitations

Constituant un facteur essentiel qui caractérise le climat d'une région, les précipitations jouent un rôle prépondérant dans le comportement hydraulique des cours d'eau et dans l'alimentation éventuelle des nappes souterraines.

La zone d'étude fait partie des régions les plus tempérées et les plus arrosées de l'Algérie, elle est soumise à un climat méditerranéen caractérisé par un hiver doux et humide et un été chaud et sec, dont le régime dépend principalement de la précipitation et de la température (Figure 5) (in Sayad, 2015).

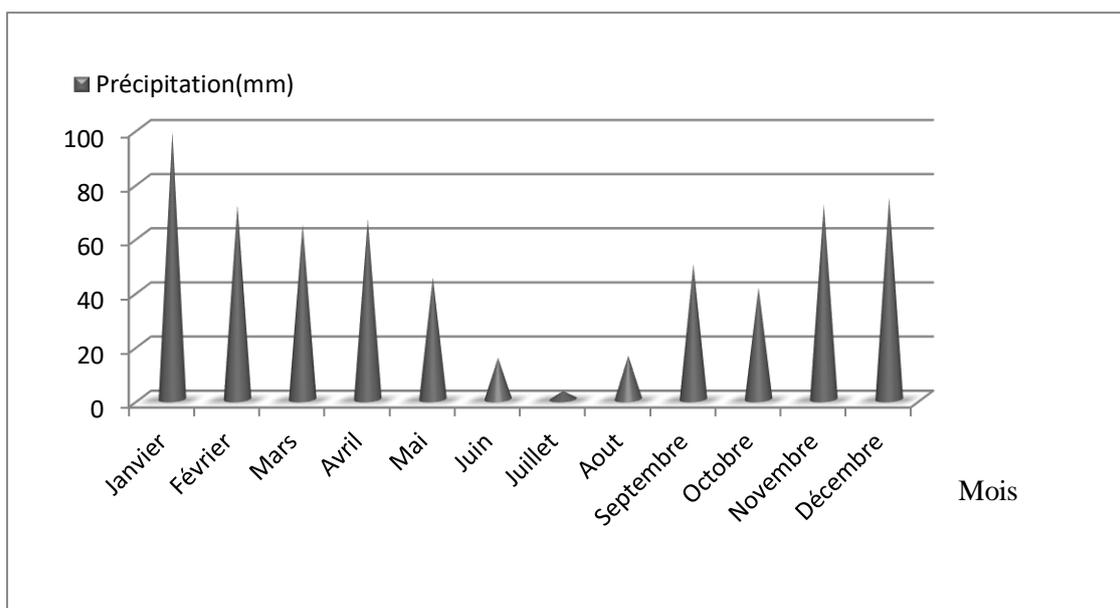


Figure 5. Précipitation moyenne mensuelle en (mm) durant la période (2013-2017) (Station météorologique de Guelma, 2018).

C. L'humidité

L'humidité de l'air est son contenu en vapeur d'eau. Elle s'exprime par l'humidité relative, qui est la quantité de vapeur d'eau contenue dans l'atmosphère exprimé en pourcentage par rapport à l'humidité saturante (100%) pour la température considérée (Brun et Mary, 2003).

Les moyennes mensuelles de l'humidité relative varient de 76.54 % en hiver (au mois de janvier) à 56,12 % en été (au mois de juillet) (Figure 6).

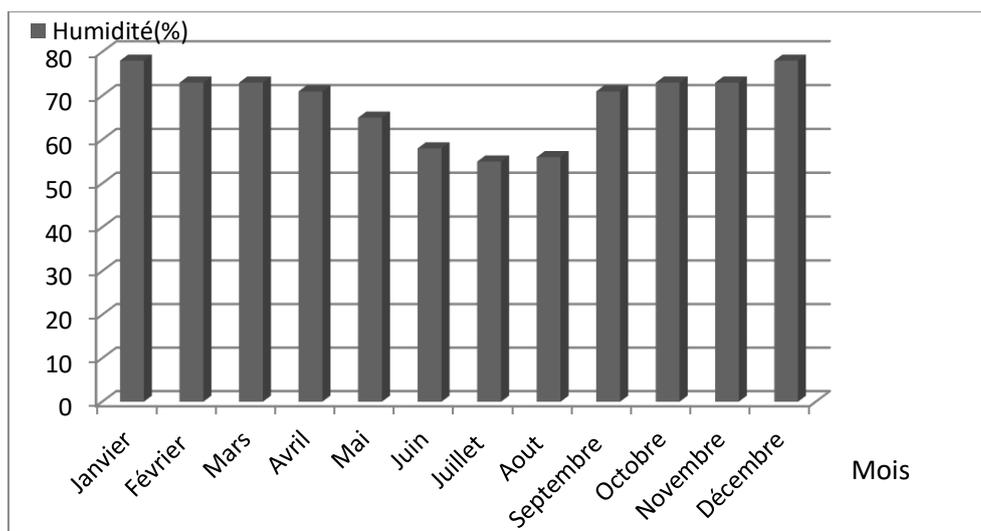


Figure 6. Variation mensuelle de l'humidité relative durant la période (2013-2017)(Station météorologique de Guelma, 2018).

D. Le vent

Les vents ont un effet important sur les phénomènes d'évaporation de précipitation et à un degré moindre sur les températures (in Attoui, 2014). La région d'étude est prédominée par des vents avec vitesse moyenne de l'ordre de 1,7 m/s (Figure 7).

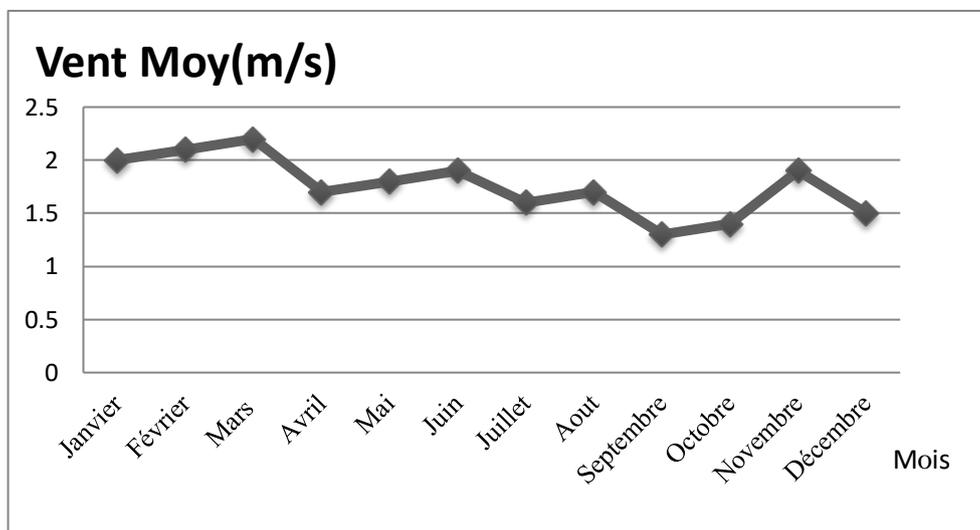


Figure 7. Variation mensuelle de vent durant la période (2013-2017) (Station météorologique de Guelma, 2018).

1-4-Exploitation du bassin de la Seybouse

La région d'étude est une région à vocation agricole et industrielle. Les industries agroalimentaires en général et les laiteries en particulier sont parmi les plus exigeants en qualité et en quantité d'eaux.

A/ L'agriculture

Oued Seybouse alimente les terres agricoles à partir d'un périmètre aménagé constitué par cinq secteurs d'une superficie globale de 9600hectares, et sert à alimenter les différentes nappes phréatique des communes: Medjez Amar, Guelma, Boumahra, Belkheir, Bouchegouf.

Pour la compagnie d'irrigation effectuée en 2012 à irriguer 4900 hectares pour différentes spéculations (Intérêt commercial).d'où la répartition par groupe de culture est comme suite : culture maraichère 1900 ha, industrielle 2449 ha (Tomates industrielles). Arboriculture 482 ha, fourragère (orange) 29 ha, céréales (blé dur, tendre) 40 ha (DSA 2012).

B/ L'industrie

Les industries dans le bassin de la Seybouse sont principalement regroupées dans lesous bassin de la Seybouse Maritime. C'est des villes importantes d'Annaba, El Hadjar, ElBouni et Sidi Amar que le tissu industriel est le plus dense.

Trois catégories d'industries sont observées :

- industries lourdes.
- industrie chimique.
- et enfin l'industrie agro-alimentaire présentée par de petites entreprises.

C/ Agglomération

Un million trois cent mille (1.300.000) habitants, répartis en soixante-huit (68) communes, et sept (7) wilayas. Trente-trois (33) communes sont entièrement incluses dans le bassin et trente-cinq (35) partiellement. La seule agglomération d'Annaba représente dix-huit pour cent (18%) de la population totale du bassin (Tableau 3).

Tableau 3. Répartition de la population.

Agglomération	Population (Hab)			
	1987	1998	2002	2006
Annaba	222 518	240 190	258 058	278 827
Guelma	82 518	108 734	116 693	/
Sidi Amar	24 620	40 706	43 734	92 273
El Bouni	26 668	30 153	32 396	138 013
Chihani	/	/	/	10 226
Drean	/	/	/	38 892

1-5- Contexte socio-économique

Cette région est connue par sa grande activité agricole et industrielle. La population qui s'y trouve atteint 150 000 habitants, elle est concentrée généralement au niveau des communes et des hameaux.

L'agriculture est observée sur l'ensemble de la plaine avec une très grande variété de cultures, céréalières, maraîchères et arboricoles. L'industrie est remarquable dans la région, elle se positionne surtout en bordure de l'Oued. Trois catégories d'industries sont observées :

- industries lourdes avec SIDER (Société Nationale de Sidérurgie).
- industrie chimique avec le complexe des engrais phosphatés et azotés (FERTIAL).
- enfin l'industrie agro-alimentaire présentée par de petites entreprises.

L'ensemble des rejets urbains et industriels se jette directement dans les Oueds, sauf celui de l'usine FERTIAL qui envoie ces rejets au niveau de la mer (in Gouiz, 2003; in Aimène, 2007).

1-6-Pédologie de la Seybouse

La Seybouse est constituée par des formations sablo-argileuses de 2 à 20 m d'épaisseur avec une perméabilité de l'ordre de 10^{-6} à 5.10^{-5} m/s, et une résistivité de l'ordre $2,3. 10^{-3}$ à $4,2. 10^{-3}$ m/s, par contre au lit de l'Oued, les formations sont constituées par des matériaux alluvionnaires, des limons et des cailloux (in Charchar, 2009). Le débit de l'Oued Seybouse varie entre 0 et $100 \text{ m}^3/\text{s}$, mais pendant les périodes de forte averse il peut atteindre des valeurs de l'ordre de $630 \text{ m}^3/\text{s}$. (Bouhrira et Aoun-Sebaiti, 2012).

1-7- Cadre biotique de la Seybouse

A/ La faune

Le lit de l'Oued Seybouse est largement fréquenté par une faune très diversifiée, les plus importants sont : le sanglier, le hérisson, le renard... et une avifaune aquatiques représenté par la cigogne, le héron garde – bœufs, le héron cendré, la poule d'eau. Nous pouvant aussi observer des ovins, des bovins, des caprins dont les riverains les ramenant sur les berges, tout au long de l'Oued (Charchar, 2009).

B/ La flore

De points de vue floristiques, le couvert végétal a une influence directe sur l'écoulement fluvial ainsi que les facteurs orographiques et climatiques. La résistance à l'écoulement est d'autant plus grande que le couvert végétal est plus dense (in Reggam, 2015).

La flore de la région peut être regroupée en deux communautés, une qui regroupe les plantes hydrophytes telle que *Typha angustifolia*, *Nasturtium officinale*, *Alisma plantago-aquatica michaletti*, *Apium nodiflorum*, *Phragmites australis subsp michaletti*, et la deuxième qui regroupe une flore dite sauvage loin des bords d'eau qui regroupe *Calendula arvensis*, *Centaurea napifolia*, *Galactites tomentosa*, *Taraxacum officinale*, *Brassica napus*, *Diplotaxis éricoïdes* et beaucoup d'autres espèces (Zebsa, 2016).

1-8-Les dangers menaçant le bassin Seybouse

Le bassin de la Seybouse est confronté à la pollution urbaine, industrielle, et agricole. Cette pollution émane des différentes villes, usines et zones agricoles situées sur 2 rives (Tableau 4).

Dans le bassin de la Seybouse, la pollution a atteint un degré élevé. 4,5 million de m³ sont rejetés annuellement dans les Oueds, sur lesquels 3 millions de m³ sont des huiles usagées (Bougherira et Aoun-Sebaiti, 2012) provenant des unités industrielles, potentiellement pollué (voir la couleur et l'odeur) qu'il n'est pas besoin de procéder à des analyses scientifiques pour le prouver (in Elafri, 2009).

Tableau 4. Les principales sources de pollution pour la Seybouse (in Charchar, 2009).

Les agglomérations	Les industries dans le bassin	Les périmètres d'irrigation	Les industries particulièrement polluantes
Annaba: 280.000 hab Guelma: 140.000 hab Sidi Amar: 50.000hab ElBouni: 40.000 hab	-86 unités industrielles importantes -8 seulement ont leur propre Station d'épuration	- Guelma Bouchegouf(12900ha). -Bounamoussa (4500ha).	Levureries Bouchegouf: rejets d'eau noire Carrelage à Guelma: rejets d'eau minéralisée Sucrieries: eaux riches en matières organiques en suspension.

1-9-Maladies à transmission hydrique

Les maladies hydriques (ou maladies à transmission hydrique) sont les maladies (et par l'extension les risques sanitaires) liés à la qualité de l'eau et à l'accès à l'eau potable. Ce sont souvent des « maladies évitables » à traiter comme enjeu de santé environnementale.

Tableau 5. Principales maladies à transmission hydrique. (Association française pour l'étude des eaux (A.F.E.E.1985).

Organismes	Maladies	Principal site atteint
1-Bactéries		
<i>Shigella</i>	Shigellose(dysenterie bacillaire)	Système gastro-intestinal
<i>Salmonella typhi</i>	Fièvre typhoïde	Intestin
<i>Salmonella paratyphi</i>	Fièvre entérique	Système gastro-intestinal
<i>Salmonella entérique</i>	Gastro-entérite	Système gastro-intestinal
<i>Escherichia coli</i>	Gastro-entérite	Système gastro-intestinal
<i>Vibrio cholera</i>	Choléra	intestinal
<i>Francisella tularensis</i>	Tularémie	Système respiratoire foie-rate ganglions lymphatique
<i>Leptospirose icterohaemorrhagiae</i>	Leptospirose	Foie
2-Virus		
Poliovirus	Poliomyélite méningite aseptique	Moelle épinière méningite
Coxsackievirus	Myocardite méningite aseptique épidémie myalgia	Cœur - muscle
Echovirus	Méningite aseptique gastro-entérite	Méningite-intestin
Adénovirus	Pharyngite	Pharynx
Réovirus	Maladies respiratoire diarrhées	Appareil respiratoire et digestif
Virus A de l'hépatite	Hépatite infectieuse	Foie
Virus gastro-entérique	Gastro-entérite	Système gastro-intestinal
3-Protozoaires		
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amibiase	Système gastro-intestinal
<i>Naegleriagruberia</i>	Méningite encéphalitique	Système nerveux central
<i>Giardia lamblia</i>	Giardioses	Intestin

Chapitre II

Matériel et méthodes

1-Introduction

L'évaluation de la qualité biologique des eaux de surface se base aussi bien sur la mesure des paramètres physico-chimique que sur des analyses microbiologiques telle que le dénombrement et la recherche des germes, ainsi que la présence ou l'absence des micro-organismes pathogènes.

Notre étude a pour but d'évaluer la qualité des eaux de l'Oued Seybouse afin d'isolée et d'identifier les différentes bactéries multi-résistantes (pathogènes et non pathogènes) au antibiotiques.

2-Echantillonnage

La distribution des micro-organismes et des éléments chimiques dans les eaux superficielles n'est pas homogène. Elle a été décrite comme étant aléatoire ou propagative (Lightfoot, 2002).L'échantillon destiné à l'analyse est le plus souvent prélevé de façon à représenter exhaustivement le milieu d'où il provient. La concentration étant supposée être la même dans le milieu d'origine et dans l'échantillon (Rodier *et al.*, 1996).

2-1-Matériels d'échantillonnages

Pour faciliter les prélèvements et éviter toute les types de contamination. il est préférables d'utiliser des flacons en verre pyrex de 250 ml, Les flacons de prélèvement sont bien nettoyer au détergent et à l'eau de javel puis sont rincés avec l'eau de robinet et à la fin avec de l'eau distillée.

Après le nettoyage des flacons il faut faire une stérilisation pour éviter tout risque de contamination, la stérilisation peut être :

- Par l'autoclave (chaleur humide) : avec une température 121°C durant 15 min.
- Par four pasteur (chaleur sèche):avec une température 170°C durant 1 h (Kahlouche *et al.*,2010).

2-2-Transport et conservation au laboratoire

Tout flacon d'échantillonnage doit être clairement identifié et être accompagné d'informations suffisantes concernant l'échantillon.

Les prélèvements sont transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C. Même dans de telles conditions, l'analyse bactériologique doit débuter dans un délai maximal de 8 à 24 heures, après le recueil de l'échantillon. Si exceptionnellement l'analyse doit être reportée (Rejsek,2002).

L'étiquetage est très important et primordial pour éviter tout risque de confusion, Sur chaque étiquette doivent être mentionnés l'heure et la date du prélèvement pour assurer une bonne conservation des échantillons, il faut les transporter dans une glacière contenant des poches de glace afin d'éviter la destruction de l'échantillon.

2-3-Méthode de prélèvement

Le mode de prélèvement varie suivant l'origine de l'eau, Dans le cas d'une rivière, d'une nappe ouverte (bassin), d'un réservoir, la bouteille est plongée à une certaine distance du fond (30 cm) et de la surface, assez loin de rive ou des bords ainsi que pour des obstacles naturels ou artificiels, en dehors des zones mortes ou des remous, et en évitant la remise en suspension des dépôts (Rodier *et al.*, 1984).

Durant les prélèvements, les flacons sont rincés trois fois avec de l'eau à analyser et sont ouverts sous l'eau puis remplis jusqu'au bord, Le bouchon est placé de telle manière à ce qu'il n'y ait aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport, Les prélèvements sont effectués dans les meilleures conditions de stérilisation.

2-4-Point de prélèvement

Pour mieux évaluer la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau de l'Oued Seybouse nous avons choisi ce site « El Fdjoudj » parce qu'il est accessible et soumis à une pollution agricole (pépinière de Ben Amor), et à une exploitation par les terres entourées et un grand phénomène de pâturage.

Les coordonnées géographiques :

N 36°28.55 "

E 7°24.50.

Altitude :291m.



Figure 8. Vue générale de point de prélèvement: Oued Seybouse (Photo pris par Saidia, Ikhlal le 18-04-2021).

3-Analyses physico-chimique de l'eau d'Oued Seybouse

Les caractéristiques physico-chimiques des eaux dépendent d'un certain nombre de facteurs tels que la composition chimique et minéralogique des terrains traversés la structure géologique, les conditions physico-chimiques locales.

D'éventuelles pollutions peuvent modifier les caractéristiques naturelles de l'eau, Nous déterminons ces caractéristiques à l'aide de mesures et d'analyses différentes.

Les analyses physico-chimiques mesurées in situ ont été réalisées à l'aide d'un multi paramètre de type HANNA HI 9828.

A-Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est le logarithme décimal de l'inverse de sa concentration ion d'hydrogène $[H_3O^+]$, le pH n'a pas de signification hygiénique mais il présente une notion très importante pour la détermination de l'agressivité de l'eau, Habituellement, il varie entre 7.2 et 7.6 (Dussart 1966; Bremond et vuichard 1973).

Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique et dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau (Castany et Margot, 1977). Il joue aussi un rôle primordial dans les processus biologiques (Rodier,2005).

Tableau 6. Classification des eaux d'après leur pH (Agrigon, 2000; Hakm, 2002).

pH < 5	Présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles.
pH = 7	pH neutre.
7 < pH < 8	Majorité des eaux de surface.
5,5 < pH < 8	Majorité des eaux souterraines.
pH = 8	Forte alcalinité, évaporation interne.

B- La température

La température a une grande importance dans l'étude et la surveillance des eaux (les eaux souterraine et superficielles). L'élévation de la température s'accompagne d'une diminution de la densité, d'une réduction de la viscosité, d'une augmentation de la tension de vapeur saturante à la surface et d'une diminution de la solubilité des gaz, en plus cette augmentation de la température favorise l'autoépuration, et accroît la vitesse de sédimentation

(Lop, 1974). D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et de leur origine (Leclerc; 1996).

C- La salinité

La salinité est proportionnelle à la conductivité électrique, elle dépend de la température, de la concentration de types d'ions présents, dans la plupart des rivières, le risque d'une salinité excessive due à la présence de chlorure de sodium (Hceflcd;2006).

D-La conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) représente la capacité de l'eau à conduire un courant électrique, elle est proportionnelle à la minéralisation de l'eau, ainsi plus l'eau est riche en sels minéraux ionisés, plus la conductivité est élevée (Derwich, 2010). La conductivité électrique est liée à la présence d'ions en solution, elle dépend de la nature des ions dissous et leurs concentrations (de Villers *et al.*, 2005).

L'eau est légèrement conductrice, cette conductivité très faible mais jamais nulle est expliquée par une légère dissolution de la molécule d'eau, elle est exprimée en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

E- L'oxygène dissous

L'oxygène dissous est un composé essentiel de l'eau car il conditionne la vie des micro-organismes aquatiques et généralement le fonctionnement de cet écosystème, il est exprimé en mg/l.

La quantification de la concentration de l'oxygène dissous dans l'eau d'un hydrosystème est un facteur important du fait qu'il participe à la majorité des processus chimiques et biologiques dans ces milieux aquatiques (Rodier *et al.*,1984,Brahimi 2014).

4-Analyse bactériologique de l'eau de l'Oued Seybouse

Afin de déterminer la qualité de l'eau, l'analyse bactériologique est essentielle. Elle doit permettre d'isoler et d'identifier un micro-organisme spécifique (méthode qualitative) ou de quantifier une flore particulière dans un échantillon (méthode quantitative).

Les analyses bactériologiques se sont basées sur :

- ✓ La recherche et le dénombrement des bactéries.
- ✓ La recherche des germes pathogènes.

Dans notre travail, nous avons effectué un dénombrement systématique de germes indicateurs de pollution qui sont :

- ✓ Les Coliformes totaux et fécaux.

- ✓ Les Streptocoques fécaux.
- ✓ Les anaérobies sulfito-réductrices (ASR).
- ✓ Les germes pathogènes qui sont :Salmonelles, Shigelles, staphylocoques, Vibrion, et Pseudomonas.

4-1 – Recherche et dénombrement des micro-organismes

4-1-1- Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et fécaux

Les coliformes sont des bacilles à Gram négatifs, non sporulés, aérobie ou anaérobie facultatif, ne possédant pas d'oxydase, capable de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37 °C (Carbonelle *et al.*, Camille, 2003).

La recherche et le dénombrement des coliformes ont été effectués par la méthode du nombre le plus probable (NPP), appelée aussi la colimétrie.

➤ Mode opératoire

La recherche et le dénombrement des coliformes et l'identification de *E coli* dans les eaux, en milieu liquide par technique de NPP, Cette technique se fait en deux étapes consécutives :

*Le test présomptif : Réservé à la recherche des coliformes totaux.

* Le test confirmatif: Réservé à la recherche des coliformes fécaux et de *E coli* (Lebres,2002 ;Chaouch,2007).

• Test présomptif

Il est effectué en utilisant le Bouillon lactosé au Bromocrésol Pourpre, simple concentration (BCPL S/C), Tous les tubes sont munis d'une cloche de Durham pour déceler le dégagement éventuel du gaz dans le milieu (Mouffok, 2001;Lebres,2002).

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des micro-organismes, nous avons réalisé 5 dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}), avec trois répétition par dilutions (Rejsek;2002).

- Nous prenons 5 tubes de bouillon lactosé au Bromocrésol Pourpre (BCPL), simple concentration, munis d'une cloche de Durham.

- Prélever 1 ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la porter dans le premier tube de la série S1 contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-1} .
- Nous prélevons 1 ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajoute à un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-2} .
- Transférer 1 ml de la dilution 10^{-2} , dans un tube contenant 9 ml de BCPL pour obtenir la dilution 10^{-3} .
- Refaire la technique pour deux autres tubes afin d'obtenir 5 tubes de BCPL, et refaire pour deux autres séries S2, S3. Changer à chaque fois de pipette (Délarras, 2008).
- Chasser l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum, l'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

➤ **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement de gaz (Supérieur au 1/10^{ème} de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites (Labres *et al.*, 2008). La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP.

- **Test de confirmation**

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube contenant le milieu Eau Peptonée Exempte d'Indole.

➤ **Lecture**

- Bien mélanger le milieu et l'inoculum, L'incubation se fait cette fois à 44°C pendant 24 heures.
- On ajoute quelques gouttes de réactif Kovacs dans les tubes montrant un trouble, Une réaction considérée positive correspond à la formation d'un anneau rouge, témoin de la production d'indole par *E coli*.

- Noter le nombre des tubes positifs et exprimer le résultat selon la table de Mac Grady, pour déterminer le nombre des coliformes fécaux par 100 ml d'échantillon.

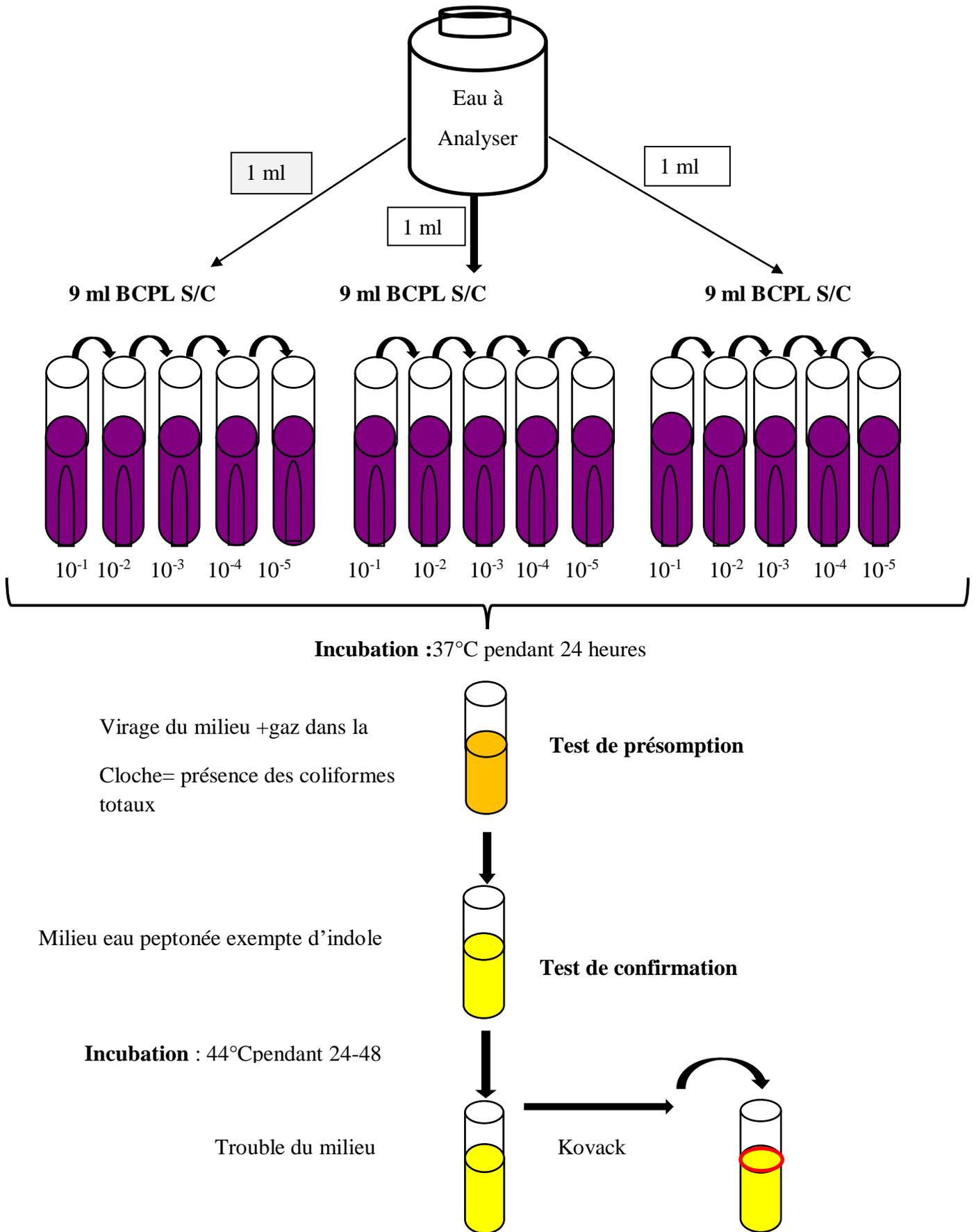


Figure 9. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et fécaux.

4-1-2- Recherche et dénombrement des Streptocoque fécaux

Les streptocoques fécaux sont des bactéries de la famille des Enterococacae, Gram ⁺, catalase ⁻, Aérobie anaérobie facultatif, du groupe D de la classification de Lancefield, sont considérés d'une manière globale, comme étant des témoins de pollution fécale (Mouffok, 2001).

La recherche et le dénombrement des streptocoques du groupe D dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait aussi en deux étapes consécutives :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des streptocoques.
- Le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des streptocoques du groupe D.

Test de présomption

La recherche se fait en bouillon Rothe S/C (simple concentration)

- Nous prenons 5 tubes de bouillon Rothe simple concentration.
- Prélever 1 ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la porte dans le premier tube de la série S1 contenant 9 ml de Rothe pour obtenir la dilution 10^{-1} .
- Nous prélevons 1 ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajoute à un tube contenant 9 ml de Rothe, pour obtenir la dilution 10^{-2} .
- Transférer 1 ml de la dilution 10^{-2} , dans un tube contenant 9 ml de Rothe pour obtenir la dilution.
- Refera la technique pour deux autre tubes afin d'obtenir 5 tubes de Rothe, et refaire pour deux autre série S2, S3. Changer à chaque fois de pipette.
- L'incubation se fait 37°C pendant 24 à 48 heures.

Seront considérés comme présomptifs les tubes présentant un trouble microbien (Rejsek, 2002;Délarras,2008).

Test de confirmation

Après l'incubation sur le milieu Rothe, dénombrer les tubes positifs, (trouble de la couleur) par la méthode de NPP.

Les tubes de Rothe trouvés positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube contenant le milieu Eva Litsky, bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h (Délarras,2008).

➤ **Lecture**

Seront considérés comme positifs les tubes présentant :

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (Blanchâtre) au fond des tubes (Lebres,2006).
- La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady.

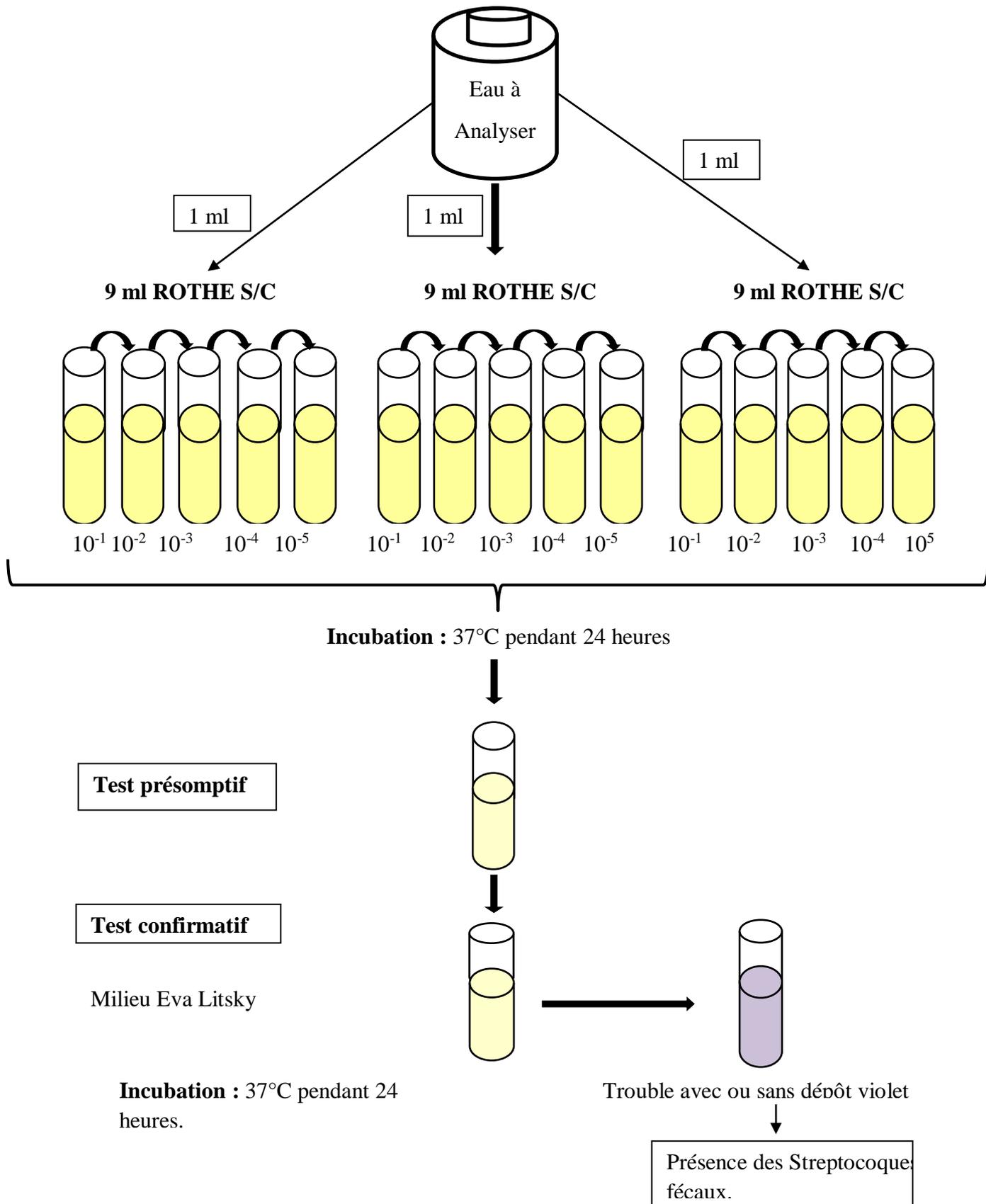


Figure 10. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.

4-1-3-Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies Sulfito-réductrices(ASR)

Les anaérobies Sulfito –réductrices(ASR) sont des bactéries Gram +,se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de Sodium ($\text{Na}^2 \text{SO}_3$) qui se trouve dans le milieu en sulfite qui en présence de Fe^{+2} donne FeS (Sulfite de fer) de couleur noire (Lebres;2006).

➤ Mode opératoire

A partir l'eau à analyser:

- Prendre environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80 °C pendant 8 à 10 minutes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 20 ml de gélose Viande Foie, fondue, additionnée de 4 gouttes d'Alun de fer et 10 gouttes de sulfite de sodium, puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant la formation des billes d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes, puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures.

➤ Lecture

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures, Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le totale des colonies à 20 ml d'eau à analyser (Lebres;2006).

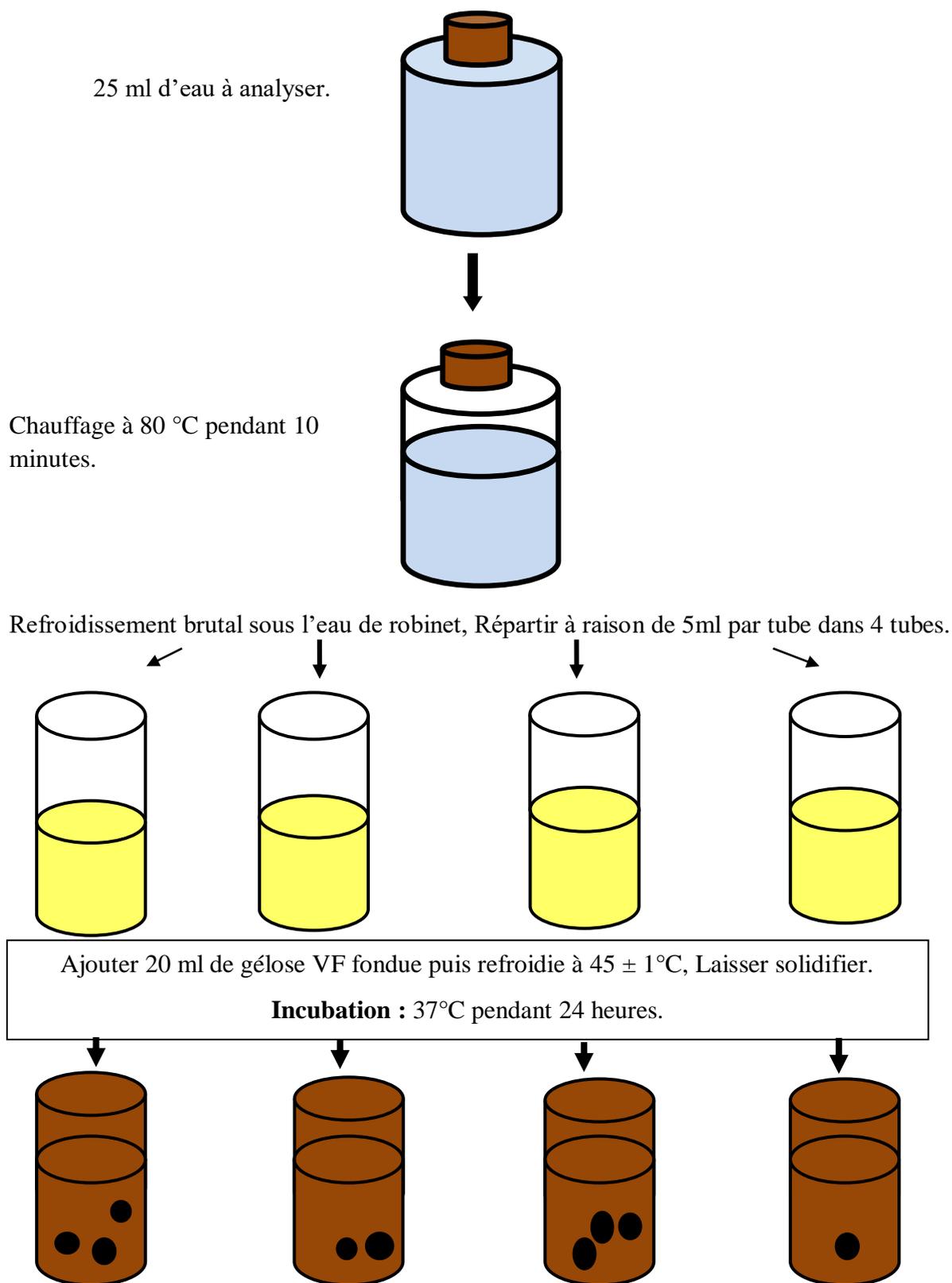


Figure 11. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies Sulfito-réductrices(ASR).

4-2- Recherche des germes pathogènes

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'homme dans tous les types d'eau.

La recherche des germes pathogènes a été effectuée sur plusieurs milieux de culture, de plus pour la recherche de certains germes : les Staphylocoques, les Vibrions, les Pseudomonas, les Salmonelles, et les Shigelles, On a utilisé plusieurs milieux.

4-2-1-Recherche des Salmonelles

Les Salmonelles sont des entérobactéries, Gram négatifs (-), sous forme de bacille, aéro-anaérobie facultative, ne fermentant pas le lactose mais fermentant le glucose avec production de gaz et de H₂S (Pechère *et al.*, 1982; Carbonelle *et al.*, 1988; Labres *et al.*, 2008).

4-2-2-Recherche des Shigelles

Les Shigelles sont des *Enterobacteriaceae*, rencontrées exclusivement chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif (Berche *et al.*, 1988).

4-2-3-Recherche des Vibrions

Les bactéries du genre *Vibrio* appartiennent à la famille des *Vibrionaceae*, qui se présentent sous forme de bacilles à Gram négatifs, incurvés hautement pathogènes (Pechère *et al.*, 1988), ils sont plus ou moins basophiles (pH 8,5 à 9), halophiles ou halotolérantes suivant les espèces (Delarras et Trébaol, 2003). Il est responsable d'une maladie pestilentielle à tropisme digestif. (Berche *et al.*, 1988).

4-2-4-Recherche des Pseudomonas

Les Pseudomonas sont des bactéries hautement pathogène et résistante à plusieurs antibiotiques, qui se présentent se forme de bâtonnets, aérobie à Gram négatif, lactose négative, autrement dit dépourvue d'enzyme dégradant le lactose (Pechère *et al.*, 1982; Labres *et al.*, 2008).

4-2-5-Recherche des Staphylocoques

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, non mobiles, asporulés et habituellement non capsulés. La plupart des espèces sont aéro-anaérobies facultatives et à catalase positive (Freney *et al.*, 2000).

➤ **Méthode d'ensemencement sur gélose**

Les géloses employées sont : Chapman, GNAB, Hektoen, SS, GN, Mac conkey, King A et King B. L'ensemencement par strie sur boîtes de pétri est pratiqué le plus souvent dans un but d'isolement, Les boîtes sont codées, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

➤ **Isolement et identification**

Pour étudier les micro-organismes, il est indispensable de les isoler et d'en faire une culture pure, L'identification permettent au cours de l'isolement ou non de mettre en évidence une ou plusieurs propriétés biochimiques, elle repose sur la morphologie, Les caractères enzymatiques et biochimiques.

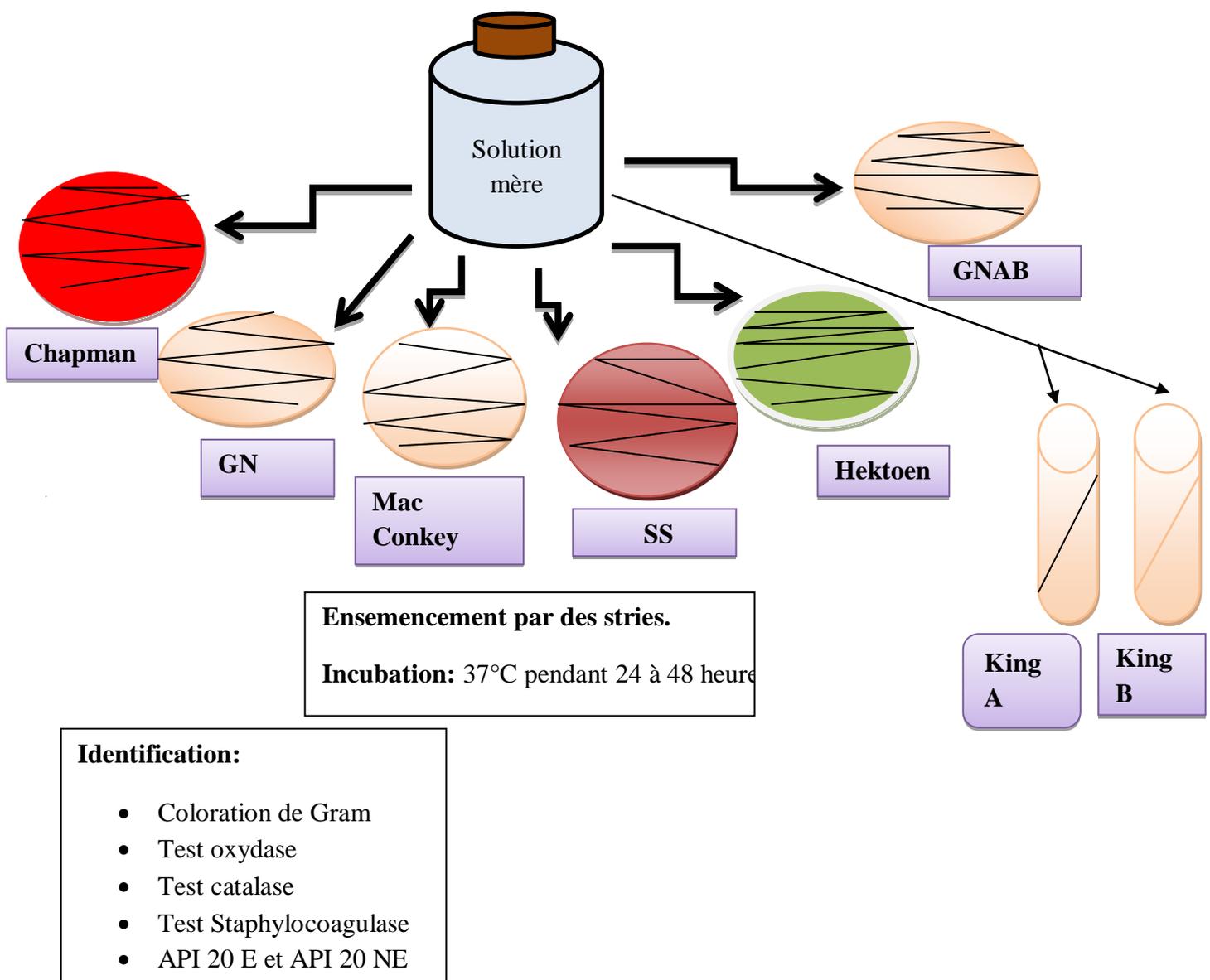


Figure 12. Recherche des germes pathogènes (Salmonelles, Shigelles, Staphylocoques, Vibriion, Pseudomonas).

4-3- Test d'identification

4-3-1-Identification macroscopique

C'est l'étude de l'aspect des colonies. Cette étude nécessite l'observation à l'œil nu, en lumière naturelle et artificielle, par éclairage direct et par transparence des colonies.

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2008). L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation (Joffin et Leyral, 2009).

Ces principaux caractères sont :

- **Taille:** c'est la mesure du diamètre des colonies à l'aide d'une règle graduée. On peut distinguer : colonies punctiformes, petites colonies (< 1mm), colonies moyennes (1,5 à 3 mm) et grosses colonies (> 3mm).
- **Forme de colonie:** à bords circulaires, irrégulières et parfois envahissantes.
- **Élévation de la colonie:** colonie convexe, colonie légèrement convexe et colonie plate.
- **Surface:** Colonies lisses, Colonies rugueuses et Colonies muqueuses (Delarras, 2007).
- **Consistance:** on distingue les colonies grasses, crémeuses, sèches ou muqueuses.
- **Odeur:** présence ou absence (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2008).
- **Pigmentation:** Le caractère pigmenté spontané d'une colonie bactérienne doit être distingué du halo coloré périphérique signant le virage d'un indicateur de fermentation sucrée ou la mise en évidence visuelle recherchée d'un quelconque métabolite (Freney *et al.*, 2000).

4-3-2-Identification microscopique

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram permet une observation nette des cellules, elle est irremplaçable pour différencier les bactéries Gram positif et Gram négatif, elle se déroule en plusieurs étapes successives selon l'ordre suivant:

A-Préparation du frottis

- Faire un repiquage des bactéries en milieu liquide ou solide, recueillir les bactéries des cultures jeunes du dépôt (après centrifugation de la culture liquide) ou directement du milieu solide avec une anse ou un fil et mélanger dans une goutte d'eau stérilisée .

-Faire un frottis sur une lame en étalant une goutte de la suspension microbienne.

- Laisser sécher le frottis.

- Ensuite faire la fixation en passant rapidement la lame 3 fois à l'intérieur de la flamme d'un bec Bunsen ou par une technique équivalente.

- Après refroidissement faire la coloration.

B-Faire agir successivement :

1 / **Violet de gentiane** : quelques gouttes à verser sur la lame .Colorer 1 min.

2/**Lugol**: entrainer le violet avec un excès de lugol, Laisser agir 30 secondes puis laver à l'eau.

3/**Différenciation** : décolorer à l'alcool (qui va décolorer les Gram -) et laver à l'eau.

4/**Recolorer** à la **Fuschine** 30secondes, puis laver à l'eau distillée et sécher.

5/**Observation** au microscope optique (bactéries violettes =Gram⁺,bactéries roses=Gram⁻).

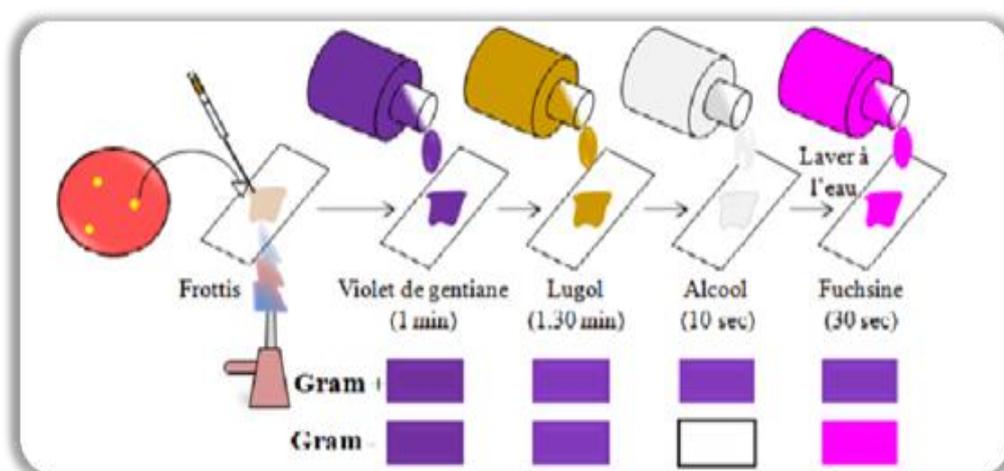


Figure 13. Procédure de la coloration de Gram (in Razkallah *et al.*, 2013)

4-3-3-Identification Biochimique

➤ API20E

On réalise 20 tests pour avoir le plus de caractères possibles de manière à identifier de façon plus certaine les différentes Entérobactéries.

Les tests sont réalisés dans l'ordre du tableau d'identification API des entéro bactéries. Le tableau est d'ailleurs appelé "API 20E" à cause du nombre de tests à effectuer.

-La galerieAPI20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés.

-Les micro tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

Préparation de la galerie:

- ❖ Mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, éliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au-dessus de l'évier.
- ❖ Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles. Pour certains caractères:

1-Remplir de suspension le tube et la cupule (CIT,VP, GEL)

2-Remplir le tube de suspension et recouvrir d'huile de paraffine (ADH, LDC, ODC,H₂S,URE).

- ❖ Placer la galerie sur le fond de la boîte elle doit être manipulée avec la pince.
- ❖ Recouvrir la boîte avec son couvercle.
- ❖ Incrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte.
- ❖ La lecture: les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par additions de réactifs.
- ❖ Identification de la souche se fait à l'aide du tableau de lecture d'identification qui est obtenu avec le catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (Bio Mérieux,2007).

Ce test est appliqué à:Salmonelles et Shigelles.

➤ API 20 NE

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.), combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation.

Préparation de la galerie

- ❖ Mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, éliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au-dessus de l'évier.
- ❖ Incrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte.

- ❖ Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0.85% Medium, à l'aide d'une pipette pasteur, prélever une colonie et réaliser une suspension.
- ❖ Introduire la suspension bactérienne (une colonie + 5ml d'eau distillée) dans les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles, et recouvrir d'huile de paraffine (GLU, ADH, URE).
- ❖ Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC par la suspension bactérienne (une colonie + NaCl 0.85% Medium).
- ❖ Renfermer la boîte d'incubation et incuber à 30°C pendant 24 heures à 48heures.
- ❖ La lecture : les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par additions de réactifs.
- ❖ Identification de la souche se fait à l'aide du tableau de lecture d'identification qui est obtenu avec le catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (Bio Mérieux,2006).

Ce test est appliqué sur les germes: Vibrion, Pseudomonas.

4-3-2- Identification Enzymatique

A-Recherche d'oxydase

L'oxydase ou cytochrome oxydase est un enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromique bactériennes (Delarras, 2014).

- **Mode opératoire**

Le disque d'oxydase est placé sur une lame puis mettre une goutte d'eau distillée stérile, une quantité suffisante de culture est déposées sur le disque en écrasant la colonie sur ce disque.

- **Lecture**

Apparition d'une couleur violacé instantané voir 2 min considère comme oxydase positif.

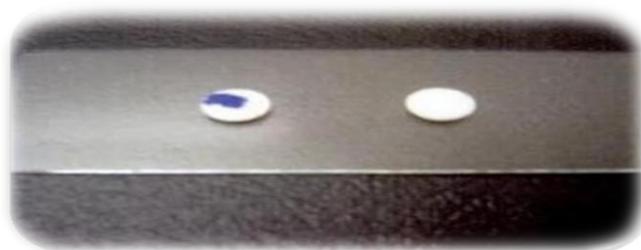


Figure 14. A droite : réaction d'oxydase négative (-) À gauche : réaction d'oxydase positive(+) (Denis *et al*,2007).

- Ce test est appliqué sur les germes pathogènes: Salmonelles, Shigelles, Staphylocoques, Vibrions et Pseudomonas.

B-Recherche de catalase

- **Principe**

Le catalase est un enzyme permet la dégradation de l'H₂O oxygéné à l'eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante:

Catalase



Permet de distinguer parmi les Cocci à Gram positif les staphylocoques et les streptocoques.

- **Mode opératoire**

A l'aide d'une anse de platine stérile, prélever quelques colonies jaunes et étaler sur une lame, après ajouter 2 à 3 gouttes de l'eau oxygénée,

- **Lecture**

Le dégagement des bulles de gaz considéré comme réaction positive c'est-à-dire catalase positif (Delarras, 2014).



Figure 15. Réaction de catalase positive (Denis *et al.*, 2007).

- Ce test est appliqué sur les germes pathogènes: Salmonelles, Shigelles, Staphylocoques, Vibrion, Pseudomonas.

C-Recherche de Staphylocoagulase

- **Principe**

Les staphylocoques pathogènes secrètent une enzyme dite la «Staphylocoagulase » qui à la propriété de coaguler le plasma (Leminor et Richard, 1993).Ce test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma et la pathogénicité d'un

staphylocoque.

- **Mode opératoire**

A partir des colonies de milieu Chapman, nous avons ensemencé un bouillon cœur cervelle à 37°C pendant 18 à 24 heures, ensuite en prend 1 ml de bouillon cœur cervelle est ajouté au plasma d'un être humain (Son groupe sanguin O⁺), ensuite incubé à 37 °C. Examiner les tubes 2 h, 4 h puis 24 h après.

- **Lecture**

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant délicatement le tube à 90°.

➤ Ce test est appliqué sur: Les Staphylocoques.

D-Recherche de la pyocyanine et la pyoverdine

❖ Recherche de la **pyocyanine**: pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture, sa production est favorisée sur milieu de King A.

❖ Recherche de la **pyoverdine**: présente une teinte vert fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine,sa production est maximale sur milieu de King B (Reggam.2015).

➤ Ce test est appliqué sur Les Pseudomonas.

5-Evaluation de l'Antibiorésistance

5-1-Méthode d'Antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus et permet aussi de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro.

5-2-Les Anti -biotiques utilisés

Tableau 7.Les antibiotiques utilisés dans notre travail.

ATB	Sigle	Dose	Date de péremptio
Triméthoprime	SXT	25	09-2019
Amoxicilline	AMX	25	03-2019
Erythromycine	E	15	03-2019
Penicilline G	P	10	10-2020
Chloramphénicole	C	30	02-2020
Gentamicine	GEN	10	09-2020
Cephalexine	CL	30	02-2019
Vancomycine	VA	30	02-2021
Cefazoline	CZ	30	02-2021
Colistine	CL	25	03-2021
Levoflovine	LE	05	02-2019
Ofloxacin	OF	05	02-2019
Nitrofurone	NIT	100	03-2021

5-3-Méthode de réalisation

A/Préparation de l'inoculum

-Prélever une colonie (Salmonelles, Shigelles, Vibrions, Pseudomonas, Staphylocoques, Streptocoques..).

-Transverser dans un tube contenant 2.5 ml de l'eau physiologie, émulsionner les colonies sur le bord du tube ensuite agiter.

B/Ensemencement des boites

-Tremper un écouvillon stérile sec dans l'inoculum.

-Eliminer l'excès d'inoculum.

-Ensemencer en strie sur toute la surface de la boite à 3 reprises.

-Passer enfin l'écouvillon sur le bord de la gélose.

-Laisser sécher la boîte pendant quelques minutes à température ambiante, le couvercle étant fermé.

C/Disposition des disques d'antibiotique

-Déposer les disques d'ATB à l'aide d'une paire de pinces stériles.

-Appuyer doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.

-Incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

D/Lecture et interprétation

-Mesurer et noter le diamètre de chaque zone d'inhibition en mm.

-Les résultats seront interprétés en fonction de diamètres critiques figurant dans des tableaux d'interprétation (Reggam, 2015).

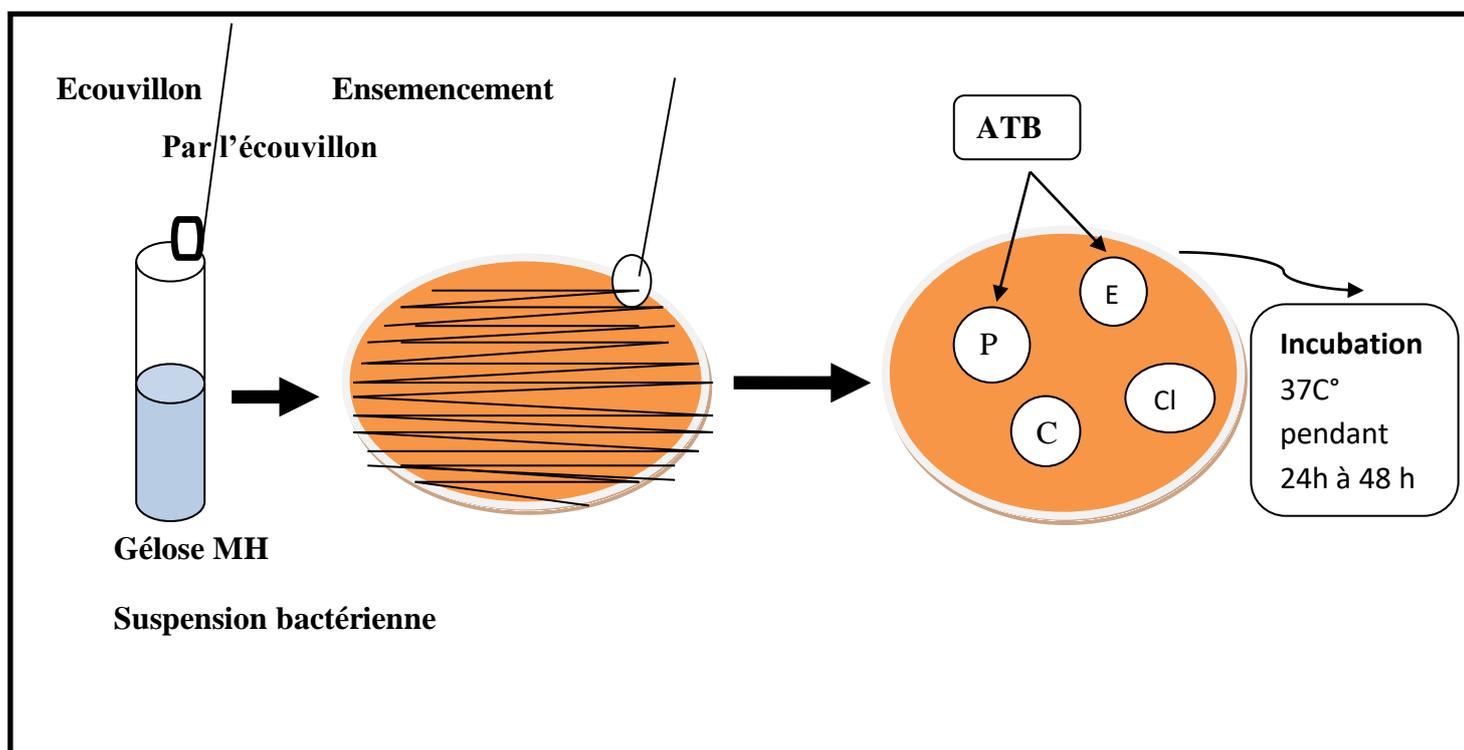


Figure 16. Méthode de réalisation de l'antibiogramme.

Chapitre III

Résultats et discussion

1-Résultats des Analyses physico-chimiques des eaux d'oued Seybouse

Les indicateurs physico-chimiques de la qualité de l'eau sont souvent assujettis à des variations spatio-temporelles induites par les activités anthropiques qui modifient les caractéristiques de l'eau et ils affectent sa qualité. Ainsi, les mesures de ces paramètres dans un écosystème lotique peuvent nous renseigner sur le degré de pollution de ce biotope.



Figure 17. Multi paramètre utilisé (photo pris par Mahboubi Dounya).

A-La température (T)

La température de l'eau joue un rôle important dans la modification des propriétés chimiques, physiques ainsi que les réactions biologiques. En effet, une température d'eau élevée est nocive pour la vie aquatique puisqu'elle contribue à la réduction de la teneur en oxygène dans l'eau. Par conséquent, elle aide à augmenter la croissance rapide des algues et des microorganismes.

D'après les résultats obtenus (Figure 18) les valeurs de température des différents échantillons présentent également des variations saisonnières. Elles fluctuent dans un intervalle qui va du maximum de 21,4°C enregistrée pendant le début du mois d'avril au minimum de 10°C enregistré pendant la fin du mois d'avril.

Les variations de la température varient en fonction de la température du milieu extérieur ainsi que la saison.



Figure 18. Variation des taux de la température dans les sites de prélèvement.

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température (Monod, 1989) notre eau est de qualité normale et bonne (Tableau 8).

Tableau 8. Grille d'appréciation de la qualité d'eau en fonction de la température (Monod, 1989).

Température	Qualité	Classe
20°C	Normale	1A
20°C-22°C	Bonne	1B
22°C-25°C	Moyenne	2
25°C-30°C	Médiocre	3
30°C	Mauvaise	4

B-Le potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH mesure la concentration en ions H^+ de l'eau et traduit ainsi la balance entre acides et bases sur une échelle logarithmique de 0 à 14. Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques.

Selon l'OMS (2004), le pH d'une eau superficielle doit être compris entre 6,5 et 8,5, la légère alcalinité pourrait être expliquée par l'activité biologique au sein de l'oued.

Les valeurs du pH relevées durant notre étude sont légèrement comprises entre 7,72 et de 10,995. Cette situation alcaline est favorable à une prolifération microbienne intense (Toumi, 2016).

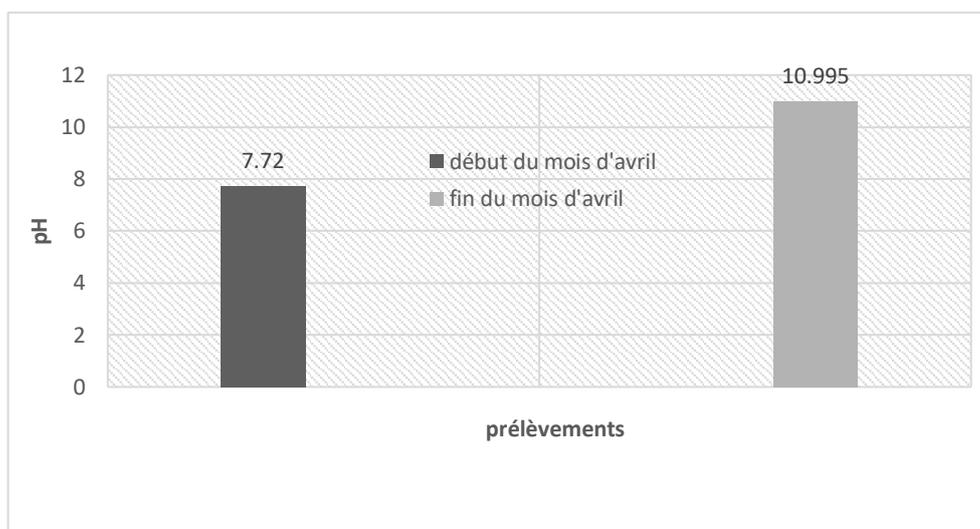


Figure 19. Variation des taux de pH dans les sites de prélèvement.

La grille d'appréciation de la qualité de l'eau (Bengharbia *et al.*, 2014) nous permis de déduire que la qualité de notre eau est bonne à très mauvaise.

C-La conductivité électrique (CE)

La conductivité représente l'un des moyens de valider les analyses physicochimiques de l'eau. En effet, des mesures contrastées sur un milieu permettent de mettre en évidence l'existence de pollution, des zones de mélange ou d'infiltration (Ghazali et Zaid, 2013). Ce paramètre permet aussi d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau (Pescod, 1985; Rodier, 1996).

Donc une conductivité élevée traduit :

- Soit des pH anormaux
- Soit une salinité élevée (Rodier *et al.*, 1984).

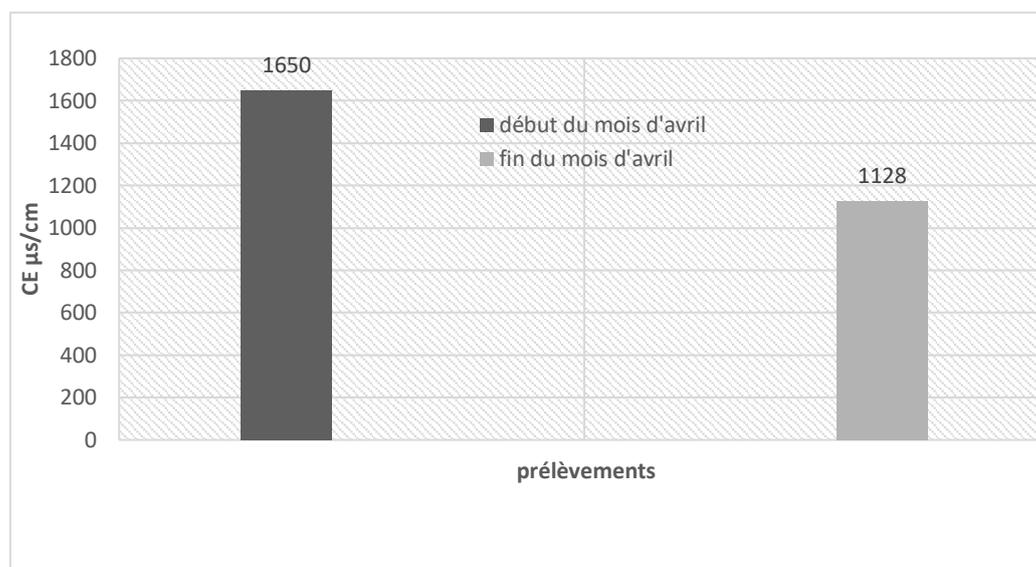


Figure 20. Variation des taux de la conductivité électrique dans les sites de prélèvement.

D'après les résultats obtenus la valeur la plus élevée (1650 $\mu\text{s/cm}$) enregistrée au début du mois d'avril, ceci est due à l'augmentation de la température qui entraîne l'évaporation de l'eau et donc l'augmentation de la salinité de l'eau.

Tableau 9. La grille de la qualité des eaux des rivières selon la conductivité électrique (Monod, 1989).

Conductivité électrique CE _{20°C} ($\mu\text{s/cm}$)	Qualité des eaux	Classe
CE _{20°C} < 400	Bonne	1A
400 < CE _{20°C} < 750	Bonne	1B
750 < CE _{20°C} < 1500	Passable	2
1500 < CE _{20°C} < 3000	Médiocre	3

Selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux en fonction de la conductivité (Monod, 1989), la qualité des eaux est de passable à médiocre.

D-L'oxygène dissous (O₂ %)

L'oxygène dissous mesure la concentration du dioxygène dissous dans l'eau (Rodier, 1996). Cet élément est bon indicateur de pollution d'un cours d'eau et de suivi de son autoépuration, Selon Beaux (1998), une eau est qualifiée de polluée si elle a une teneur en oxygène dissous inférieure à 3 mg/l.

La solubilité de l'oxygène varie en fonction de la température de l'eau et de la pression atmosphérique. Il participe à la majorité des processus chimiques et biologiques en milieu aquatique et sa teneur moyenne dans les eaux de surface non polluée est de 8 mg/L. Ainsi l'eau froide peut contenir une concentration plus élevée d'oxygène dissous que l'eau chaude, elle devient aussi remarquable au fur et à mesure que la salinité diminue.



Figure 21. Variation des taux de l'oxygène dissous dans les sites de prélèvement.

Selon les résultats enregistrés la valeur maximale (7,47 mg/l) soit 74,7% a été enregistrée au début du mois d'avril, et de même le minimale (2,98 mg/l) soit 29,8 % a été enregistré à la fin du mois d'avril.

Tableau 10. Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous. (Masson, 1988; Merzoug, 2009).

% de saturation en oxygène	91 à 110	71 à 90	51 à 70	31 à 50	< 30 >130
Qualité	Excellente	Bonne	Passable	Mauvaise	Très mauvaise

Selon la grille d'appréciation de la qualité générale de l'eau (Masson, 1988), la qualité des eaux est très mauvaise.

Les facteurs pouvant menés à une réduction de l'oxygène dissous sont l'augmentation de la température de l'eau et la décomposition de grandes quantités de matière organique proviennent généralement par les rejets domestique, animal et même aussi les activités agricoles autour ce site.

E- La salinité

La présence de sel dans l'eau modifier certaines propriétés (densité, compressibilité, point de congélation, température maximum de densité).

Nous notons une augmentation de la salinité au début de mois d'avril quand le jour sec serait favorisé par les fortes évaporations, tandis que la baisse teneur serait expliquée par l'effet de jour pluvial.

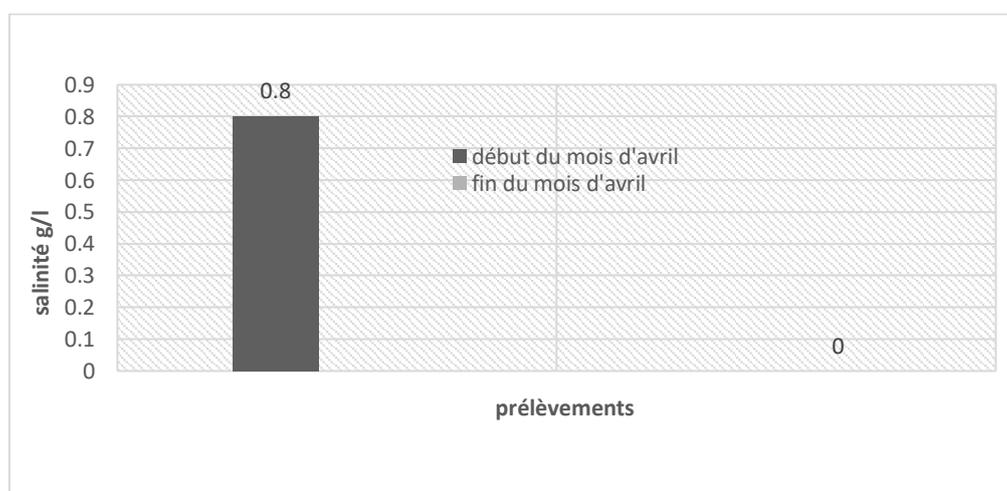


Figure 22. Variation des taux de la salinité dans les sites de prélèvement.

2-Analyses microbiologiques

Les résultats des analyses bactériologiques effectuées, présentent une grande diversité bactérienne de point de vue quantitative et qualitative. Donc ils sont très nombreux et très variés et ne peuvent pas faire l'objet d'une recherche spécifique. De plus leur identification est souvent très difficile.

Les variations de la qualité bactériologique de l'eau de l'Oued Seybouse ont été étudiées en fonction de deux paramètres : le temps (durée de l'étude) et l'espace (une seule point de prélèvement).

Les résultats obtenus sont exprimés dans les tableaux et les graphes, soit :

- Les coliformes totaux.
- Les coliformes fécaux.
- Les streptocoques fécaux.
- Les anaérobies sulfito-réducteurs.
- Les germes pathogènes.

2-1-Résultats des recherches et dénombrement des microorganismes

2-1-1-Coliformes totaux

Le groupe de coliforme totaux est utilisé depuis la fin de 19e siècle comme indicateur de la qualité microbienne de l'eau.

Ces micro-organismes vivent en abondance dans la matière fécale de l'homme et des animaux à sang chaud, leurs mise en évidence dans l'eau n'est pas la preuve de la présence des germes pathogènes, mais elle permet de la suspecter fortement.

La variation du nombre des bactéries dans les différents prélèvements sont présentées dans la figure ci-dessous.

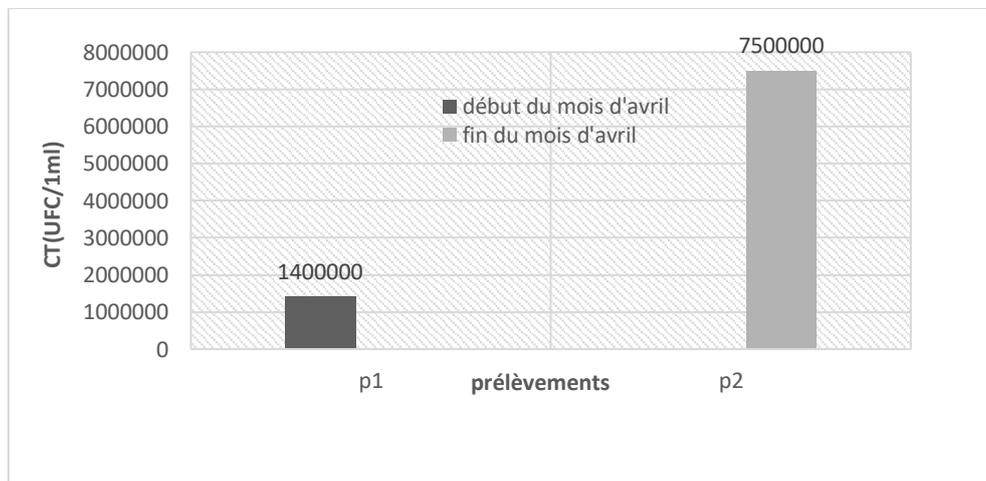


Figure 23.Évolution spatio-temporelle des coliformes totaux de l'eau de l'Oued Seybouse.

Nous remarquons que le nombre des coliformes totaux le plus élevé enregistré durant le deuxième prélèvement au mois d'avril de ($75 \cdot 10^5$ UFC/ml) cette prélèvement est plus proche que l'autre qui montre une différence plus important est expliquée par l'effet des précipitations provoquons une dilution de l'eau.

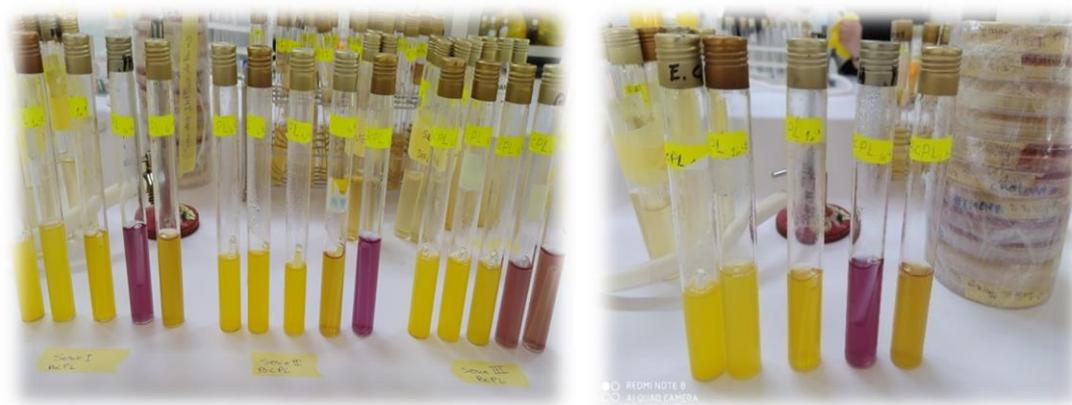


Figure 24. Résultat de dénombrement de coliformes totaux (photo pris par Khalfallah Amina).

2-1-2-Coliformes fécaux

L'étude de la flore indicatrice de contamination fécale, les coliformes fécaux ou coliformes thermo-tolérants font partie des coliformes totaux et le risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des microorganismes pathogènes (Rodier *et al.*, 2009).

La figure dessous montre les variations des coliformes fécaux au début et à la fin du mois d'avril.

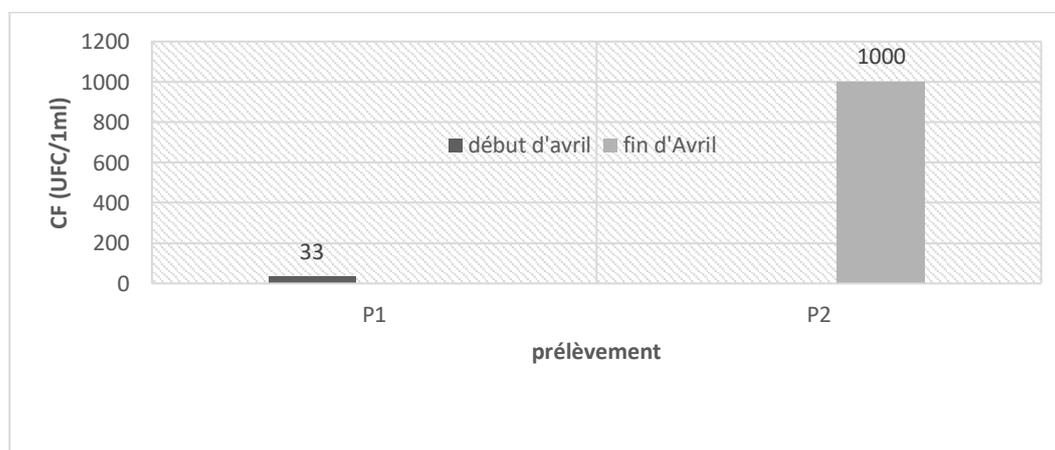


Figure 25. Évolution spatio-temporelle des coliformes fécaux de l'eau de l'Oued Seybouse.

La figure (25) illustre que la valeur le plus élevé a été enregistré à la fin du mois d'avril alors que la valeur le plus faible a été enregistré au début du mois.

Ces résultats expliqués par la présence d'une contamination provenant principalement des déchets fécaux ; plus probablement d'origine humaine et animale, ainsi que les effluents d'élevage.

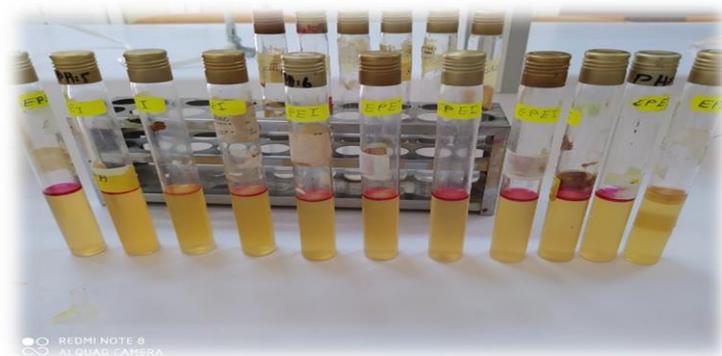


Figure 26. Résultats de dénombrement des coliformes fécaux (photo pris par Mahboubi Dounya).

2-1-3-Streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux sont des germes très sensibles aux variations physico-chimiques de milieu et ne résistent pas dans l'eau (ils sont adaptée difficilement en dehors de leurs milieu qui est l'intestin). Le nombre de streptocoques fécaux dans l'eau est lié à la qualité et la concentration de la matière fécale.

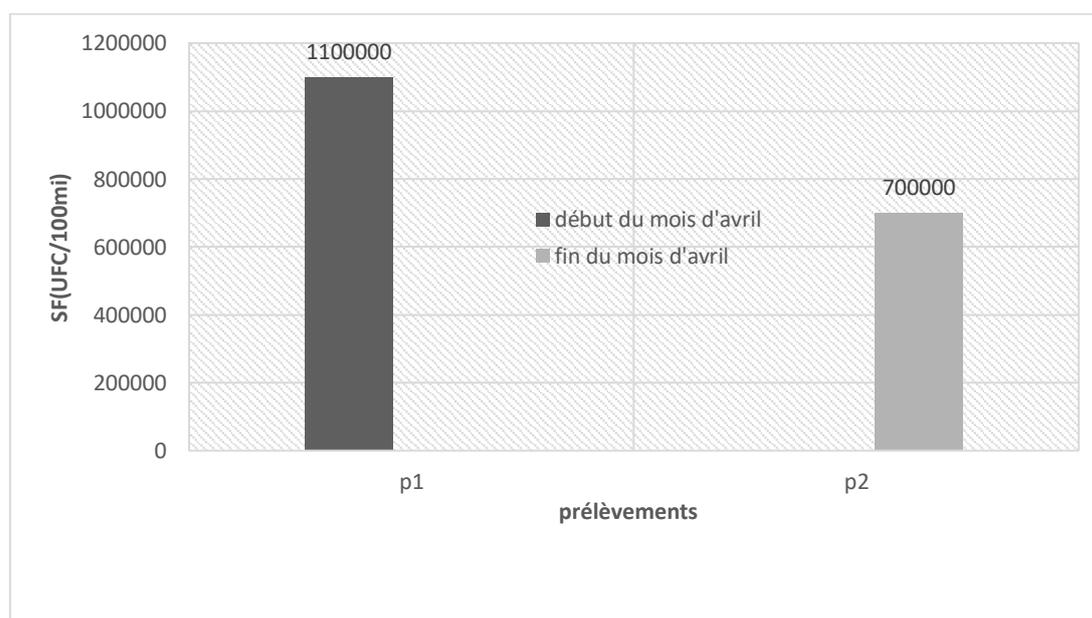


Figure 27. Évolution spatio-temporelle des streptocoques fécaux de l'eau de l'Oued Seybouse.

Nous observons pendant le mois d'avril nous remarquons que le nombre des streptocoques fécaux le plus élevé est enregistré durant le début du mois avec une valeur de 11.10^5 (UFC/ml) au contrairement à la fin du mois d'avril la valeur enregistré est 7.10^5 (UFC/ml).

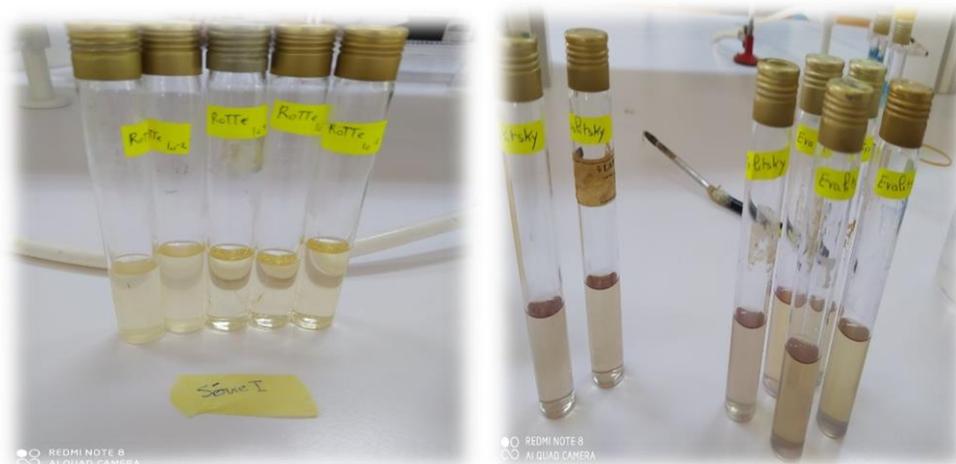


Figure 28. Résultats de dénombrement les streptocoques fécaux (photo pris par Mahboubi Dounya).

2-1-4-Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)

Les ASR sont souvent considérés comme des indices de contamination ancienne (OMS, 2000), mais n'est pas la preuve absolue, car les clostridies peuvent aussi avoir une origine tellurique (Toumi, 2012). Elles sont responsables des maladies graves telles que le botulisme et le tétanos, c'est pour cette raison la recherche de ces derniers est essentielle dans le cadre de la détermination qualitative de l'eau (Rejsek, 2002).

Tableau 11. Evaluation du nombre des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).

Mois	P1	P2
Avril	41	47

Nos résultats montrent la présence d'halo noir dans les tubes (milieu VF), ce qu'il explique la présence des spores de l'ASR dans les deux prélèvements, où on trouve que le taux de l'ASR est élevé durant le prélèvement 2 (la fin du mois d'avril = 47).

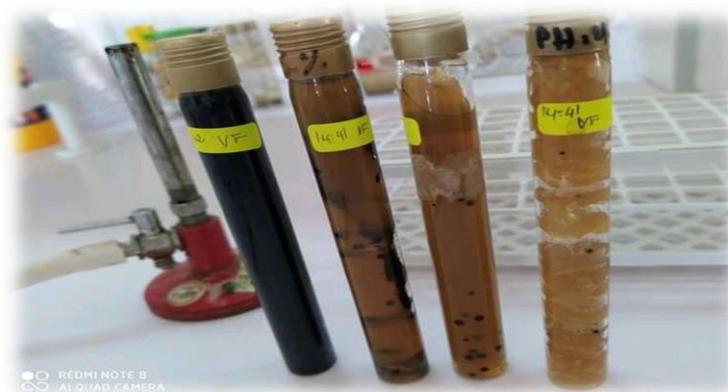


Figure 29. Résultats des dénombrements des ASR (photo pris par Mahboubi Dounya).

2-2-Origine de la contamination fécale

Le rapport $R=CF/SF$ (coliformes fécaux sur les streptocoques fécaux) était utilisé comme un élément de premier ordre pour déterminer l'origine de la pollution fécale. Lorsque ce rapport CF/SF est supérieur à 4 la pollution est essentiellement humaine (Borrego et Romero 1982). Lorsqu'il est inférieur à 0,7 l'origine est animale (Geldreich, 1976). Le tableau 18 explique l'origine de la contamination de l'Oued Seybouse.

Dans ce cas, pour la même station la source de contamination est mixte à prédominance animale (prélèvement 1) $1,27 < 4$, alors que pour l'autre (prélèvement 2) la source de contamination est exclusivement humaine $10,71 > 4$.

Tableau 12. Détermination de la source de pollution à partir du rapport coliformes fécaux/streptocoques fécaux.

Prélèvement	P1	P2
$R=CF/SF$	1,27	10,71

2-3-Recherche et identification des germes pathogènes

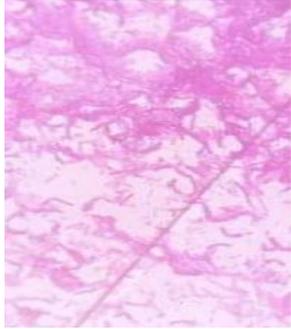
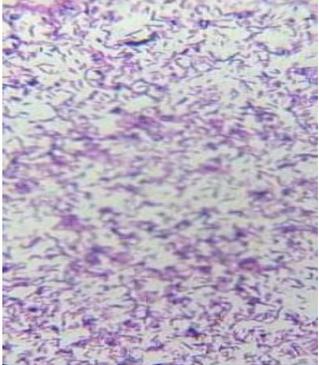
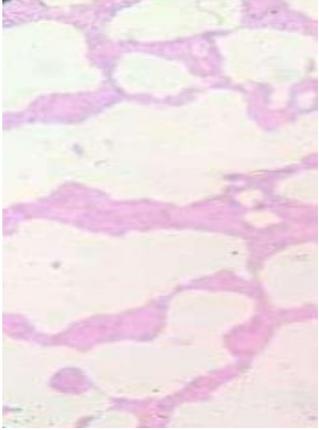
Deux étapes primordiales ont été suivies durant la recherche des germes pathogènes :

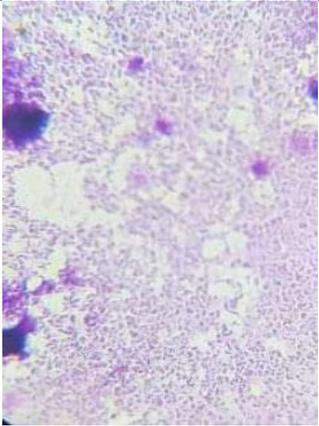
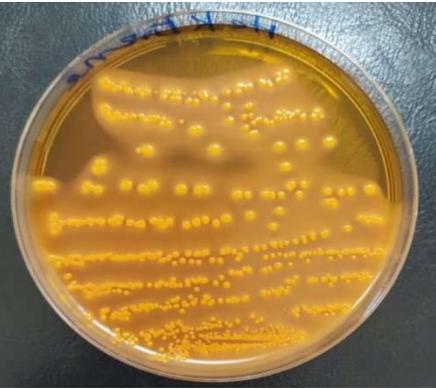
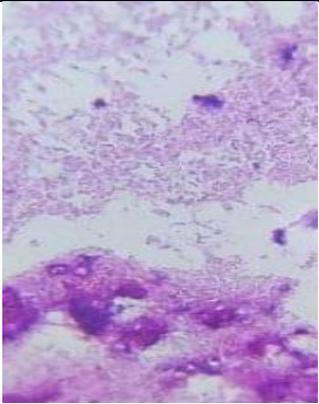
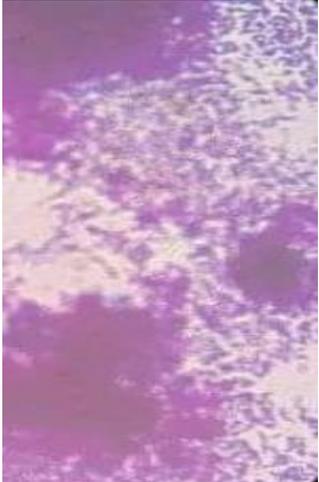
- L'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées et une identification biochimique par la galerie biochimique classique.
- Les systèmes API et autres tests.

2-3-1-Identification macro et microscopique

- ❖ Caractères morphologiques
- ❖ coloration de Gram

Tableau 13. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes.

Milieux de culture	Observation macroscopique	Observation microscopique
<p>Gélose Nutritif (GN)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Colonies blanchâtres, lisses, circulaires ➤ Diamètre : 3 mm ➤ Odeur de fermentation 	 <p>Gram -</p>
<p>Gélose de Chapman</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Colonies petites, plates, lisses, contour régulier, circulaires, avec virage de couleur rouge, vert, jaune ➤ Diamètre : 2 mm <ul style="list-style-type: none"> ➤ Odeur de fermentation 	 <p>Gram +</p>
<p>Gélose Nutritive Alcaline bilée (GNAB)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Colonies blanchâtres, plates, lisses, circulaires ➤ Diamètre : 3 mm ➤ Odeur de fermentation 	 <p>Gram -</p>

<p>Gélose Salmonella-Shigella (SS)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Colonies roses, plates, lisses, circulaires ➤ Diamètre : 2 mm ➤ Odeur de fermentation 	 <p>Gram +</p>
<p>Gélose Hektoen</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Colonies orangés, plates, lisses, contour régulier/circulaire, avec virage de couleur (vert/orangé) ➤ Diamètre : 3 mm <ul style="list-style-type: none"> ➤ Odeur de fermentation 	 <p>Gram +</p>
<p>Gélose Mac Conkey</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Colonies blanchâtres, plates, lisses, circulaires ➤ Diamètre : 1 mm <ul style="list-style-type: none"> ➤ Odeur de fermentation 	 <p>Gram +</p>

2-3-2-Résultats de l'identification biochimique

➤ Profil biochimique des staphylocoques

Les résultats des tests effectués sur les staphylocoques sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 14.Résultats du profil biochimique des staphylocoques isolés.

Tests / prélèvements	P1	P2
Oxydase	–	–
Catalase	+	+
Staphylocoagulase	–	–
Espèces trouvées	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>



Figure 30.Résultats d'un test staphylocoagulase négative (photo pris par Khalfallah Amina).

➤ **Identification Biochimique par les API systèmes**

Il y a deux types de systèmes bio Mériex réalisés dans l'étude biochimique :

- ❖ API 20 E.
- ❖ API 20 NE.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessus.

Tableau 15. Résultats de l'identification par les API systèmes (API 20 E, API 20 NE).

API système	Milieux de culture	Espèce bactériennes identifiées
API 20 E	Hektoen	<i>Raoutella planticola</i>
	SS	<i>Serratia odorifera</i>
	Mac Conkey	<i>Burkholderia cepacia</i>
	GN	<i>Erwinia spp</i>
API 20 NE	GNAB	<i>Vibrio fluvialis</i>
	King A	<i>Pseudomonas luteola</i>



Figure 31. Profil biochimique de la souche *Burkholderia cepacia* (photo pris par Saidia Ikhlas).



Figure 32. Profil biochimique de la souche *Raoutella planticola* (photo pris par Saidia Ikhlas).



Figure 33. Profil biochimique de la souche *Vibrio fluvialis* (photo pris par Khalfallah Amina).



Figure 34. Profil biochimique de la souche *Pseudomonas luteola* (photo pris par Khalfallah Amina).



Figure 35. Profil biochimique de la souche *Serratia odorifera* (photo pris par Mahboubi Dounya).



Figure 36. Profil biochimique de la souche *Erwinia* spp (photo pris par Mahboubi Dounya).

2-3-3-Résultats de l'identification enzymatique

On a utilisé deux tests dans cette identification :

- ✓ test oxydase.
- ✓ test catalase.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessus:

Tableau 16. Résultats de l'identification enzymatique (oxydase, catalase).

Espèce/Test	Oxydase	Catalase
<i>Burkholderia cepacia</i>	+	-
<i>Vibrio fluvialis</i>	+	-
<i>Erwinia spp</i>	+	-
<i>Raoutella planticola</i>	-	-
<i>Serratia odorifera</i>	+	-



Figure 37. Résultats de l'identification enzymatique (photo pris par Khalfallah Amina).

3-Evaluation de l'Antibiorésistance

3-1-Antibiorésistance des Staphylocoques

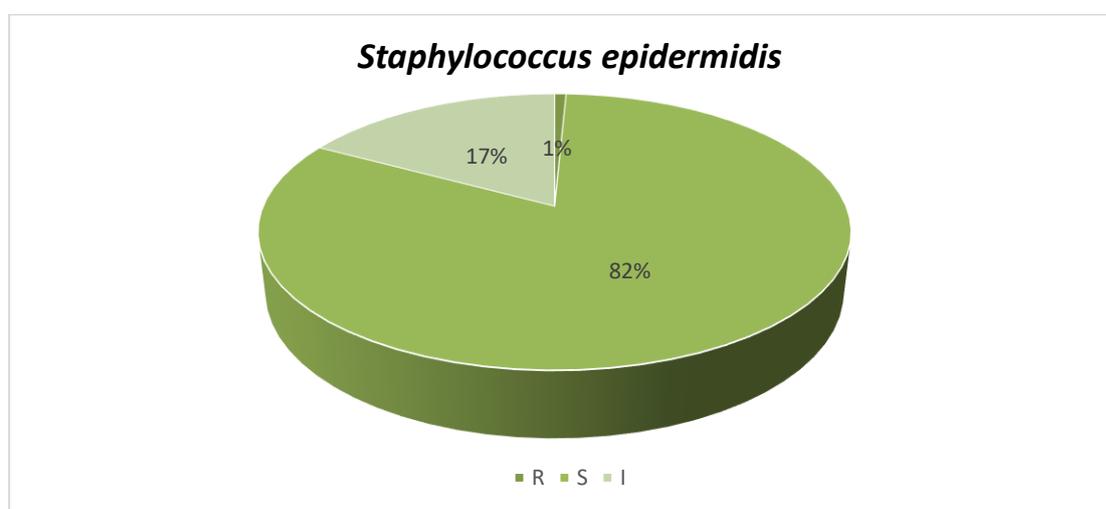
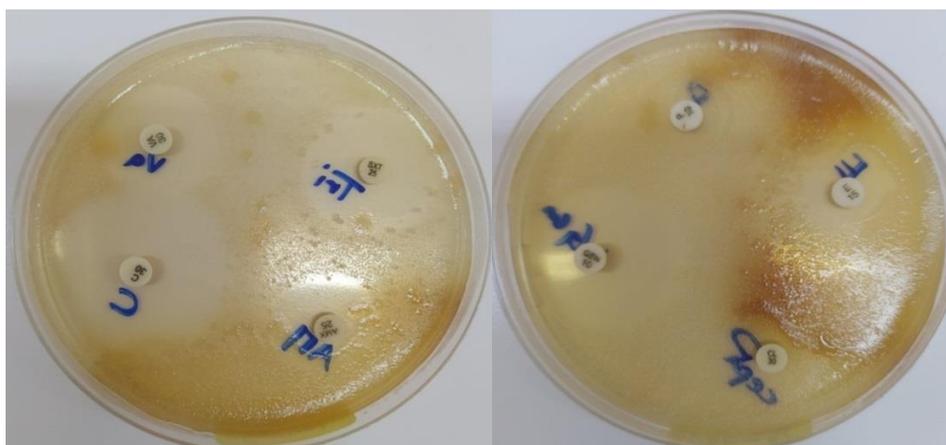
✓ *Staphylococcus epidermidis*

Notre souche *Staphylococcus epidermidis* s'est montré résistante à un antibiotique (Amoxicilline), sensible à dix antibiotiques (Triméthoprim, Penicilline G, Cephalexine, Gentamicine, Vancomycine, Cefazoline, Colistine, Levoflovincine, Ofloxacine, Nitrofurine) et manifeste une résistance intermédiaire à deux antibiotiques (Erytromycine, Chloramphénicol).

Tableau 17. Résultat de l'antibiogramme *Staphylococcus epidermidis*.

ATB	SXT	AMX	E	P	C	GEN	CL	VA	CZ	CL (colistine)	LE	OF	NTT
Diamètre d'inhibition en mm	30	7	15	18	40	32	12	26	18	18	40	36	18
Catégorie clinique	S	R	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S

La figure (38) présente le taux de résistance de la souche contre les antibiotiques (0,7% résistante, 77% sensible, 16% intermédiaire).

Figure 38. Taux de résistance de *Staphylococcus epidermidis*.Figure 39. Résultats de l'antibiogramme de *Staphylococcus epidermidis* (photo pris par Mahboubi Dounya).

3-2-Antibiorésistance des Entérobactéries

✓ *Raoutella planticola*

Notre souche *Raoutella planticola* s'est montrée résistante à huit antibiotiques (Amoxicilline, Penicilline G, Cephalexine, Vancomycine, Cefazoline, Colistine, Levoflovine, Ofloxacine), sensible à deux antibiotiques (Chloramphénicol, Gentamicine) et manifeste une résistance intermédiaire à trois antibiotiques (Triméthoprine, Erytromycine, Nitrofurine).

Tableau 18.Résultat de l'antibiogramme *Raoutella planticola*.

ATB	SXT	AMX	E	P	C	GEN	CL	VA	CZ	CL (colistine)	LE	OF	NTT
Diamètre d'inhibition en mm	14	7	12	7	33	18	7	7	0	7	0	5	11
Catégorie clinique	I	R	I	R	S	S	R	R	R	R	R	R	I

La figure (40) présente le taux de résistance de la souche contre les antibiotiques (62% résistante, 15% sensible, 23% intermédiaire).

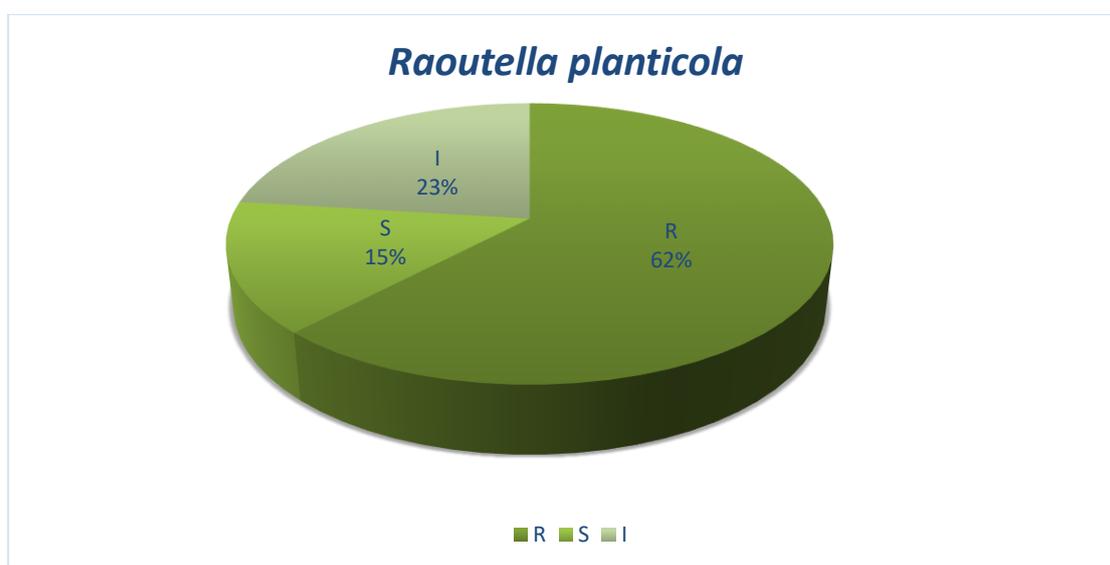


Figure 40.Taux de résistance de *Raoutella planticola* (photo pris par Khalfallah Amina).



Figure 41. Résultats de l'antibiogramme de *Raoutella planticola* (photo pris par Saidia Ikhlas).

✓ *Serratia odorifera*

Notre souche *Serratia odorifera* s'est montrée résistante à deux antibiotiques (Cephalexine, Cefazoline) sensible à huit antibiotiques (Triméthoprim, Chloramphénicol, Gentamicine, Vancomycine, Colistine, Levoflovine, Ofloxacine, Nitrofurone) et manifeste une résistance intermédiaire à trois antibiotiques (Amoxicilline, Erythromycine, Penicilline G).

Tableau 19. Résultat de l'antibiogramme *Serratia odorifera*.

ATB	SXT	AMX	E	P	C	GEN	CL	VA	CZ	CL (colistine)	LE	OF	NTT
Diamètre d'inhibition en mm	20	15	14	10	35	25	7	16	7	16	26	28	27
Catégorie clinique	S	I	I	I	S	S	R	S	R	S	S	S	S

La figure (42) présente le taux de résistance de la souche contre les antibiotiques (15% résistante, 62% sensible, 23% intermédiaire).



Figure 42. Taux de résistance de *Serratia odorifera*.



Figure 43. Résultats de l'antibiogramme de *Serratia odorifera* (photo pris par Khalfallah Amina).

✓ *Burkholderia cepacia*

Notre souche *Burkholderia cepacia* s'est montrée résistante à six antibiotiques (Amoxicilline, Erythromycine, Penicilline G, Cephalexine, Colistine, Ofloxacine) sensible à 5 antibiotiques (Triméthoprim, Chloramphénicol, Gentamicine, Cefazoline, Levoflovine) et manifeste une résistance intermédiaire à deux antibiotiques (Vancomycine, Nitrofurone).

Tableau 20. Résultat de l'antibiogramme *Burkholderia cepacia*.

ATB	SXT	AMX	E	P	C	GEN	CL	VA	CZ	CL (colistine)	LE	OF	NTT
Diamètre d'inhibition en mm	25	7	7	7	20	25	7	10	30	5	34	0	11
Catégorie clinique	S	R	R	R	S	S	R	I	S	R	S	R	I

La figure (44) présente le taux de résistance de la souche contre les antibiotiques (46% résistante, 39% sensible, 15% intermédiaire).

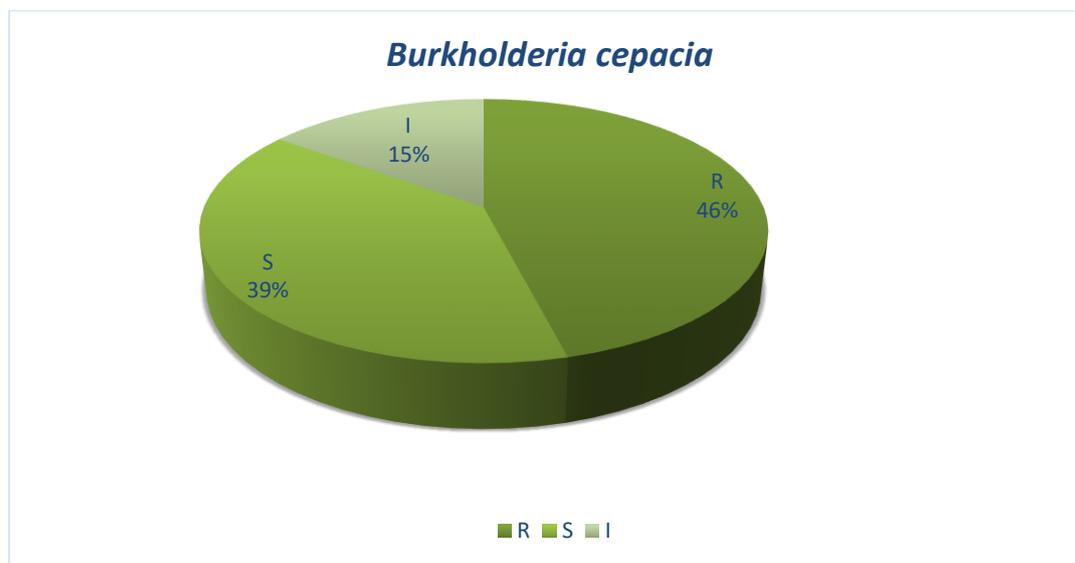


Figure 44.Taux de résistance de *Burkholderia cepacia*.



Figure 45.Résultats de l'antibiogramme de *Burkholderia cepacia* (photo pris par Mahboubi Dounya).

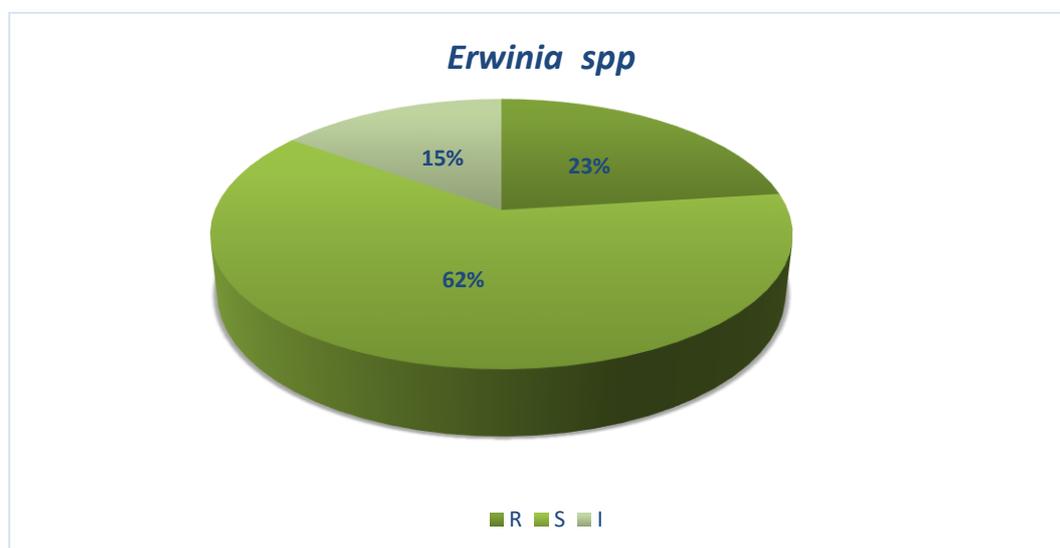
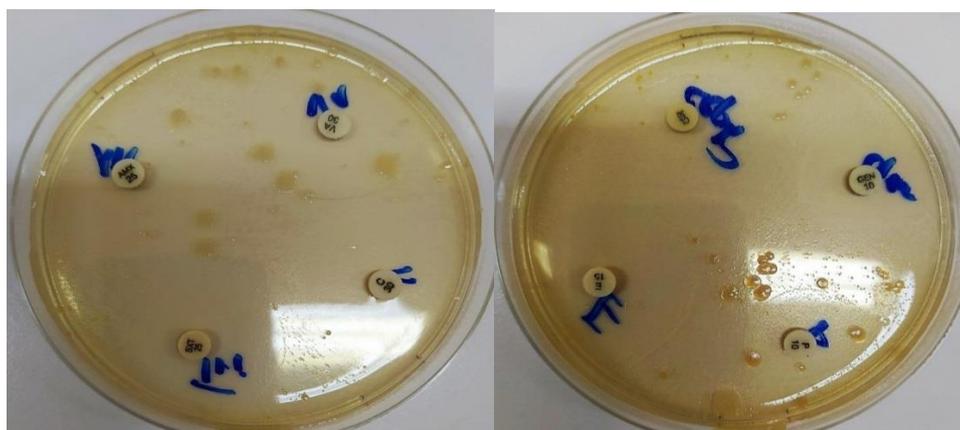
✓ *Erwinia spp*

Notre souche *Erwinia spp* s'est montrée résistante à trois antibiotiques (Penicilline G, Colistine, Levoflovine) sensible à huit antibiotiques (Triméthoprim, Amoxicilline, Erythromycine, Chloramphénicol, Gentamicine, Cephalexine, Vancomycine, Ofloxacine) et manifeste une résistance intermédiaire à deux antibiotiques (Cefazoline, Nitrofurone).

Tableau 21. Résultat de l'antibiogramme *Erwinia* spp.

ATB	SXT	AMX	E	P	C	GEN	CL	VA	CZ	CL(colistine)	LE	OF	NTT
Diamètre d'inhibition en mm	32	32	35	2	35	28	25	34	15	9	0	21	12
Catégorie clinique	S	S	S	R	S	S	S	S	I	R	R	S	I

La figure (46) présente le taux de résistance de la souche contre les antibiotiques (23% résistante, 62% sensible, 15% intermédiaire).

Figure 46. Taux de résistance de *Erwinia* spp.Figure 47. Résultats de l'antibiogramme de *Erwinia* spp (photo pris par Khalfallah Amina).

3-3-Antibiorésistance des Non Entérobactéries

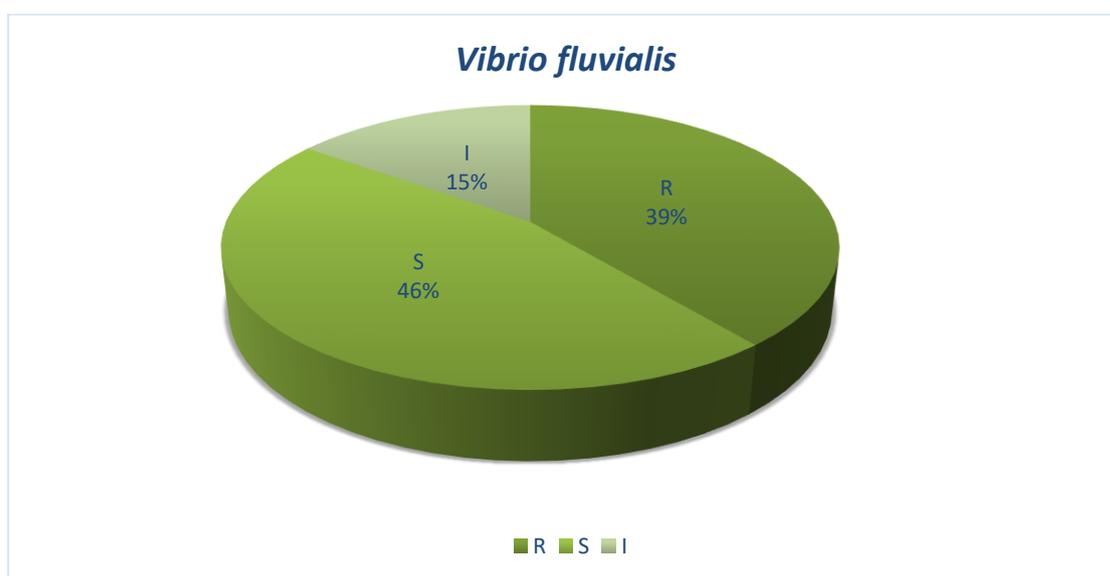
✓ *Vibrio fluvialis*

Notre souche *Vibrio fluvialis* s'est montrée résistante à cinq antibiotiques (Amoxicilline, Erytromycine, Gentamycine, Cefazoline, colistine), sensible à six antibiotiques (Triméthoprime, Cephalexine, Vancomycine, Levoflovine, Ofloxacine, Nitrofurone) et manifeste une résistance intermédiaire à deux antibiotiques (Penicilline G, Chloramphénicol).

Tableau 22. Résultat de l'antibiogramme *Vibrio fluvialis*.

ATB	SXT	AMX	E	P	C	GEN	CL	VA	CZ	CL (colistine)	LE	OF	NTT
Diamètre d'inhibition en mm	16	7	7	11	10	7	16	22	7	0	35	33	23
Catégorie clinique	S	R	R	I	I	R	S	S	R	R	S	S	S

La figure (48) présente le taux de résistance de la souche contre les antibiotiques (39% résistante, 46% sensible, 15% intermédiaire).

Figure 48. Taux de résistance de *Vibrio fluvialis*.

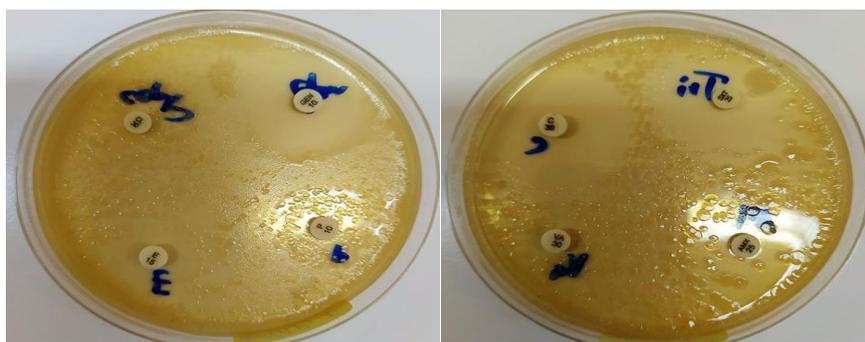


Figure 49. Résultats de l'antibiogramme de *Vibrio fluvialis* (photo pris par Saidia Ikhlas).

✓ *Pseudomonas luteola*

Notre souche *Pseudomonas Luteola* s'est montré résistance à treize antibiotiques (Triméthoprim, Chloramphénicol, Gentamycin, Vancomycine, colistine, Penicillin G, Cephalexine, Cefazoline, Levoflovine, Ofloxacine, Nitrofurone, Amoxycillin, Erythromycin)

Tableau 23. Résultat de l'antibiogramme *Pseudomonas luteola*.

ATB	STX	AMX	E	P	C	GEN	CL	VA	CZ	CL (colistine)	LE	OF	NTT
Diamètre d'inhibition en mm	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Catégorie clinique	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

La figure (50) présente le taux de résistance de la souche contre les antibiotiques (100% résistante).



Figure 50. Taux de résistance de *Pseudomonas luteola*.

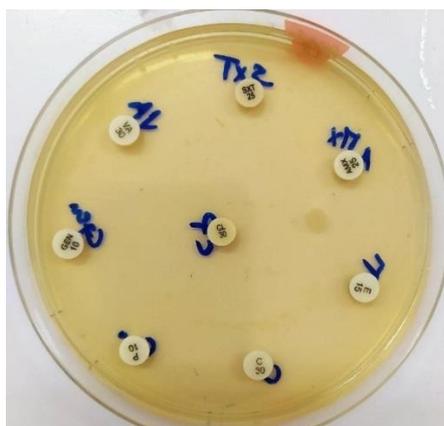


Figure 51. Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas luteola* (photo pris par Mahboubi Dounya).

Conclusion

Dans cette étude concernant l'évaluation du degré de contamination d'un écosystème aquatique naturel (Oued Seybouse, dans la région de Guelma), nous avons isolés des bactéries et étudié leur antibiorésistance. Cet hydrosystème, la Seybouse est exposée à une pollution dont les origines sont très diverses. Elles peuvent être naturelles ou anthropiques. Les analyses réalisées pendant le mois d'avril (physicochimie: potentiel d'hydrogène, température, conductivité électrique, oxygène dissout et salinité) ont permis de donner une idée globale sur la qualité de l'eau où elle s'est avérée assez mauvaise principalement par rapport aux taux de l'oxygène dissout.

Sous un autre angle, les analyses bactériologiques ont porté principalement sur le dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécales, à savoir les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux et les bactéries anaérobies sulfite-réducteurs avec la recherche des bactéries pathogènes tels que *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et *Vibrio*. Ils ont aussi montré que du point de vue bactériologique, l'eau présente une contamination fécale assez importante. Les taux des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux sont très élevés. La présence de bactéries pathogènes a été aussi détectée, à savoir *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia odorifera*, *Raoultella planticola*, *Vibrio fluvialis*, *Burkholderia cepacia* et *Pseudomonas luteola*. Les applications des tests aux antibiotiques ont aussi montrés que la majorité des souches isolées exhibent une résistance à la majorité des drogues utilisées. Ceci est en relation directe avec la nature de l'antibiotique utilisé et de la souche testée.

Ces résultats bien que préliminaires apportent des premières données sur la microflore de l'eau de l'Oued Seybouse mais ne permettent pas de tirer des conclusions définitives. Il serait bien évidemment préférable de refaire l'expérience sur des échantillons plus élevés sur une longue période et augmenter les paramètres à tester pour déduire une conclusion finale.

**Références
Bibliographiques**

Références bibliographiques

- 📖 **Agence des Bassins hydrographiques- Constantinois – Seybouse – Mellègue, (2002).** Cahiers de l'agence (ministère de l'équipement et de l'aménagement du territoire).
- 📖 **Agence de Bassin Hydrographique Constantinois- Seybouse-Mellegue (ABHCSM)(1999).** Les Cahiers del'Agence.Numéro1.Le Bassin de la Seybouse., 35p.
- 📖 **Agrigon, 2000; Hakm, 2002.** Annuaire de la qualité des eaux et des sédiments. Dunod. Paris. 206 p. ; Traitement des eaux, analyse de l'eau de source Bousfer Oran. Mémoire de Magister. Univ. Des sciences et de la technologie, Oran(Algérie). 71 p.
- 📖 **Aimène B., 2007.**Suivis de quelques paramètres physico-chimiques de la qualité des eaux de la séquence finale de Oued Seybouse et sa zone alluviale, Mémoire de fin d'étude ing., p :5-6, p17-18, P31.
- 📖 **Association française pour l'étude des eaux (A.F.E.E.), 1985.** Fiabilité de la distribution d'eau potable. L'entretien des réseaux d'eau. Etude de synthèse, p : 1-96.
- 📖 **Association française pour l'étude des eaux (A.F.E.E.), 1985.** Fiabilité de la distribution d'eau potable. L'entretien des réseaux d'eau. Etude de synthèse, p :1-96.
- 📖 **Attoui B. 2014.** Etat de la vulnérabilité à la pollution des eaux des g rands réservoirs d'eaux souterraines de la région d'Annaba-El-Tarf et identification des sites d'enfouissement de déchets. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.172p.
- 📖 **Beaux (1998).** L'environnement repères pratiques. Nathan, ISBN 209-18243-3, pp. 64-71.
- 📖 **Berche P., Goillard J., et Simonet M. 1988.** Bactériologie : bactéries des infections humaines. Flammarion médecine-science. Paris.551.
- 📖 **Bio Mérieux, 2006).** Système d'identification des bacilles à Gram négatif non entérobacteriaceae et non fastidieux. Fiche technique API 20 NE.
- 📖 **Bio Mérieux, 2007.** Système d'identification des Entérobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. Fiche technique API 20 E.
- 📖 **Blayac J. (1912).** Esquise Géologique du Bassin de la Seybouse et de quelques régions voisines. Carte et coupe Géologiques. 491 p.
-

Références bibliographiques

- 📖 **Borrego et Romero 1982.** Study of the microbiological pollution of a Malaga littoral area II. Relationship between fecal coliforms and fecal streptococci. Vle journée étud. Pollution, Cannes, France, pp 561-569.
- 📖 **Bouchlaghem E, (2008).** Caractérisation du peuplement Odonatologique du bassin versant des Oued : Cherf – Seybouse. Mémoire de Magister.12p.
- 📖 **Bougherira N. et Aoun-Sebaiti B. 2012.** Impact des rejets urbains et industriels sur l'eau superficielle et souterraine dans la plaine d'Annaba (Algérie).*Courrier du Savoir.* n°13. P 63-69.
- 📖 **Bremond et vuichard (1973); Dussart (1966).** Paramètres de la qualité des eaux, OSPEPE, Paris ; L'imnologie : Etude des eaux continentales. Gauthier-Villars,Ed., Paris, ISBN:2-225-84687-1,678p.
- 📖 **Brun R.et MaryL.2003.** *La rosesous serre pourla fleur coupée.*Quae. 258 p.
- 📖 **Burton J.A., Gunnison D. &Lanza C.R. (1987).** Survival of pathogenic Bacteria in various fresh water sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*53: 633-638.
- 📖 **Carbonelle D.,Kouyoumdjian S. &Audurier A.1988; Camille, 2003.** Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France.251p ; Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses, Lavoisier : Tec et Doc, France.156p.
- 📖 **Castany et Margot, (1977).** Dictionnaire Français D'hydrogéologie, Géologie, Minière. 249 p.
- 📖 **Chaoui W., Bousnoubra H. et Benhamza M. et Bouchami T.** Etude de la pollution des eaux des oueds Seybouse et Mellah (Région de l'Est Algérien. *Revue des sciences et de la technologie, Synthèse* 50-56p.
- 📖 **Charchar N., 2009.**Contribution à l'étude de la pollution d'Oued Seybouse (Guelma) par les tensioactifs anioniques (LAS), Mémoire de Magister.Université 8 Mai 1945, Guelma, p121.
- 📖 **D.S.A, (2012).**Direction des services agricoles Wilaya de Guelma.
- 📖 **De Villers J., Squilbin M. &Yourassowsky C. (2005).** Qualité physico-chimique et chimique des eaux de surface. Institut Bruxellois pour la gestion de l'environnement.
- 📖 **Debeiche T-H, (2002).**Evolution de la qualité des eaux (salinité, azote et métaux lourds) sous l'effet de la pollution saline, agricole et industrielle. A pplication à la basse plaine de la Seybousse – Nord Est Algérien.Thèse de Doctorat. Université de Canstantine.
-

Références bibliographiques

- 📖 **Delarras C, 2014.** Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Tec & Doc/Lavoisier. 800p.
- 📖 **Delarras et Trébaol, 2003.** Surveillance sanitaire et microbiologiques des eaux. Tec & Doc EM INTER. France.304p.
- 📖 **Delarras, 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc/Lavoisier.Paris.476p.
- 📖 **Delarras, 2008.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements- analyses. TEC & DOC.269p.
- 📖 **Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen E. et Quentin R. 2007.** Bactériologie médicale : Technique usuelles. Elsevier Masson.612p.
- 📖 **Derwich, 2010.** Caractérisation Physico-chimique des eaux de la nappe alluviale du Haut Sebou en aval de sa confluence avec Oued Fes. Larhyss Journal 8:101-112.
- 📖 **Djabri L, (1996).**Mécanisme de la pollution et vulnérabilité des eaux de la Seybouse. Origines géologiques, industrielles, agricoles et urbaines.Thèse de Doctorat. Université d'Annaba.
- 📖 **Elafri A. 2009.** Contribution à l'étude de la pollution des eaux du bassin de la Seybouse : cas des rejets industriels de l'unité du marbre et des carrelages. (suivi de la qualité physicochimique et bactériologique). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945. Guelma. 140 p.
- 📖 **Freney J., Renaud F., Hansen W. et Bollet C. 2000.** Bactériologie clinique. ZSKA. Paris.1692p.
- 📖 **Geldreich, 1976.** Fecalcoliform and fecal streptococcus densityrelationships in wasteredischarges and receiving waters. Crit. Rev. Environ.control 6 : 349-369.
- 📖 **Ghazali et Zaid, 2013.** Etude de la qualité physico-chimique etbactériologique des eaux de la source Ain Salama-jerri (région de Mzknes-Maroc). Larhyss Journal, ISSN 1112-3680, n^o 12, 25-36.
- 📖 **Gouiez H., 2003.** Apport en sels nutritifs et en matières organiques oxydables au littoral d'Annaba par Oued Seybouse de l'estuaire de la Mafrag, Mémoire de Magister, université d'Annaba, p 30.
- 📖 **Guezlane-Tebibel N., Kahlouche B. et Athmani-Guemouri S. 2008.** Microbiologie : Traveaux pratiques. Office des Publications Universitaire. Alger.144p.
- 📖 **Hcefled; 2006.** Etudes diagnostique de la zone humide Al Massira-Faija, cercle d'El Brouj et cercle de Setta(Maroc), 242 p.
-

Références bibliographiques

- 📖 **JoffinJJN.etLeyrolG.(2001).**MicrobiologieTechnique1:dictionnairedes techniques.3^{ème}éditions.CRDPd'Aquitaine.320p.
- 📖 **Kahlouche B & Athamani-Guemouri S & Guezlane-Tebibel N. (2010).** Microbiologie (Travaux pratiques) 3^{ème} édition corrigée; Office des publications Universitaires.133 p.
- 📖 **Labres E. & Mouffok F. 2008.** Les cours national d'Hygiène et de microbiologie des eaux de boisson.Manuell des travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. Algérie. 53p.
- 📖 **Lebres, 2002; Chaouch, 2007.** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments. Institut Pasteur. 34p; Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba : Aspect physico-chimique et bactériologique des eaux. Mémoire de Magister. Université Baji-Mokhtar Annaba.105p.
- 📖 **Lebres, 2006.** Cours d'hygiène et de Microbiologie des eaux (Manuel de Traveaux pratiques des eaux). Institut Pasteur d'Alger. 60p.
- 📖 **Leclerc; 1996.** Microbiologie générale. Doin. France. 368 p.
- 📖 **Leminor et Richard, 1993.** Méthode de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries. Institut Pasteur.Paris.
- 📖 **Lightfoot,(2002).**Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau .Directive pour assurance qualité. France.387p.
- 📖 **Lop, 1974.** Les eaux terrestres. Collection dirigée par Jean Pelletier. Masson et Cie. Paris Ive 1974. 14 p.
- 📖 **Mahdjoub H. 2017.** *Cycle* de vie et écologie de Coenagrion mercuriale dans le bassinversant de la Seybouse (Nord-Est de l'Algérie). Thèse de Doctorat. université BadjiMokhtar,Annaba. 98 p.
- 📖 **Merzoug S., 2009.** Etude de la qualité Microbiologique et physicochimique de l'eau de l'écosystème lacustre Gara et Hadj Taher (Benazzouz, Wilaya de Skikda). Mémoire de Magiter en Biologie. Université de Guelma.
- 📖 **Monod, 1989.** Méharées géographiques (N.A.N.I) normes Algérienne et normes international (2002). France loisir. 233p.
- 📖 **Mouassa S, (2006).** Impact du périmètre d'irrigation sur la qualité des eaux souterraines de la nappe alluviale de Guelma et sur les sols. Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar, 158 p. Annaba. Algéries.
- 📖 **Mouffok, 2001.** Guide technique d'analyses bactériologiques des eaux de mer. Institut Pasteur d'Alger. 40p.
-

Références bibliographiques

- 📖 **Mouffok, 2001; Lebres, 2002.** Guide technique d'analyses bactériologiques des eaux de mer. Institut Pasteur d'Alger. 40p; Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments. Institut Pasteur. 34p.
- 📖 **OMS, 2000.** Directive pour la qualité de l'eau de boisson ; Volume 2 (Critères D'hygiène). Ième organisation Mondiale de la santé. 2 éditions. 189p.
- 📖 **OMS. Organisation mondiale de la santé., 2004.** Guide lines for drinking water quality. Vol. 1. Recommandation, 3rd Ed. World Health Organization. Geneva.
- 📖 **Pechère J. C., Acar J., Grenier B. Et Nihoul E., 1982; Carbonelle D. Kouyoumdjian S.,1988; Labres E. & Mouffok F.2008.** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4ème édition Edisem ST Hyacinthe. Québec. 509p; Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd Mal. Inf. 251p; les cours national d'hygiène et de Microbiologie des eaux de boisson. Manuel de Travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. Algérie. 53p.
- 📖 **Pechère J. C., Acar J., Grenier B. Et Nihoul E., 1982; Labres et Mouffok F., 2008.** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4ème édition, Edisem ST-Hyacinthe. Québec. 509p ; Les cours national d'hygiène et de Microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 60p.
- 📖 **Pescod, M.B. 1985.** Design, operation and maintenance of water stabilization ponds in treatment and we of sewage effluent for irrigation. Ed. Pescod and Arar, 93-114 1985.
- 📖 **Razkallah Z., Abdi S., et Zerari A. 2013.** Etude de la qualité bactériologique des eaux de quelques zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja (Wilaya de Skikda). Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945, Guelma. 105p.
- 📖 **Reggam A. 2015.** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physico-chimique des eaux d'Oued Seybouse. Thèse de Doctorat. Université 8 Mai 1945, Guelma. 174 p.
- 📖 **Reggam A. 2015.** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physico-chimique des eaux d'Oued Seybouse. Thèse de Doctorat. Université 8 Mai 1945. Guelma. 53p et 57 p.
- 📖 **Rejsek, 2002; Délarras, 2008.** Analyse des eaux, Aspects réglementaires et techniques. Série Sciences et technique de l'environnement, 360; Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements- analyses. TEC & DOC. 269p.
-

Références bibliographiques

- 📖 **Rejsek F. 2002** analyse des eaux : aspects réglementaires et techniques. Sceren. Paris. 360p. édition. Dunod. Paris .1130p.
- 📖 **Rejsek; 2002.** Analyse des eaux, Aspects réglementaires et techniques. Série Sciences et technique de l'environnement, 360p.
- 📖 **Rodier (2005).** L'analyse de l'eau ; eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux de Mer, chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. 8ème édition. Dunod, Paris, 1384.
- 📖 **Rodier et J.,(1996).** L'analyse de l'eau;eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux de Mer. 8^{ème} édition. Dunod.1350 p.
- 📖 **Rodier J., Beuffr H., Bournaud M., Broutin J.P., Geoffray Ch., Kovascik G., Laport J., Pattee E., Plissier M., Rodier L. & Vial J. (1984); Brahimi A &Chafi A 2014.** L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 7ème édition. Ed. Dunod. 5 pp; J. Mater, Environ. Sci. 5(5) (2014) 1671-1682.
- 📖 **Rodier J., Beuffr H., Bournaud M., Broutin J.P., Geoffray Ch., Kovascik G., Laport J., Pattee E., Plissier M., Rodier L. & Vial J. (1984).** L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 7ème édition. Ed. Dunod. 5 pp.
- 📖 **Rodier, 1996,** analyse de l'eau, eaux naturelles, eau résiduaires. 8ème édition. Dunod, paris. 1130p.Mer. 8ème édition. Dunod. 1130p.
- 📖 **Roux M., 1987.** Office International de l'eau; L'analyse Biologique De l'eau .TEC et DOC. Paris.
- 📖 **Satha A, (2008).**Caractérisation du peuplement odonotologique des Bassins versants de Bouhamdane rt Seybouse. Mémoire de Magister. Université 8 Mai Guelma.
- 📖 **Sayad L. 2015.**Le pouvoir autoépurateur de l'oued Seybouse sur les rejets de l'alaiterie de l'Edough (Annaba-Algérie) et les objectifs environnementaux des rejets.ThèsedeDoctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 203 p.
- 📖 **Toumi, 2012.** Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologiques de l'eau de l'agrosystème lacustre « Lac des Oiseaux ». Mémoire de Magister en Agronomie. Université Chadli Bendjedid d'EL.Taref 138 p.
- 📖 **Wackermann G., Rougier H. 2009.**l'eau.Ressources et usages.p243.
- 📖 **Zebza R.,2016.** Ecologie et statut des Gomphidae (Odonato) à Oues Seybouse. Thèse de Doctorat.Université 8 Mai 1945, Guelma,p139.
-

Annexex

Annexe 1

Tableau 24. La table de Mac Grady.

3 tubes par dilution					
Nombre Caractéristique	Nombre de Cellules	Nombre Caractéristique	Nombre de Cellules	Nombre Caractéristique	Nombre de Cellules
000	0.0	201	1.4	302	3.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

Tableau 25. Classification des eaux d'Oued (Bengherbia *et al.*, 2014).

Paramètre	Très bonne	Bonne	Passable	Mauvaise	Très mauvaise
Température	< 20	20-21,5	21,5-25	25-28	>28
pH	< 8	8-8,5	8,5-9	9-9,5	>9,5
Coliformes fécaux	< 20	20-200	200-2000	2000-20000	> 20000
Streptocoque fécaux	< 20	20-200	200-1000	1000-10000	>10000

Annexe 2.

Composition des milieux de culture.

✓ **Eau peptones Alcaline (EPA):** pH = 8.6

Peptone-----	20 g/l
Sodium chlorure -----	30 g/l
Eau distillée-----	1000 ml

✓ **Mac Conkey :** pH = 7,1

Peptone bactériologique-----	20 g/l
Sels biliaries -----	1,5 g/l
Chlorure de sodium-----	5 g/l
Lactose -----	10 g/l
Rouge neutre -----	0.03 g/l
Cristal violet-----	0,001 g/l
Agar -----	15 g/l
Eau distillée-----	1000 ml

✓ **Chapman :** pH = 7,5

Peptone bactériologique-----	10 g/l
Extrait de viande de bœuf-----	1 g/l
Chlorure de sodium-----	75 g/l
Mannitol -----	10 g/l
Rouge de phénol -----	0.025 g/l
Agar -----	15 g/l
Eau distillée-----	1000 ml

✓ **Gélose Salmonella-Shigella (SS):** pH = 7-----

Extrait de viande de bœuf-----	5 g/l
Bio-polysone -----	5 g/l
Sels biliaire -----	8,5 g/l

Lactose -----	10 g/l
Citrate de sodium -----	8,5 g/l
Thiosulfate de sodium -----	8,5 g/l
Citrate ferrique -----	1 g/l
Vert brillant -----	0,33 mg/l
Rouge neutre -----	0,025 g/l
Agar -----	13,5 g/l
Eau distillée -----	1000 ml

✓ **Gélose GNAB:** pH = 8,6

Peptone -----	10 g/l
Extrait de viande -----	3 g/l
Chlorure de sodium -----	5 g/l
Bile de bœuf -----	2 g/l
Agar -----	8,6 g/l
Eau distillée -----	1000 ml

Annexe 3

. Les réactifs et les colorants utilisés

Les réactifs

- Réactif Kovacs
- Réactif TDA
- Réactif VP [VP1/ VP2]
- Réactif Nit [Nit1 / Nit2]

les colorants

- Violet de Gentien
- Fuschine
- Lugol

Annexe 4.

Tableau 26. Matériels utilisés.

Verrerie	Appareillage	Autre matériel
- Tubes à essai - Béchers - Pipettes gradués - Pipettes pasteurs - Flacons - Lames	- Autoclave - Four Pasteur - Réfrigérateur - Etuves - Microscope optique - Bain marie	- Bec bunsen - Anse de platine - Boîtes de pétri - Portoirs - Micropipettes - Balance

Annexe 5
Tableau 27.Lecture de l'API 20E.

Tests	Composants	QTE (mg/cup.)	Réactifs/ Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase(Ortho-NitroPhényl-β-D-Galactopyranosidase)	incolore	jaune
ADH	L-arginine	1,9	ArginineDihydrolase	Jaune	rouge/ orangé
LDC	L-lysine	1,9	LysineDécarboxylase	Jaune	rouge/ orangé
ODC	L-ornithine	1,9	OrnithineDécarboxylase	Jaune	rouge/ orangé
CIT	trisodiumcitrate	0,756	utilisationduCitrate	vertpâle /jaune	bleu-vert/ bleu
H₂S	sodiumthiosulfate	0,075	productiond'H ₂ S	incolore/ grisâtre	dépôt noir /fin liséré
URE	Urée	0,76	Uréase	Jaune	rouge/ orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane Désaminase	TDA/immédiat	
				Jaune	marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	productiond'Indole	JAMES/immédiat	
				incolore vertpâle /jaune	rose
VP	sodiumpyruvate	1,9	production d'acétoïne(VogesPr oskauer)	VP 1 +VP2 /10 min	
				incolore/rose pâle	rose/rouge
GEL	Gélatine(ori ginebovine)	0,6	Gélatinase(Gelatine)	nondiffusion	diffusion dupigmentn oir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation oxydation(Glucose)	bleu/ bleu-vert	jaune/jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation/oxydation (Mannitol)	bleu/ bleu-vert	jaune
INO	Inositol	1,9	fermentation/oxydation (Inositol)	bleu/ bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation/oxydation (Sorbitol)	bleu/ bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation/oxydation (Rhamnose)	bleu/ bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation/oxydation (Saccharose)	bleu/ bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation/oxydation (Melibiose)	bleu/ bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation/oxydation (Amygdaline)	bleu/ bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation/oxydation (Arabinose)	bleu/ bleu-vert	Jaune

OX	(voir notice du test oxydase)	cytochrome-Oxydase	(voir notice du test oxydase)
-----------	-------------------------------	--------------------	-------------------------------

Annexe 6

Tableau 28.Lecture de l'API NE.

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
NO ₃	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates En nitrites	NIT1 +NIT 2 /5 mn	
			Incolore	Rose-rouge
		Réduction des nitrates En azote	ZN/5 mn	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	TRP/3-5mn	
			Incolore	Goutte rouge
GLU	Glucose Fermentation	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/ Rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/ Rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse	Jaune	Gris/marron/ Noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse	Pas de diffusion du Pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitro-phényl-β-D-galacto pyranoside	β-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétylglucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			
MLT	Malate			
CIT	Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	Tetraméthyl-p-phenylène diamine	Cytochromeoxydase	Incolore	Violet

Résumé

Résumé

L'objectif de cette étude réalisé pendant le mois d'avril 2021 est de présenter un protocole de travail basé sur l'évaluation du degré de contamination de l'eau de l'Oued Seybouse et d'isoler des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques. L'eau de cet hydrosystème est utilisée dans l'irrigation des champs avoisinants le lit de l'oued.

Les premiers résultats des analyses physico-chimiques (Températures, pH, Oxygène dissout, Salinité et Conductivité électrique) ont montrés une élévation des concentrations. Elles sont étroitement liées aux activités anthropiques et aux différents facteurs environnementaux tels pluie et la nature du substrat pédologique. Du point de vue microbiologique, l'eau affiche aussi une contamination fécale (taux de coliformes totaux et fécaux, streptocoques fécaux et bactéries anaérobies sulfite-réductrices à 37°C) très élevée. De nombreuses bactéries pathogènes ont été aussi isolées. Les *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* ont été isolés pratiquement dans tous les prélèvements. Ces bactéries exhibent une multi-résistance à de nombreux antibiotiques testés. De ce fait, nous pouvons conclure que l'utilisation de cette eau constitue un danger de santé publique.

Mots clés : Oued Seybouse, physico-chimie, microbiologie, contamination, résistance, antibiotiques.

Abstract

This study carried out during April 2021 aims at presenting a protocol based on the evaluation of contamination level of Oued Seybouse water as well as isolating bacteria, being multi-resistant to antibiotics. The water from this hydro-system is used to irrigate agricultural lands around the wadi.

The first results of the physicochemical analyzes (temperatures, pH, dissolved oxygen, salinity and electrical conductivity) show high values. They are closely linked to human activities and to various environmental factors such as rain and the nature of the soil substrate.

From a microbiological point of view, the water also displays very high fecal contamination (thermo-tolerant fecal coliforms, fecal streptococci and anaerobic sulfite-reducing bacteria at 37 ° C). At the same time, many pathogenic bacteria have also been isolated.

Staphylococcus, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* were isolated in practically all samples. These bacteria exhibit multi-resistance to many of the antibiotics tested. Therefore, we conclude that the use of this water constitutes a danger to public health.

Keywords: Seybouse wadi, physico-chemistry, microbiology, contamination, resistance, antibiotics.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة المنجزة خلال شهر افريل 2021 هو عرض بروتوكول عمل يعتمد على تقييم درجة تلوث مياه واد سيبوس وكذلك عزل البكتيريا المقاومة لأكثر من مضاد حيوي. يستعمل هذا الماء في سقي الحقول القريبة من حافته .

النتائج الأولية للتحاليل الفيزيائية الكيميائية (درجة الحرارة، درجة الحموضة، الأوكسجين المذاب، الملوحة، والناقلية الكهربائية) أظهرت تزايد في التراكيز المرتبطة بالأنشطة البشرية ومختلف العوامل البيئية مثل المطر وطبيعة طبقة التربة التحتية.

من الناحية الميكروبيولوجية، تعرف المياه تلوث برازي من خلال التركيز العالي للقلونيات الكلية و القلونيات البرازية المقاومة للحرارة، المكورات العقدية البرازية، و الكبريتات اللاهوائية المختزلة للكبريت عند 37 درجة مئوية. و قد تم عزل العديد من البكتيريا الممرضة مثل *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* في جميع العينات المأخوذة. تظهر هذه البكتيريا المعزولة مقاومة متعددة للعديد من المضادات الحيوية .

في الأخير، نستنتج أن استخدام هذه المياه يشكل خطرا على الصحة العامة.

الكلمات المفتاحية: واد سيبوس، فيزيائي كيميائي، ميكرو بيولوجي، تلوث برازي، مقاومة، مضادات حيوية.