

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET  
DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire

---

**Thème : Contribution à l'étude de quelques paramètres physico-chimiques  
et microbiologiques des eaux du lac Oubeira**

---

**Présenté par :**

SOUADKIA Bouchra

ZAIMEN Fatima

**Devant le jury composé de :**

**Président (e) : Mme. HAMDIKEN Malika M.A.A Université de Guelma**

**Examineur : Melle. AMRI Sandra M.A.A Université de Guelma**

**Encadreur : Mme. BEDIQUI Soraya M.A.A Université de Guelma**

**Juin 2015**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET  
DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire

---

**Thème : Contribution à l'étude de quelques paramètres physico-chimiques  
et microbiologiques des eaux du lac Oubeira**

---

**Présenté par :**

SOUADKIA Bouchra

ZAIMEN Fatima

**Devant le jury composé de :**

**Président (e) : Mme. HAMDIKEN Malika M.A.A Université de Guelma**

**Examineur : Melle. AMRI Sandra M.A.A Université de Guelma**

**Encadreur : Mme. BEDIQUI Soraya M.A.A Université de Guelma**

**Juin 2015**

## **Remerciements**

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements envers toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de ce projet de fin d'études.

Nous adressons notre sincère remerciement à **Mme. Hamdikene Malika** qui a bien voulu présider le jury de ce mémoire.

Notre gratitude va également à **Melle. Amri Sandra** qui nous honore par sa participation à notre jury d'examinations.

Nous adressons nos sincères remerciements et nos expressions les plus respectueuses à **Mme. Bidioui Soraya** qui a proposé et discuté notre sujet.

Elle nous a beaucoup aidées par ses conseils, son soutien et surtout sa patience.

On remercie également tout personnel de l'aide, surtout les responsables de laboratoire du département et la technicienne de laboratoire **Mme. wafa**.

Tous les enseignants et les enseignantes du département de biologie qui ont contribué à notre formation durant les Cinq années.

Enfin, à tous mes collègues de 2<sup>ème</sup> année master.

Nous dédions ce travail à Louai Dai-Eddine, petit fils de notre encadreuse  
Mme. Bidioui Soraya

# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des schémas

Les abréviations

## **Partie I:** Etude bibliographique

### **Introduction**

#### **Chapitre I :** Généralités sur lac Oubeira

I.1. Les Zones humides.....	04
I.1.1. Définition de zone humide.....	04
I.1.2. Les zones humides en Algérie.....	04
I.1.3. Les différentes fonctions des zones humides.....	05
I.2. Lac Oubeira.....	05
I.2.1. Description du site d'étude : Lac Oubeira.....	05
I.2.2 Les caractéristiques du Lac Oubeira.....	06
I.2.3 Diversités biologiques du lac Oubeira.....	07

#### **Chapitre II :** Paramètre physicochimique

II.1. Les paramètres physiques.....	09
II.2. Les paramètres chimiques.....	10

#### **Chapitre III :** Contamination des eaux

III.1. La contamination de l'eau.....	14
III.2. Les grandes catégories des polluants de l'eau.....	14
III.2.1 Les polluants biologiques.....	14
III.2.2. Les polluants chimiques.....	17
III.2.3. Les polluants physiques.....	17
III.3. Les différentes pollutions de l'eau.....	18
III.3.1. Pollution physique.....	8

III.3.2. Pollution chimique.....	18
III.4. Impact sur l'environnement.....	19
III.4.1. Matières en suspension.....	19
III.4.2. Pollution organique.....	19
III.4.3. Azote/ Phosphore.....	19
III.4.4. Métaux.....	19
III.4.5. Substances pour les milieux aquatiques.....	19

## **Partie II : Partie expérimentale**

### **Chapitre IV : Matériel et Méthodes**

IV.1. Les prélèvements.....	22
IV.1.1. Matériel du prélèvement.....	22
IV.1.2. Echantillonnage .....	22
IV.1.3. Mesure in situ.....	23
IV.1.4. Transport des échantillons.....	23
IV.1.5 Méthode d'analyse.....	23
IV.2. L'identification fongique.....	23
IV.2.1 Les milieux et coulage des boîtes.....	23
IV.2.2. Stérilisation des milieux.....	23
IV.2.3.Préparation des dilutions.....	23
IV.2.4. L'ensemencement et l'incubation.....	24
IV.2.5. Lecture.....	26
IV.3. Examen microscopique des souches.....	26
IV.3.1. Examen à l'état frais.....	26
IV.3.2. Examen après coloration .....	26
IV.4. Analyse bactériologique.....	27
IV.4.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants.....	27

IV.4.2. Examen microscopique.....	30
IV.5. Recherche et dénombrement des entérobactéries.....	30
IV.5.1. Détermination des caractères biochimique des entérobactéries.....	30
IV.6. Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR).....	34
IV.7. La recherche et d'indentification des staphylocoques.....	36
IV.7.1. L'observation macroscopique.....	36
IV.7.2. L'observation microscopique.....	36
IV.7.3. L'indentification biochimique des <i>staphylocoques</i> .....	36
IV.8. Analyse physico-chimique.....	36
IV.8.1. Les mesures in situ.....	36
IV.8.2. La turbidité.....	37
IV.8.3. Les matières en suspension (MES).....	37
IV.5.4. Le Magnésium.....	38
IV.8.5 Les chlorure.....	38
IV.8.6. Le calcium.....	39
<b>Chapitre V : Résultats et Discussion</b>	
V.1. Analyse bactériologique.....	41
V.1.1.Résultats de la recherche des entérobactéries.....	41
V.1.2. Résultats de la recherche des staphylocoques.....	45
V.1.3.Résultats de la recherche des coliformes totaux.....	47
V.1.4. la recherche des coliformes fécaux ( <i>Escherichia coli</i> ).....	47
V.1.5.La recherche des spores de clostridium sulfite-réducteurs.....	48
V.2.Identification fongique.....	50
V.3.Paramètres physico-chimiques.....	53
V.3.1.Paramètres physiques.....	54
V.3.2. Les paramètres chimiques.....	58

Discussion générale.....65

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Page
<b>Tableau 01</b>	les parties des zones humides en Algérie	04
<b>Tableau 02</b>	Les fonctions principales des zones humides.	05
<b>Tableau 03</b>	Les caractéristiques physiques du Lac Oubeira	06
<b>Tableau 04</b>	Variation du pH	10
<b>Tableau 05</b>	Description de quelques espèces responsables à la contamination bactérienne.	15
<b>Tableau 06</b>	Identification d' <i>Aspergillus et Penicillium</i>	16
<b>Tableau 07</b>	Présentation des points du prélèvement.	21
<b>Tableau 08</b>	Détermination des étapes d'une galerie classique.	30
<b>Tableau 09</b>	Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02 des entérobactéries	41
<b>Tableau 10</b>	Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02 de entérobactéries	43
<b>Tableau 11</b>	Résultats d'identification de la souche de staphylocoque isolée des prélèvements 01 et 02.	45
<b>Tableau 12</b>	Aspect macroscopique des filaments fongiques à partir de plusieurs milieux.	50
<b>Tableau 13</b>	Aspects macroscopiques et microscopiques des espèces fongiques.	51
<b>Tableau 14</b>	les différents donnés des paramètres physico-chimiques des prélèvements des sites du lac Oubeira.	53

## Liste des figures

Numéro	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Situation géographique du lac Oubeira dans le parc national d'El-Kala.	06
<b>Figure 02</b>	Les déférents polluants chimiques.	17
<b>Figure 03</b>	Les sites de prélèvement du lac Oubeira.	22
<b>Figure 04</b>	Multi-paramètre.	36
<b>Figure 05</b>	Colonies blanchâtres sur le milieu GN	41
<b>Figure 06</b>	Colonies blanchâtres sur milieu GN	41
<b>Figure 07</b>	Colonies marron sur milieu GN	41
<b>Figure 08</b>	Bacille à Gram négatif	41
<b>Figure 09</b>	Bacille à Gram négatif	41
<b>Figure 10</b>	Bacille à Gram négatif	41
<b>Figure 11</b>	Résultat de galerie classique <i>E. coli</i>	41
<b>Figure 12</b>	Résultat de galerie classique <i>Salmonella paratyphi</i>	41
<b>Figure 13</b>	Résultat de galerie classique <i>Enterobacter aerogenes</i>	41
<b>Figure 14</b>	Résultat du test complémentaire <i>E. coli</i>	42
<b>Figure 15</b>	Résultat du test complémentaire <i>Salmonella paratyphi</i>	42
<b>Figure 16</b>	Résultat du test complémentaire <i>Enterobacter aerogenes</i>	42
<b>Figure 17</b>	colonies jaunâtres sur le milieu GN	43
<b>Figure 18</b>	colonies jaunâtres sur le milieu GN	43
<b>Figure 19</b>	Bacille à Gram négatif	43
<b>Figure 20</b>	Bacille à Gram négatif	43
<b>Figure 21</b>	Résultat de galerie api 20E <i>Octobacter faemeri</i>	44
<b>Figure 22</b>	Résultat de galerie api 20E <i>Klebsyella oxytoca</i>	44
<b>Figure 23</b>	Colonies jaunâtres sur le milieu chapman	45
<b>Figure 24</b>	Colonies jaunâtres sur le milieu chapman	45
<b>Figure 25</b>	Colonies jaunâtres sur le milieu chapman	45
<b>Figure 26</b>	Cocci à Gram+ en amas	45
<b>Figure 27</b>	Cocci à Gram+ en amas	45
<b>Figure 28</b>	Cocci à Gram+ en amas	45
<b>Figure 29</b>	Résultat du profil biochimique <i>Staphylococcus lentus</i>	45

<b>Figure 30</b>	Résultat de galerie classique <i>Staphylococcus auerus</i>	45
<b>Figure 31</b>	Résultat du profil biochimique <i>Staphylococcus xylocus</i> .	45
<b>Figure 32</b>	Résultat du test complémentaire <i>Staphylococcus auerus</i>	46
<b>Figure 33</b>	variation de la présence des coliformes totaux durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	47
<b>Figure 34</b>	variation de la présence des coliformes totaux durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	47
<b>Figure 35</b>	variation de la présence des coliformes fécaux durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	48
<b>Figure 36</b>	variation de la présence des coliformes fécaux durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	48
<b>Figure 37</b>	variation de la présence des bactéries anaérobie sulfito-réductrices durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	49
<b>Figure 38</b>	variation de la présence des bactéries anaérobie sulfito-réductrices durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	49
<b>Figure 39</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus glaucus</i> sur le milieu czapek simple	51
<b>Figure 40</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus glaucus</i>	51
<b>Figure 41</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus flavus</i> sur le milieu czapek concentré.	51
<b>Figure 42</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	51
<b>Figure 43</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus fumigatus</i> sur le milieu sabouraud	51
<b>Figure 44</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus fumigatus</i>	51
<b>Figure 45</b>	Aspect macroscopique de <i>Penicillium notatum</i> sur le milieu sabouraud	52
<b>Figure 46</b>	Aspect microscopique de <i>Penicillium notatum</i>	52
<b>Figure 47</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus niger</i> sur le milieu TGEA	52
<b>Figure 48</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	52
<b>Figure 49</b>	Variation de la température durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	54
<b>Figure 50</b>	Variation de la température durant le mois d'avril en fonction des sites	54

	des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	
<b>Figure 51</b>	Variation de la conductivité durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	55
<b>Figure 52</b>	Variation de la conductivité durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	55
<b>Figure 53</b>	Variation de la turbidité durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	56
<b>Figure 54</b>	Variation de la turbidité durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	56
<b>Figure 55</b>	Variation de la matière en suspension (MES) durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	57
<b>Figure 56</b>	Variation de la matière en suspension (MES) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	57
<b>Figure 57</b>	Variation du potentiel hydrogène (pH) durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	58
<b>Figure 58</b>	Variation du potentiel hydrogène (pH) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	58
<b>Figure 59</b>	Variation d'oxygène dissous durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	59
<b>Figure 60</b>	Variation d'oxygène dissous durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	59
<b>Figure 61</b>	Variation de la matière organique (MO) durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	60
<b>Figure 62</b>	Variation de la matière organique (MO) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	60
<b>Figure 63</b>	Variation de calcium durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	61
<b>Figure 64</b>	Variation de calcium durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	61
<b>Figure 65</b>	Variation du magnésium durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	62
<b>Figure 66</b>	Variation du magnésium durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	62
<b>Figure 67</b>	Variation du chlorure durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	63

<b>Figure 68</b>	Variation du chlorure durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	63
<b>Figure 69</b>	Variation de la demande chimique en oxygène (DCO) durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	64
<b>Figure 70</b>	Variation de la demande chimique en oxygène (DCO) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	64

## Liste des Schémas

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Schéma 01</b>	Méthode de dilution	24
<b>Schéma 02</b>	Méthode d'ensemencement et incubation	25
<b>Schéma 03</b>	Recherche et le dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants.	28
<b>Schéma 04</b>	Test confirmatif pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.	29
<b>Schéma 05</b>	Recherche et dénombrement des spores des Bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR).	35

## Les abréviations

**ADH** : Arginine des hydrolases

**ASR** : Anaérobie Sulfite Réducteur

**BCPL** : Bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre

**Cit** : Citrate

**DBO** : Demande biochimique en oxygène

**DCO** : Demande chimique en oxygène

**E.coli** : Escherichia coli

**Fig**: Figure

**GN**: Gélose nutritive

**H**: Heure

**H<sub>2</sub>S**: Production d'H<sub>2</sub>S

**IND**: Indole

**INO**: Insitol

**LDC** : Lysine Dècarboxylase

**M** : Mètre

**MAN** : Manitol

**MES** : Matière en suspension

**Min** : Minute

**MI** : Millilitre

**MO** : Matière organique

**Nb** : Nombre

**NIT** : Nitrate

**NPP** : Nombre Plus Probable

**NTU** : Unité de Turbidité Nuphélométrique

**ODC** : Onithine dècarboxylase

**OMS** : Organisation Mondiale de La Santé

**ONPG**: Ortho-Nitrophényle-B-D Galactosidase

**pH** : Potentiel Hydrogène

**PNEK** : Park Nationale d'El Kala

**RHA** : Rhamnose

**RM** : Rouge de Méthyle

**SAC** : Saccharose

**SF** : Streptocoque Fécaux

**SOR** : Sorbitol

**TDA** : Tryptophane Décarboxylase

**TGEA** : GèloseTyptone Glucose à l'Extrait de Levure

**TSI** : Triple Suger Iron

**URE** : Uréase

**µs /cm** : Micro Siemens par centimètre

**VF** : Viande foie

**VP** : Vouge Proskawer

**Zn** : zinc

L'eau est l'élément le plus demandé et le plus essentiel dans la vie. Sans eau, il n'y aurait pas de vie sur terre. L'eau est très irrégulièrement répartie à la surface de la planète : 97 % du volume total s'accumule dans les océans, 2 % sur les continents, 0,6 % en phase solide dans les inlandsis polaires et les glaciers, enfin une part très modeste en phase gazeuse dans l'atmosphère [24].

Elle est utilisée par l'homme depuis le début de leur existence pour différents usages et en ont ainsi modifié la qualité. Aujourd'hui la nature n'est plus en mesure de dépolluer les milieux naturels, les habitudes que nous avons prises de considérer les cours d'eau, les lacs, les rivières, les fleuves comme des décharges susceptibles d'accueillir l'ensemble de nos déchets ont engendré des pollutions irrémédiables. Les déchets créés par l'homme sont trop nombreux et plus polluants qu'autrefois, particulièrement à cause de l'urbanisation et aux pratiques agricoles.

Le lac oubeira est une eau douce qui contient plusieurs espèces rares tels que la châtaigne d'eau *Trapa natans*. Etant par nature, la cuve d'eaux de pluie qui Lessivent leur Bassin versant, est utilisé par les riverains de cette zone humide soit pour l'irrigation des terres agricoles avoisinantes, soit par son utilisation pour le pâturage de leurs bétails [1].

L'objectif de notre travail est déterminer la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux du lac Oubeira qui consiste à identifier tout les éléments toxique ainsi que les germes pathogènes.

Notre travail a été reparti en plusieurs chapitres selon le plan suivant:

**Chapitre I:** généralités sur lac oubeira

**Chapitre II:** les paramètres physicochimiques des eaux

**Chapitre III:** la contamination des eaux

**Chapitre IV:** Matériel et méthodes

**Chapitre V:** Résultats et discussion et enfin on terminera par une conclusion.

## I.1 Les Zones humides

### I.1.1 Définition de zone humide

Les zones humides sont des étendues de marais, de marécages, de tourbières, d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée y compris des étendues d'eau marines dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres [27].

### I.1.2 Les zones humides en Algérie

La position géographique et stratégique de l'Algérie, on y compte plus 254 zones humides (Medouni, 1996). Sa configuration physique et la diversité de son climat lui confèrent d'importantes zones humides [27].

**Tableau 01 :** présente les parties des zones humides en Algérie.

Les parties des zones humides en Algérie	La frange Nord-Ouest	La partie Nord-Est	Le Sahara
Les caractéristiques	<p>Les hautes plaines steppiques se caractérisent par des plans d'eau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• salé : Chotts</li> <li>• non salée : Dayas [27].</li> </ul>	<p>Renferme de nombreux lacs d'eau douce, des marais, des ripisylves et des plaines d'inondation [27].</p>	<p>Renferme les oasis, dans le réseau hydrographique des massifs, montagneux du Tassili et du Hoggar on assiste à des sites exceptionnels alimentés par des sources d'eau permanentes appelées Gueltas [27].</p>

- **L'importance des zones humides en Algérie**

Les zones humides internationales présentent une importance exceptionnelle, car sont meilleurs exemples d'écosystèmes des zones humides du point de vue de leurs fonctions écologiques et hydrologiques leur biodiversité et de leur importance socio-économique. [26].

### I.1.3 Les différentes fonctions des zones humides

Le tableau suivant résume les deux fonctions principales des zones humides.

**Tableau 02** : présente les fonctions principales des zones humides.

<b>Fonctions</b>	
Fonctions biologiques	Fonctions de régulation hydrologique
Les zones humides sont des habitats et niche écologique pour les espèces animales et zone de réserve de protection et d'étude écologique.	Sont des réservoirs d'expansion des crues, régulation des débits, actions antiérosives pour les zones humides littorales et fonction d'échange avec les nappes aquifères [27].

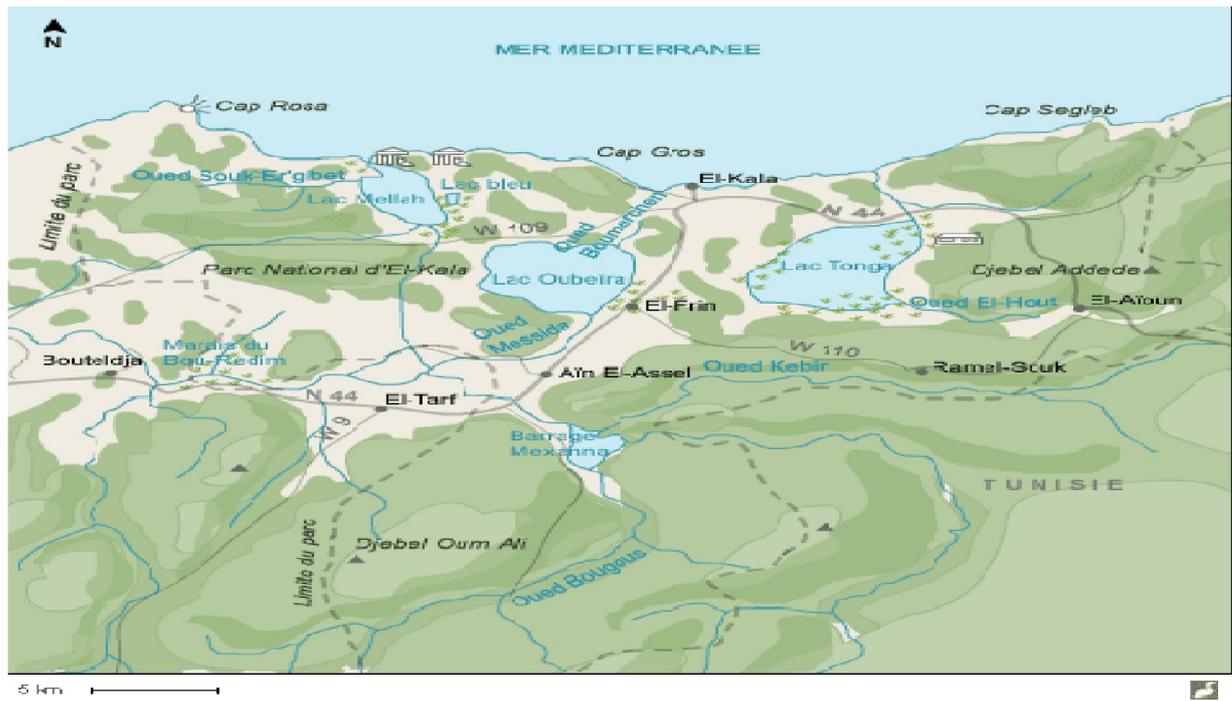
## I.2 Lac Oubeira

### I.2.1 Description du site d'étude : Lac Oubeira

- **Le cadre géographique du lac Oubeira**

Lac Oubeira est un plan d'eau douce d'une superficie de 2200 ha qui fait partie du complexe de zones humides le plus important du Maghreb que le parc national d'El kala. Il est situé près des lacs Mellah et Tonga, et entouré par une ceinture de végétation très diversifiée.

Lac Oubeira se situe à l'extrême Nord-Est de l'Algérie (36°50 N et 38°23 E), à une altitude de 25 m. C'est un système endoréique dont l'alimentation en eau est assurée particulièrement par le ruissellement des eaux sur les estuaires argilo-gréseux composant le bassin versant. De ce fait, le régime hydrologique du Lac Oubeira est fortement influencé par les variations climatiques [21].



**Fig. 01** : Situation géographique du Lac Oubeira dans le parc national d'El-Kala [21].

## I.2.2 Les caractéristiques du Lac Oubeira

Ses caractéristiques sont présentées dans le tableau 03

**Tableau 03** : présente les caractéristiques physiques du Lac Oubeira [18].

Géologie et hydrologie	-La profondeur maximale est de 4m. -Le substrat est entièrement composé d'argile, alimenté essentiellement par l'Oued Messida et d'une dizaine de petits affluents des collines avoisinantes, constitue un dépotoir de sédiment provenant du bassin versant [18].
Climat	-Vents dominants Nord-Ouest (permanents) -Pluviométrie annuelle entre 800 mm et 1000 mm [18].
Température	-Température de l'eau varie de 8.8 à 15.2° au mois de Janvier. [18].
Qualité des eaux	Eaux turbides surtout en hiver, un pH variant entre (8 et 10.653) [18].

### I.2.3 Diversités biologiques du lac Oubeira

- **Flore remarquable**

Une ceinture d'Hélophytes indispensable à la nidification des oiseaux d'eau. Parmi les espèces rares et très rares, (la châtaigne d'eau *Trapanatans*, le *Polygonum senegalense*, le Scribe incliné *Scripusinclinatus*) [18].

- **Faune remarquable**

Lac Oubeira constitue l'habitat de plusieurs espèces animales telles que :

- Les oiseaux d'eau.
- Les sédentaires : Blongios nain, Poule sultane.
- Les hivernais : Erismature à tête blanche, Grande aigrette spatule blanche.
- Les mammifères représentés par la loutre [18].

L'appréciation de la qualité des eaux de surface se base sur la mesure de paramètres physico-chimiques ainsi que sur la présence ou l'absence d'organismes et de micro-organismes aquatiques, indicateur d'une plus ou moins bonne qualité de l'eau [31].

## **II.1 Les paramètres physiques**

### **II.1.1 Conductivité**

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes et permet d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau [15].

### **II.1.2 Turbidité**

Mesure du caractère trouble de l'eau. Elle dépend des matières en suspension, du plancton et d'autres organismes microscopiques. Une turbidité trop élevée peut nuire à la pénétration de la lumière et à la croissance des algues et plantes aquatiques [16].

### **II.1.3 Matières en suspension (MES)**

Des particules fines dans une eau sont soit d'origine naturelle en liaison avec les précipitations, soit produites par les rejets urbains et industriels. Leur effet néfaste est mécanique, par formation de sédiments et d'un écran empêchant la bonne pénétration de la lumière d'une part (réduction de la photosynthèse), ainsi que par colmatage des branchies des poissons d'autre part. Leur effet est par ailleurs chimique par constitution d'une réserve de pollution potentielle dans les sédiments [17].

### **II.1.4 La température**

La température de l'eau est un paramètre de confort pour les usages. Elle permet également de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température (conductivité notamment). de plus en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu, il est possible d'obtenir des indications sur l'origine et l'écoulement de l'eau [15].

## II.2 Les paramètres chimiques

### II.2.1 Le potentiel hydrogène

Le pH indique l'équilibre entre les acides et les bases d'un plan d'eau. Il influence également la toxicité de plusieurs éléments en régissant un grand nombre de réactions chimiques. Outre l'état naturel du cours d'eau échantillonné (nature des sols et sous-sol), le pH est généralement influencé par les rejets industriels et urbains.

Le pH doit être impérativement mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre ou par colorimétrie [18].

**Tableau 04:** la variation du pH [18].

pH≤5	Acidité forte=présence d'acides minéraux ou organique dans les eaux naturelles
pH=7	pH neutre
7≤pH≤8	Neutralité approchée la majorité des eaux de surface
5.5≤pH≤8	Majorité des eaux souterraines
pH=8	Alcalinité forte vaporisation intense

### II.2.2 Le chlorure

Des chlorures peuvent être localement impliqués dans les pluies acides et phénomènes d'acidification d'eaux superficielles ou souterraines [18].

### II.2.3 Le phosphore

Le phosphore est la forme sous laquelle le phosphore peut être assimilé par les êtres vivants, en particulier les algues. Chimiquement, le phosphore est une combinaison d'atomes de phosphore et d'oxygène [19].

### II.2.4 Le magnésium

Un élément chimique, métallique, structural léger dans l'industrie causé par son poids faible et sa capacité à former des alliages mécaniquement résistants [19].

### II.2.5 L'oxygène dissous

La concentration en oxygène dissous est un paramètre essentiel dans le maintien de la vie et donc dans les phénomènes de dégradation de la matière organique et de la photosynthèse. C'est un paramètre utilisé essentiellement pour les eaux de surface [18].

### II.2.6 L'alcalinité d'une eau

Dans les eaux, l'alcalinité est principalement due à la présence d'ions carbonate  $\text{CO}_3$ , d'ions hydroxyle  $\text{OH}$  et hydrogénocarbonate  $\text{HCO}_3$  (anciennement appelés ions bicarbonate). L'alcalinité d'une eau est mesurée par un dosage avec un acide fort. Par convention, on exprime ce résultat par :

- Le titre alcalimétrique (TA) : mesure la teneur de l'eau en alcalis libre et en carbonates alcalis caustiques.
- Le titre alcalimétrique(TA) : ce titre est égal au volume d'acide(en ml) à  $0,02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  d'ion  $\text{SH}_3\text{O}^+$  nécessaires pour doser 100 ml d'eau en présence de phénolphtaléine.
- Le titre alcalimétrique complet ou (TAC) : correspond à la teneur de l'eau en alcalis libre, carbonates et hydrogénocarbonates, c'est la somme des ions  $\text{OH}$  et  $\text{CO}_3$  [19].

### II.2.7 La dureté ou hydrotimétrie (TH)

En reconnaissant la valeur du TH, on peut classer les eaux en eaux douces, eaux moins dures et eaux dures. La dureté ou (titre hydrotimétrique) d'une eau correspond à la somme des concentrations en cation métallique à l'exception de ceux des métaux alcalis et de l'ion hydrogène. Dans la plupart des cas la dureté est surtout due aux ions calcium et magnésium auxquels s'ajoutent quelquefois les ions de fer, aluminium, manganèse, strontium [20].

**II.2.8 La demande chimique en oxygène (DCO)**

La DCO représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder toute la matière organique contenue dans une eau. C'est l'un des paramètres de la qualité d'une eau [27].

**II.2.9 La demande biochimique en oxygène (DBO<sub>5</sub>)**

Généralement exprimée en milligrammes d'oxygène dissous par litre d'eau pendant un nombre de jours précis à température donnée, la DBO d'une eau polluée par des rejets d'égouts est élevée. Ce qui signifie qu'il ne reste presque plus d'oxygène dissous dans l'eau [16].

### III.1 La contamination de l'eau

La contamination de l'eau engendre la modification de la composition de l'eau et de ses propriétés suite à l'apport de diverses substances provenant principalement des activités humaines. Plusieurs sources de contamination de l'eau existent, tel que ; les déchets, les eaux usées, les activités humaines.

La pollution de l'eau est une dégradation physique, chimique, biologique ou bactériologique de ses qualités naturelles, provoquée par l'Homme et ses activités. Elle perturbe les conditions de vie de la flore et de la faune aquatiques; elle compromet les utilisations de l'eau et l'équilibre du milieu aquatique [29].

### III.2 Les grandes catégories des polluants de l'eau

On regroupe généralement les polluants de l'eau sous trois grandes catégories.

#### III.2.1 Les polluants biologiques

Ce type de polluant regroupe des microorganismes (bactéries, virus, parasites) et des matières organiques produites par les êtres vivants (excréments, sucres, graisses, etc.)[29]. parmi les types de contamination on a :

- **Contamination bactérienne**

Certaines bactéries peuvent être pathogènes. Les bactéries ont colonisé tous les milieux et font preuve d'une extraordinaire diversité. Certaines peuvent vivre dans des conditions extrêmes devenant capables de croître à partir des éléments soufrés, qui composent leur environnement de méthane ou d'hydrogène [43].

Parmi ces microorganismes on cite les coliformes totaux, les coliformes fécaux, *salmonella*, *stafilococcus auerus* et bactéries anaérobies sulfite réducteurs.

Tableau 05 : Description de quelques espèces

Espèces	Description
<b>Les coliformes totaux</b>	Les coliformes totaux sont des bactéries utilisées comme indicateur de la qualité microbiologique de l'eau. Leur présence en excès dans l'eau [33]
<b>Les coliformes fécaux</b>	Les coliformes fécaux ( <i>E. coli</i> ) et les entérocoques sont des bactéries d'origine fécale qu'on retrouve dans le tube digestif des humains et des animaux. [52]
<i>Salmonella</i>	Responsable de la fièvre typhoïde et paratyphoïde, sot des bacilles à Gram négatif, mobile dans toutes les directions grâce à des flagelles. Elles sont aéro-anaérobies facultatives [40].
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0.5 à 1µm de diamètre, ne sporule pas immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase positive [38].
<b>Bactéries anaérobies Sulfite Réducteurs</b>	<p>Les anaérobies Sulfite Réducteurs sont des germes telluriques (présents dans le milieu extérieur : sol, eau, air, capable d'y résiste très longtemps sous forme de spore), présent également dans la flore intestinale de l'homme et des animaux</p> <p>Cette appellation regroupe essentiellement les <i>clostridium</i> (dont <i>clostridium perfringens</i> ; 3ème cause d'intoxications alimentaires, agissant par une entero toxine et <i>clostridium botulimum</i>, responsable du boulisme) [39].</p>

- **Contamination fongique**

Les champignons sont présents avec les espèces animales ou végétales. Des interactions saprophytisme (*Aspergillus*) au parasitisme (moisissures noire du pain), et symbiotiques (lichens, mycorhize) traduisent vraisemblablement leur coévolution avec d'une part et les animaux d'autre part. [51]

Parmi les espèces fongiques on a *Aspergillus et penicillium*

**Tableau 06 :** Identification d'*Aspergillus et penicillium*

Genre <i>Aspergillus</i>	Genre <i>penicillium</i>
<p>Sont des champignons saprophytes, très répandus dans la nature et inhalés quotidiennement par la plupart des humains.</p> <p>Agents responsable d'aspergilloses: <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Aspergillus flavus</i>, <i>Aspergillus nidulans</i>, <i>Aspergillus versicolor</i>, <i>Aspergillus niger</i> Et <i>Aspergillus terrus</i> [41].</p>	<p>Ce genre réunit des champignons filamenteux appartenant au phylum des <i>Ascomycètes</i>.</p> <p>Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores.</p> <p>Les <i>pénicilliums</i> sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations.</p> <p>Les espèces du genre <i>Penicillium</i> se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des <i>Aspergillus</i>, à des températures plus basses, il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées [42].</p>

### III.2.2 Les polluants chimiques

Les polluants chimiques sont des contaminants ; soit des composés créés par l'homme (les pesticides), soit des composés naturels utilisés par l'homme (les métaux lourds). Figure 02 représente les différents polluants chimiques [30].



Fig. 02 : Les différents polluants chimiques [30].

### III.2.3 Les polluants physiques

- **La chaleur**

L'augmentation de la température diminue la teneur en oxygène dissous dans l'eau ce qui peut poser des problèmes de respiration pour certains organismes sensibles [30].

- **Les radio-isotopes (pollution radioactive)**

Le récent accident de la centrale nucléaire de Fukushima au Japon en est un exemple, même si on ne peut, à l'heure actuelle, en mesurer l'ensemble des conséquences écologiques [30].

- **Le bruit**

Le bruit peut être une nuisance importante, en particulier pour la faune.

- **La pollution lumineuse**

Il peut s'agir notamment de l'impact de l'éclairage public sur les animaux nocturnes (oiseaux migrateurs, invertébrés du sol, etc.) [30].

### **III.3 Les différentes pollutions de l'eau**

De nombreux facteurs peuvent modifier les composantes physico-chimiques des milieux aquatiques et notamment des pollutions de nature diverse. Selon la nature des polluants on distingue deux grandes catégories :

#### **III.3.1 Pollution physique**

Elle est essentiellement industrielle, secondairement domestique. On peut distinguer trois types de polluant ayant un caractère physique : les polluants mécaniques, les polluants thermiques et les polluants atomiques (polluants radioactifs) [23].

#### **III.3.2 Pollution chimique**

Elle est essentiellement aux rejets industriels qui apportent de grandes quantités de substances chimiques, perturbant ainsi l'équilibre de l'écosystème aquatique. Certains de ces produits, entre autres les métaux lourds, sont non biodégradables et peuvent occasionner des intoxications chez l'homme [23].

Les polluants chimiques peuvent avoir aussi pour origine : les eaux usées et les eaux de ruissellement. Selon la nature des polluants, on distingue :

- **Polluants organiques**

Les hydrocarbures, les pesticides et les détergents sont les plus importants et les plus dangereux des polluants organiques rencontrés dans les milieux aquatiques [23].

- **Polluants inorganiques**

Parmi les polluants inorganiques rejetés en grandes quantités par l'industrie, on trouve les résidus de traitement de minerais, traitement de surface, traitement électrolytiques, etc. beaucoup d'entre eux sont riches en métaux lourds et sont donc toxiques [23].

### **III.4 Impact sur l'environnement**

#### **III.4.1 Matières en suspension**

Augmentation de la turbidité préjudiciable à la photosynthèse, à la respiration des poissons et colmatant les milieux aquatiques. Les particules peuvent transporter différentes formes de pollution (organiques, métalliques) [26].

#### **III.4.2 Pollution organique**

Asphyxie du milieu par consommation de l'oxygène dissous. Toxicité de la charge organique faiblement biodégradable [26].

#### **III.4.3 Azote/ Phosphore**

Eutrophisation des milieux aquatiques par excès de matières nutritives pour les végétaux (algues) et conduisant à l'asphyxie des milieux. Toxicité de l'ammoniaque et des nitrites pour la faune aquatique. Les nitrates peuvent engendrer chez les nourrissons un empoisonnement du sang par blocage de l'hémoglobine interdisant le transport de l'oxygène [26].

#### **III.4.4 Métaux**

La majorité des éléments métalliques est indispensable à la vie animale et végétale (oligo-éléments). La pollution métallique des milieux aquatiques pose un problème particulier car non biodégradable. De façon générale, les troubles les plus fréquents sont d'ordre respiratoire, digestif, nerveux ou cutané. Certains métaux sont également considérés comme cancérigènes : Arsenic, Nickel, Chrome VI [26].

#### **III.4.5 Substances pour les milieux aquatiques**

Les insecticides sont généralement les pesticides les plus toxiques. Ce sont des polluants organiques persistants subissant trois types de phénomènes (transformation, rétention, transport) selon leurs propriétés physico-chimiques. Ils s'adsorbent sur les matières en suspension et s'accumulent dans certains compartiments (sédiments, matières organiques, chaîne alimentaire) Selon leurs formes et propriétés chimiques, ces substances présentent des effets toxiques, mutagènes et cancérigènes [25].

L'objectif de notre étude est d'évaluer le risque de contamination des eaux du lac Oubeira en analysant les paramètres physico-chimiques et bactériologiques.

Les prélèvements ont été réalisés durant les deux mois : mars et avril et subdivisés en 4 sites.

- **Présentation des sites**

En déterminant les analyses physico-chimiques au niveau de la station d'épuration Guelma, et microbiologique au niveau de laboratoire d'université 8 mai 1945 Guelma.

**Tableau07** : Présentation des points du prélèvement.

Site	Date du prélèvement	Heure du prélèvement	Situation géographique des sites
Site A	02 mars 2015	10 :07h	Au nord
Site B		10 :20h	A l'est
Site C		10 :32h	A l'ouest
Site D		10 :47h	Au sud du lac Oubeira
Site E	22 avril 2015	08 :45h	A l'est
Site F		09 :00h	A l'ouest
Site G		09 :17h	Au sud
Site H		09 :32h	Au nord du lac.



Fig. 03 : Les sites de prélèvement du lac Oubeira.

## IV.1 Les prélèvements

### IV.1.1 Matériel du prélèvement

Les prélèvements destinés à l'analyse bactériologique ont été réalisés dans des flacons en verre de 250 ml stérilisé en four pasteur pendant 30 minutes à 180°C.

### IV.1.2 Echantillonnage

Les prélèvements ont été subdivisé en 4 sites, Les échantillons ne doivent pas être contaminés, le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, il convient de laisser un petit vide d'air, permettant un mélange et un aspect homogène.

Les échantillons doivent être soigneusement étiquetés; l'étiquette doit comporter tous les éléments nécessaires à la bonne exploitation des résultats de l'analyse : numéro d'ordre, date et heure, les conditions météorologique, lieu précis [45].

#### IV.1.3 Mesure in situ

Pour chaque prélèvement, les mesures in situ ont été sur le site lui-même (la température, le pH, la conductivité, l'O<sub>2</sub> dissous) à l'aide d'un multi-paramètre.

#### IV.1.4 Transport des échantillons

Afin d'éviter tout changement chimique de l'eau et d'inhiber l'activité bactérienne, Les échantillons sont transportés dans une glacière isotherme (4°C), l'analyse durant nue période ne dépasse pas 2 heure.

#### IV.1.5 Méthode d'analyse

L'objectif d'analyse microbiologique des eaux consiste à ensemercer une concentration de l'eau à analyser sur milieu de culture, solide ou liquide. Le développement des cellules indique la présence des colonies.

### IV.2 L'identification fongique

#### IV.2.1 Les milieux et coulage des boîtes

Les milieux de culture utilisés sont : **Sabouraud** ; **Czapek simple** ; **Czapek concentré** et **le milieu Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar (TGEA)**. Les milieux sont couler dans des boites de pétries, et laisser refroidir.

#### IV.2.2 Stérilisation des milieux

La stérilisation a été faite à l'autoclave par la vapeur d'eau sous pression, à haute température (120°C) pendant 20 minutes. [14].

#### IV.2.3 Préparation des dilutions

- **Le but**

La diminution de la charge microbienne pour avoir des colonies distinctes.

- **Le principe**

A partir de l'échantillon mère nous réalisons une série de dilution décimale à condition de l'addition de 1 ml pour chaque tube.

- **Mode opératoire**

A l'aide d'une pipette graduée, préparer une série de dilution pour la raison de mettre 9 ml dans chaque tube [13].

#### IV.2.4 L'ensemencement et incubation

L'ensemencement s'effectue par strie et autre par touche. Après l'ensemencement, les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve à des températures allant de 28°C à 37°C telle que :

-Les boîtes contenant les milieux Czapek simple, TGEA (Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar).à 26°-28°C.

-Les boîtes contenant les milieux Czapek concentré et le milieu sabouraud à 30°C [13].

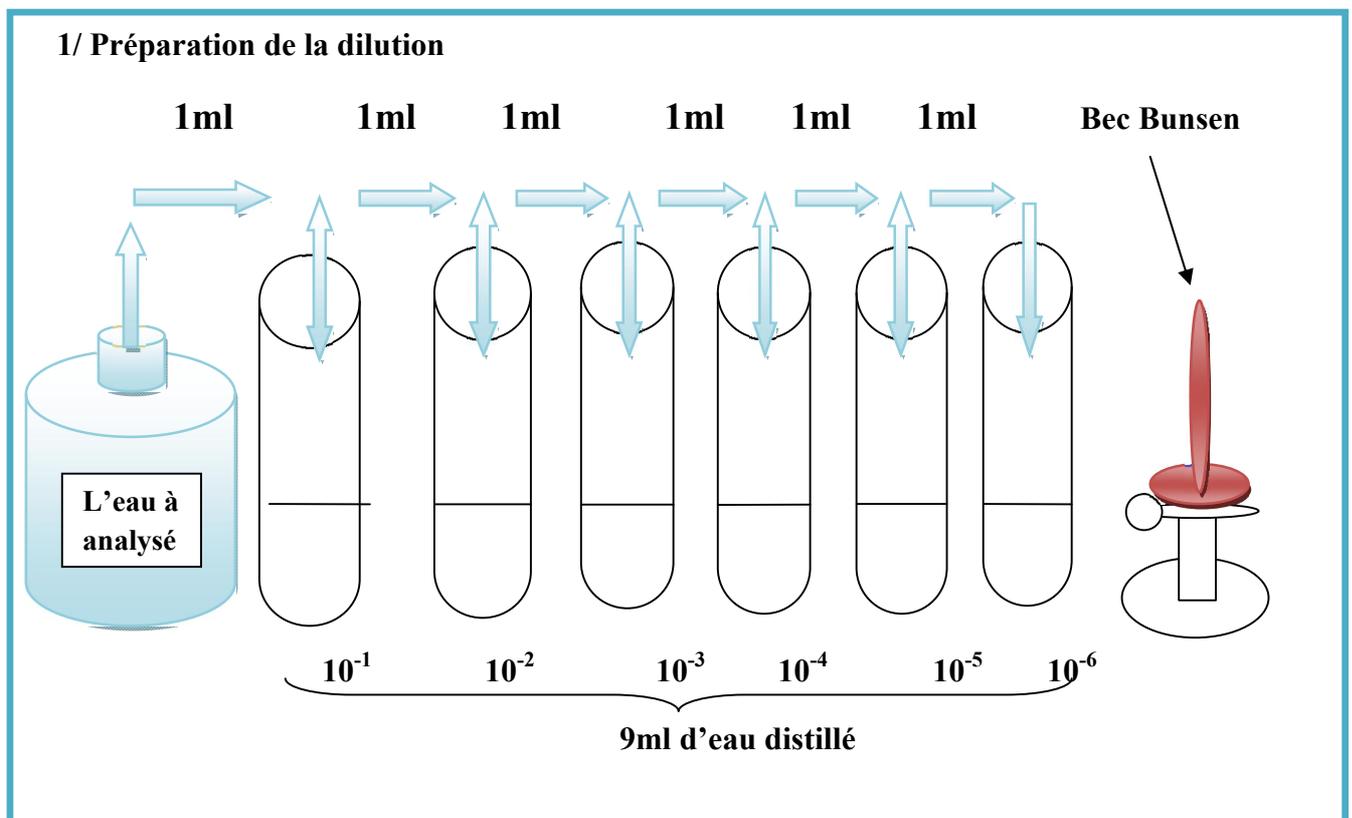
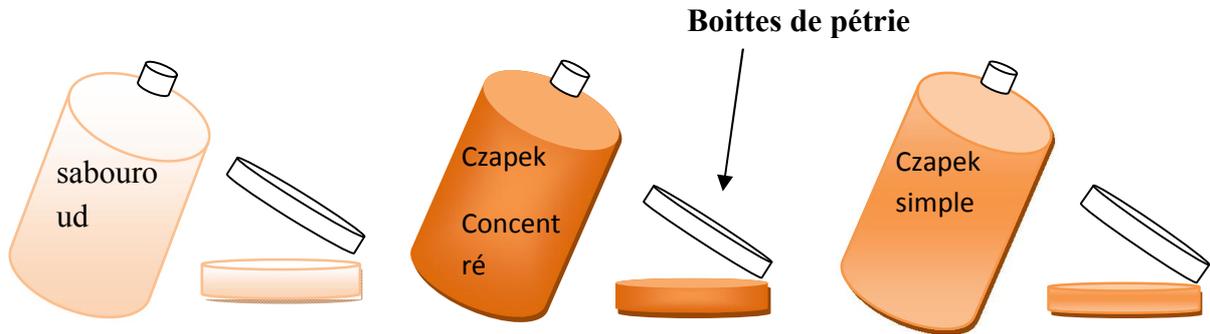
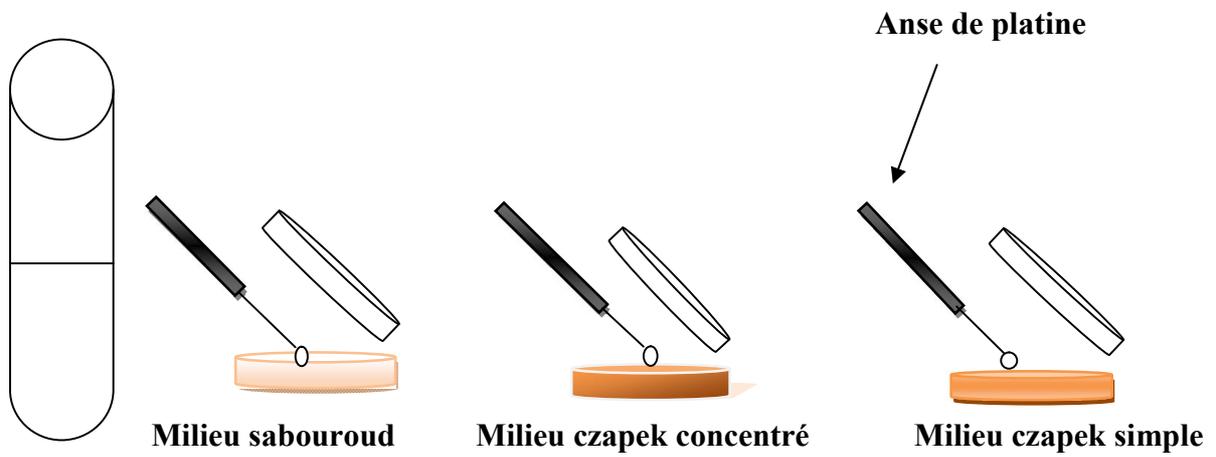


Schéma.01 : méthode de dilution

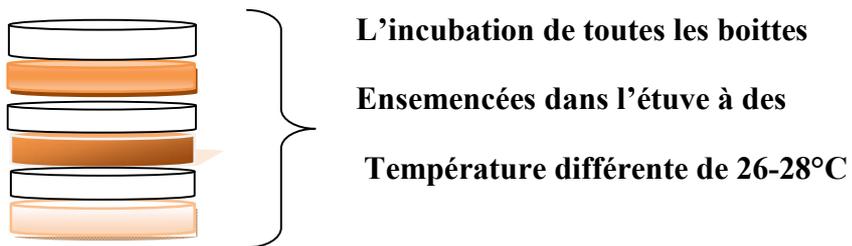
**2/coulage des boîtes**



**3/ L'ensemencement**



**4/L'incubation**



**Schéma 02 : Méthodes d'ensemencement et incubation**

### IV.2.5 Lecture

La lecture se réalise à partir du troisième jour pour déterminer les caractéristiques des colonies et suivre leur cycle, ce qui nous aide à identifier les espèces.

- **Aspect macroscopique :** permet de connaître
  - Caractères cultureux.
  - Couleur.
  - Couleur du revers.
  - Exsudat : présence ou absence.
  - Odeur : présence ou absence
- **Aspect microscopique des colonies**
  - Orange de fructification
  - Aspect et taille des spores.
  - Couleur et disposition des spores [1].

### IV.3 Examen microscopique des souches

L'examen consiste à déterminer les caractères morphologiques et les caractères cultureux.

- **Principe :** le choix d'un fragment mycélien à partir d'un site de prélèvement, sur le thalle, intermédiaire du mycélium juvénile à la marge et le vieux mycélium au ceci permet le visionnement idéal des appareils sporifères. Le matériel biologique fongique est préparé pour l'observation microscopique aux différents grossissements (X10, X40) [2].

#### IV.3.1 Examen à l'état frais

Cet examen Permet l'observation des mycéliums

- La morphologie des champignons.
- Leur mode de regroupement et leur structure [2].
- **La technique :** Prélever à l'aide d'une anse de platine fragment d'un mycélium qu'on dépose entre lame et lamelle. L'observation se faite à l'aide d'un microscope optique avec grossissement (X10 et X40).

#### IV.3.2 Examen après coloration

La coloration consiste deux étapes, les champignons consiste une coloration simple (Bleu de méthylène).

- **Préparation des frottis :** Les frottis destinés à la coloration doivent être étalés en couches minces régulières, séchés et le plus souvent fixés.
- **Réactif :** Bleu de méthylène.
- **Technique :**
  - Recouvrir le frottis avec le bleu de méthylène
  - Laisser agir de 1 à 3 minutes.
  - Rincer la lame.
  - Sécher avec un papier filtre fin.
  - Addition de l'huile de cèdre (X100) [3].

## IV.4 Analyse bactériologique

### IV.4.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants

La recherche et dénombrement des coliformes ont été réalisées selon la technique du Mac Grady nombre le plus probable (NPP).

#### ➤ **Technique :**

- Préparer une série de tubes contenant le milieu bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) qui est un milieu liquide avec une cloche de Durham.
- A partir des dilutions décimales (jusqu'à la  $10^{-9}$ ), porter aseptiquement 1 ml, dans chacun des tubes de BCPL à partir de la même dilution.
- Incuber à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48h.

#### ➤ **Lecture :**

Les tubes considérés comme positifs présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur la cloche).
- Un trouble accompagné d'un virage du milieu au jaune (fermentation du lactose).

#### ➤ **Dénombrement :**

On note le nombre de tubes positifs dans chaque série, l'illustration avec la table de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes [4].

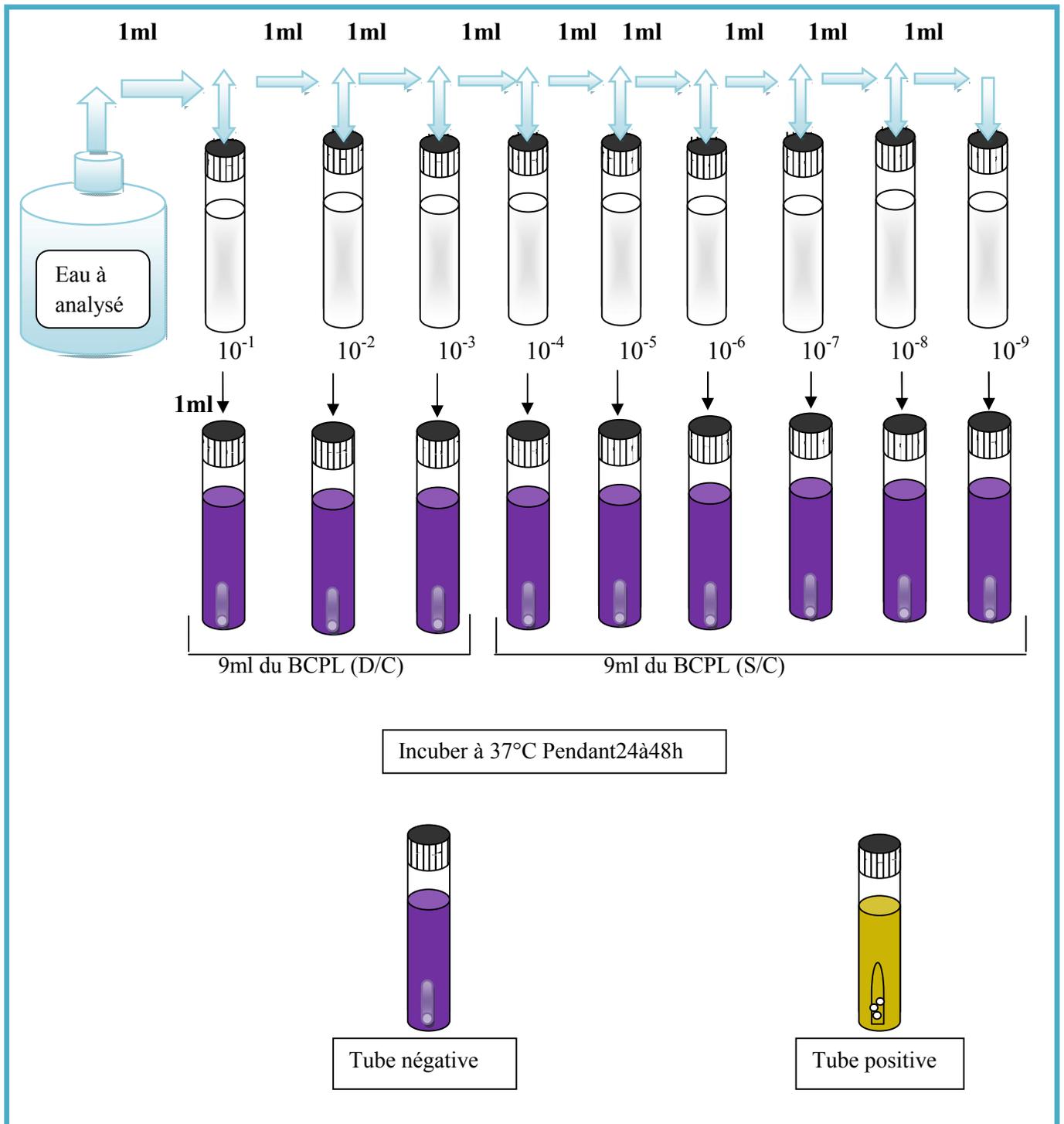
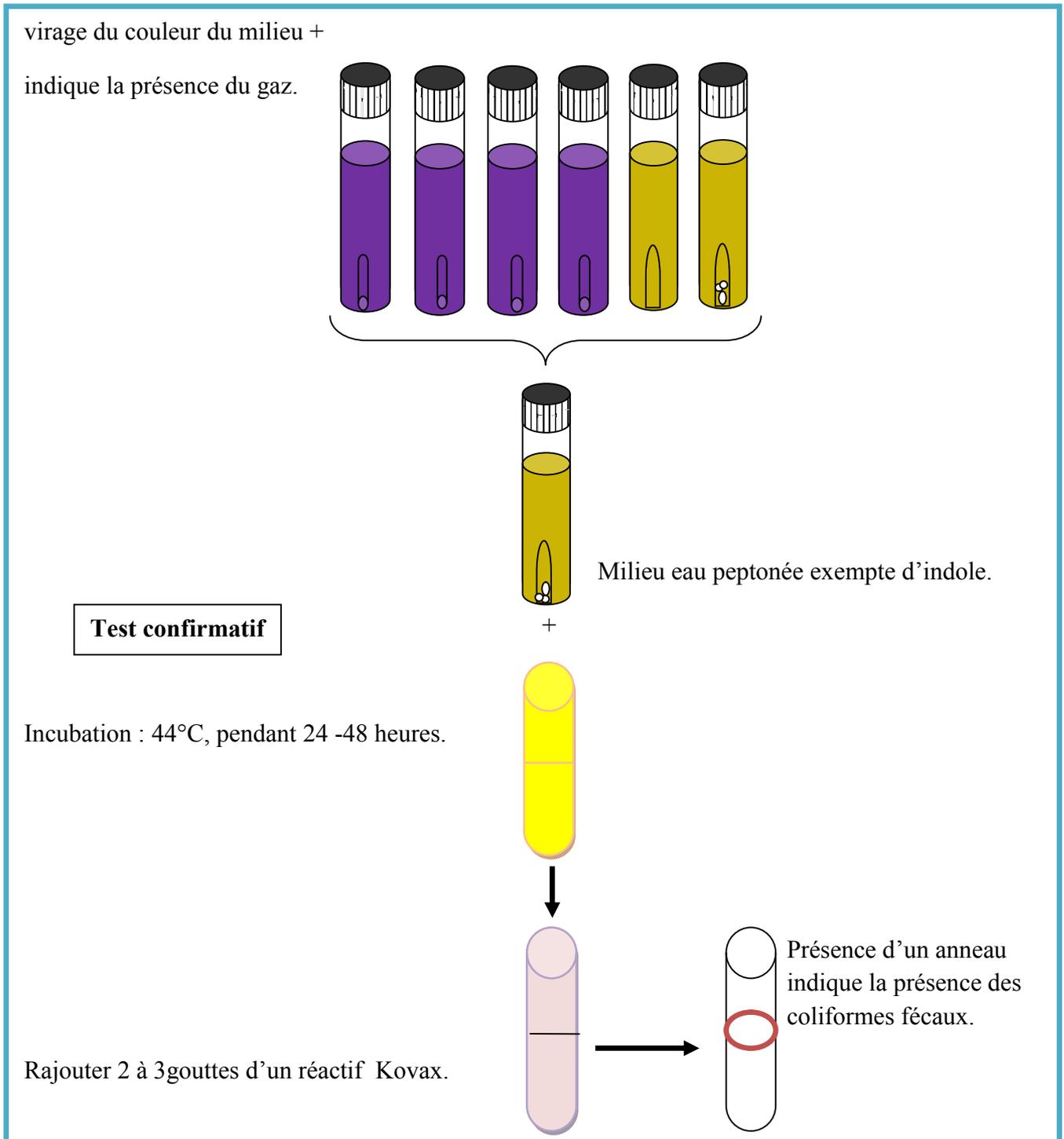


Schéma 03 : Recherche et le dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants.



**Schéma 04 :** Test confirmatif pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.

#### IV.4.2 Examen microscopique

A partir des colonies isolées sur les milieux de culture, on utilise la coloration de Gram [5].

- **Coloration de Gram**

Une coloration différentielle se base sur la :

- Préparation d'un frottis.
- Coloration par le violée de Gentiane : laisser agir la solution de cristal violet pendant 1mn puis laver la lame avec l'eau.
- Mordançage : laisser agir le lugol pendant 1mn puis rinçage avec l'eau de robine
- Décoloration : recouvrir la lame avec l'alcool pendant 30 secondes, lavé avec l'eau.
- Recoloration : laisse agir la solution de fushine pendant 30 à 40 secondes laves avec l'eau et enfin sécher.

#### IV.5 Recherche et dénombrement des entérobactéries

Le milieu de culture utilisé est gélose nutritive, l'ensemencement se fait par touche ou par stries sur les boites de pétris.

##### IV.5.1 Détermination des caractères biochimique des entérobactéries

- **La galerie biochimique classique**

Le tableau 04 présente les milieux, les techniques et les résultats pour la galerie classique.

**Tableau 08** : la détermination des étapes d'une galerie classique.

Milieux	Ensemencements	Caractères recherchés	Résultats
Citrate de Simmons	Par stries, au fil droit à partir d'une suspension bactérienne. Mettre à l'étuve à 37°C pendant 24h [6].	Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme source d'énergie [6].	Virage de couleur vers le bleu :(citrate+) [7].

TSI (Triple Suger Iron)	par stries avec une simple piqure. Mettre à l'étuve à 37°C pendant 24h	Utilisation du glucose, saccharose, et lactose. -production d' H <sub>2</sub> S -production du gaz.	Transformation de couleur vers le jaune (glucose, lactose, saccharose). Formation des zones noire (H <sub>2</sub> S). [6]
Mannitol mobilité	par piqure central à laide d'un fil droite. Mettre à l'étuve 37°C à 24h. [8].	-Mannitol.  -Mobilité [8].	Virage de couleur vers le rouge (mannitol+). Formation d'une voile autour de la piqure (mobilité) [7].
Urée indole	incorporation 0,1 ml Mettre à l'étuve 37°C à 24h [7]	L'uréase, enzyme hydrolysant l'urée.  Formation d'indole [7]	Virage de couleur vers le rose uréase(+). Apparition d'un anneau rouge à la surface (indole +).
Clark et clubs	incorporation et incubation à 37°C pendant 24h.  1. Test VP : Ajouter quelque goutte de (VPI et VPII) de 2à3 gouttes.  Attendre quelque min à 1 heure.  2. Test MR : Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle [7].	Présence d'acétoine dans le milieu absence d'acétoine dans le milieu. Misse en évidence de la voie des fermentations acide mixtes par le test (rouge de méthyle) RM [7].	1. Test VP Virage de couleur vers le rose (VP+)  2. Test RM Virage de couleur vers le rouge (RM +) [7].

- **Les tests complémentaires**

**A) Catalase**

Cette enzyme permet la dissociation d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selon la réaction suivante :

**Techniques**

- Sur une lame propre et séchée, déposer une goutte d'eau oxygénée.
- A l'aide d'une pipette pasteur, ajouter l'inoculum bactérien.
- Surveiller l'apparition d'un dégagement d'oxygène sous forme de bulles de gaz.

**Lecture**

- Dégagement immédiat de bulles de gaz considérés comme positif [9].

**B) Oxydase**

La recherche de l'enzyme respiratoire.

**Techniques**

- Déposer un disque pré-imprégné par le réactif N diméthyle paraphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.
- Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Déposer au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.

**Lecture**

- L'apparition d'une teinte (rose-violette) indique l'oxydase : positif [9].

**C) Recherche de l'enzyme Endocellulaire Béta-galactosidase****Techniques :**

- Réaliser une suspension bactérienne.
- Ajouter un disque imprégné d'Ortho-Nitrophényle-Galactosidase (ONPG) dans une suspension bactérienne.
- Incuber 30 min à 37°C [7].

**Lecture**

Le virage de couleur vers le jaune indique l'éclatement des cellules.

**D) TDA (Tryptophane décarboxylase)****Techniques**

- Réaliser une suspension bactérienne dans milieu Urée indole.
- Incuber 37°C à 24h.
- Ajoute 2 à 3 gouttes du réactif de TDA (Tryptophane décarboxylase) [33].

**Lecture**

- L'apparition de la couleur marron foncé TDA(+) [33].

**IV.5.2 La galerie api 20 E**

Permet à déterminer les caractères biochimiques.

**Technique**

- Faire une suspension bactérienne dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 24 heures [10].

**Lecture**

Les Réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certains sont par l'addition de Réactifs :

- Test VP : VPI + VPIL.
- TDA et IND : Réactif de Kovac.
- Test NO<sub>2</sub>: NIT I + NIT II [32].

La lecture de la galerie doit se faire en se référant :

- Soit avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.
- Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient le nombre de 7 chiffres qui sert du code d'identification.

- Soit avec un logiciel d'indentification : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée api 20E. (Voir l'Annexe II) [9].

## **IV.6 Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR)**

Les bactéries anaérobies sulfite-réductrices sont des bacilles Gram positif, se développant entre 24 et 48 heures sur une gélose viande foie (VF). Elles sont capables de produire de l'hydrogène sulfuré ( $H_2S$ ) à partir du sulfite de sodium présent dans le milieu, celui-ci qui se combine avec du citrate de fer ammoniacal ou l'alun de fer pour donner du sulfure de fer noir. Ce test permet de mettre en évidence une pollution fécale ancienne [25].

- **Principe**

Dans ce test, on utilise la méthode (par incorporation de gélose en tube profond) dans le but de rechercher et dénombrer les spores des bactéries anaérobies sulfite réductrices et des clostridium sulfite-réducteur dans les eaux du lac oubiera. [51].

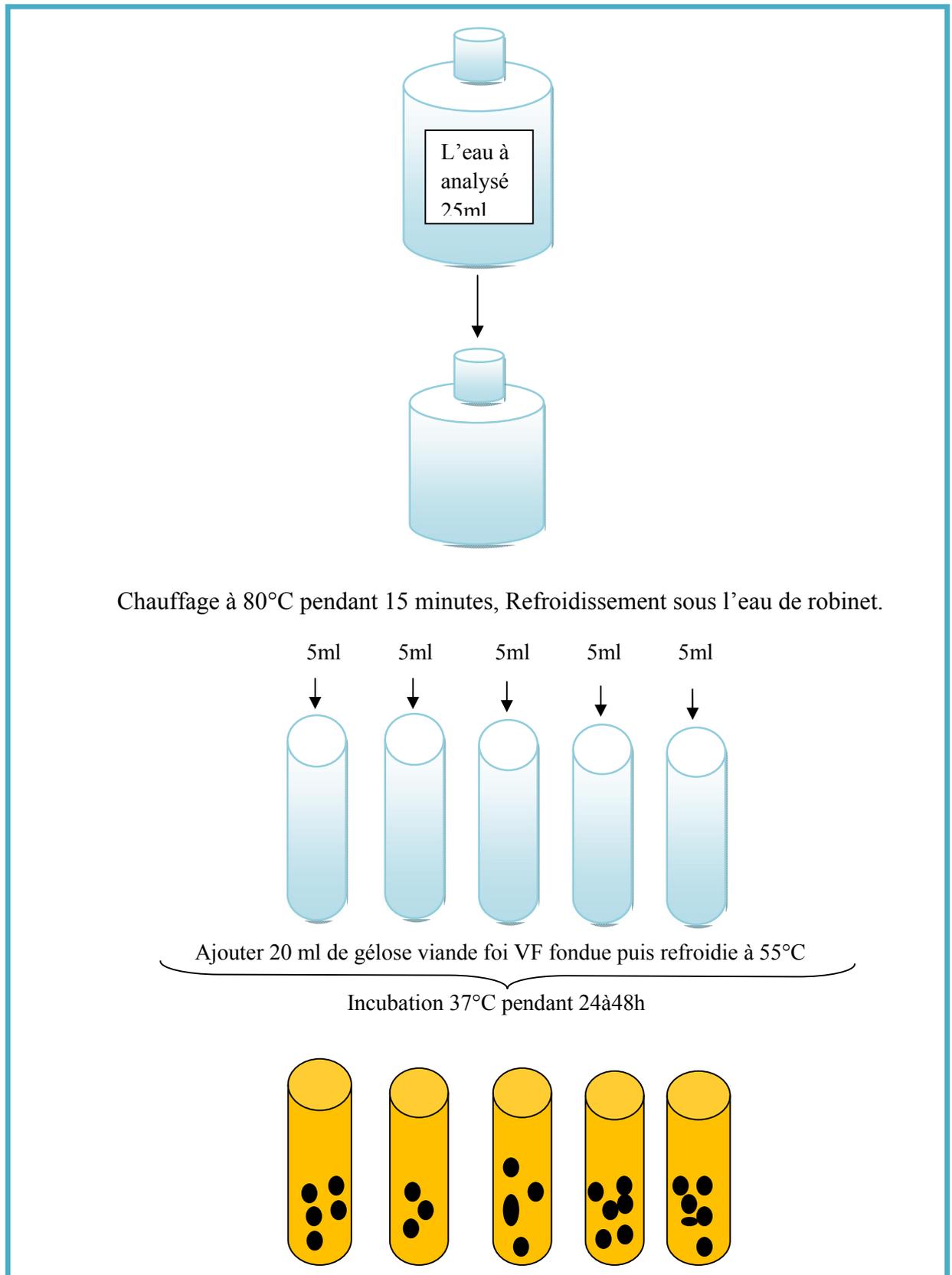
- **Mode opératoire**

La recherche des bactéries sulfite-réductrices se fait principalement en trois étapes :

- Destruction de la forme végétative.
- Préparation du milieu de culture.
- Inoculation et incubation à 37°C pendant 24-48 heures. [49].

- **Lecture**

Dénombrer toutes colonies d'un halo noires et compter le nombre total des colonies dans les tubes. [46].



**Schéma 05 :** Recherche et dénombrement des spores des Bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR).

## IV.7 Recherche et indentification des staphylocoques

L'isolement sélectif des staphylocoques a été réalisé à partir du milieu sélectif chapman qui contient un inhibiteur des sels minéraux (Na Cl) à concentration élevée (75g/L) [6].

### IV.7.1 L'observation macroscopique

- Transformation du couleur vers le jaune et une ramification indique mobile (+).
- Des colonies pigmentées en jaunes et mannitol(+) [11].

### IV.7.2 L'observation microscopique

Entre lame et lamelle en détermine la forme et la mobilité.

### IV.7.3 L'indentification biochimique des *staphylocoques*

On utilise le système miniaturisé api staph.

## IV.8 Analyse physico-chimique

### IV.8.1 Les mesures in situ

Touts les paramètres physico-chimique (pH, Température, Oxygène dissous, conductivité) on été réalisé à l'aide d'un multi paramètre de type (Multi 1970 i).



Fig.04 : le multi-paramètre

### IV.8.2 La turbidité

A été mesurée à l'aide d'un turbidimètre (de préférence le même jour).

### IV.8.3 Les matières en suspension (MES)

La détermination de la matière en suspension dans l'eau s'effectue par filtration ou par centrifugation.

La méthode utilisée est la filtration sur fibre de verre où l'eau est filtrée à l'aide des filtres de Wattman et le poids des matières retenues par le filtre, est déterminé par pesée différentielle.

#### ➤ Mode opératoire

- Laver le disque filtrant fibreux à l'eau distillée, le sécher à l'étuve (1h à 105°C ou 15 min à la micro-onde à puissance moyenne) et le placer en attente dans un dessiccateur.
- Peser le disque ( $M_0$ ).
- Placer le disque dans l'appareil de filtration et mettre en route le système d'aspiration.
- Verser progressivement le volume  $V_e$  d'eau à analyser sur le disque filtrant jusqu'à ce que l'appareil de filtration se vide.
- Rincer le récipient qui a contenu l'échantillon avec 10 ml d'eau distillée et filtrer les eaux de lavage.
- Mettre le disque filtrant à sécher (1h à 105°C ou 15 min à la micro-onde à puissance moyenne). Laisser refroidir le filtre au dessiccateur ; peser le filtre.

#### ➤ Expression des résultats

$$\frac{M_1 - M_0}{V} \times 1000$$

$M_0$  = masse du disque filtrant avant utilisation.

$M_1$  = masse du disque filtrant après utilisation.

$V$  = volume d'eau utilisé.

#### IV.8.4 Le Magnésium

➤ **Mode opératoire**

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large, ajouter 2 ml de NH<sub>4</sub>OH à pH 10 et une pincée de noir urochromes T.
- Titrer par l'EDTA N/50 jusqu'au virage de couleur bleu (V<sub>2</sub>).

➤ **Expression des résultats**

$$[Mg^2] \text{ mg/l} = (V_2 - V_1) \times F \times 4,8$$

V<sub>2</sub> : Volume titré de calcium et de magnésium.

V<sub>1</sub> : Volume titré de calcium.

➤ **Facteur**

- 50 ml de solution mère de CaCl<sub>2</sub>.
- 2 ml de NaOH (2).
- Une pincée de murex ide.
- Tirer par l'EDTA N/50 jusqu'au virage de couleur viole

$$F = 12,5/V \text{ (EDTA)}$$

#### IV.8.5 Les chlorure

➤ **Principe**

- En milieu neutre, les chlorures sont dosés par une solution titrée de nitrate d'argent.
- En présence de chromate de potassium, la fin de la réaction est indiquée par l'apparition d'une teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

➤ **Mode opératoire**

- Introduire 25 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer à col large, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10%.
- Verser au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une teinte rougeâtre qui doit persister 1 à 3 minutes.

➤ **Expression des résultats :**

Soit V, le volume de millimètres de nitrate d'argent utilisés.

#### IV.8.6 Le calcium

➤ **Principe**

Le principe est identique à celui de la méthode complexa-métrique pour la dureté totale. Comme le dosage se fait à un pH élevé, le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. L'indicateur choisi ne se combine qu'avec le calcium.

➤ **Mode opératoire**

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un Erlenmeyer au col large.
- Ajouter 2 ml de solution d'hydroxyde et quelques graines d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet.

➤ **Expression des résultats**

Soit V le volume de solution d'EDTA verser.

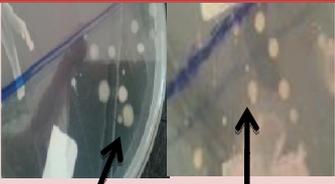
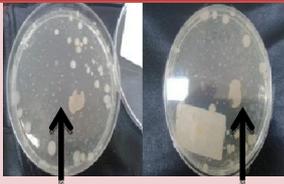
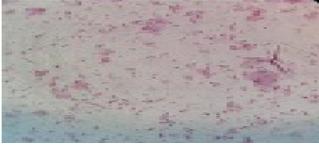
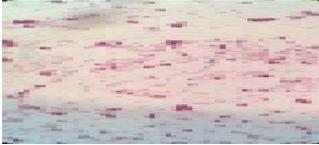
$$[\text{Ca}^2] \text{ mg/l} = V (\text{EDTA}) \times F \times 8$$

## V.1 Analyse bactériologique

### V.1.1 Résultats de la recherche des entérobactéries

L'analyse bactériologique consiste à déterminer l'aspect macro et microscopique et une galerie classique pour l'identification de plusieurs genre existant dans des différents sites étudiés nos résultat sont représenté sous dessous.

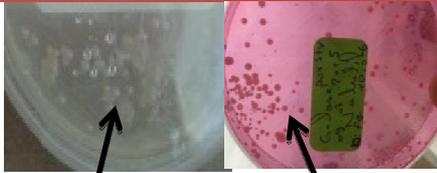
**Tableau 09 :** Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02.

	Milieu Gélose nutritif (GN)		
	Prélèvement 01		Prélèvement 02
	Site A	Site C	Site E
<b>Aspect macroscopique</b>	 <p>Recto    Verso</p> <p><b>Fig. 05:</b> colonies blanchâtres. Des colonies blanchâtres bombées de grande taille.</p>	 <p>Recto    Verso</p> <p><b>Fig.09:</b> colonies blanchâtres Des colonies plates, régulières de la forme (S) blanchâtres.</p>	 <p>Recto    Verso</p> <p><b>Fig.13:</b> colonies marron Des colonies marron irrégulières de forme(R)</p>
<b>Aspect microscopique</b>	 <p><b>Fig. 06:</b>Bacille à Gram<sup>-</sup></p>	 <p><b>Fig.10:</b>Bacille à Gram<sup>-</sup></p>	 <p><b>Fig.14:</b>Bacille à Gram<sup>-</sup></p>
	 <p><b>Fig. 07:</b> Résultat de galerie classique. -Manitol mobilité<sup>+</sup>: virage du couleur vert le jaune avec formation</p>	 <p><b>Fig. 11:</b> Résultat de galerie classique. -Mannitol mobilité<sup>+</sup>: virage du couleur vert le jaune avec formation</p>	 <p><b>Fig.15 :</b> Résultat de galerie classique. -Manitol mobilité<sup>+</sup>: virage du couleur vert le jaune avec formation</p>

<p><b>Galerie classique</b></p>	<p>d'une ramification.                  -Urée d'idole : addition du réactif kovax                  l'apparition d'un anneau rouge ce qui explique indole<sup>+</sup>.                  -Citrate<sup>+</sup>: virage du couleur vers le bleu vert.                  -TSI: transformation de couleur (lactose<sup>+</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>+</sup>) la présence du gaz (gaz<sup>+</sup>) et l'absence du zone noire (H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>).                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>	<p>d'une ramification.                  -Urée d'indole: addition du réactif kovax                  l'absence d'un anneau rouge (Indole<sup>-</sup>).                  - Citrate<sup>-</sup> : absence du virage du couleur.                  - TSI: la couleur ne change pas complètement (lactose<sup>-</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>-</sup>), l'absence du gaz (gaz<sup>-</sup>) et l'absence de la zone noire (H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>).                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>	<p>d'une ramification.                  -Urée d'indole: addition du réactif kovax                  l'absence d'un anneau rouge (Indole<sup>-</sup>).                  -Citrate<sup>+</sup>: virage du couleur vers le bleu vert.                  -TSI: la couleur ne change pas complètement (lactose<sup>-</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>-</sup>), l'absence du gaz (gaz<sup>-</sup>) et l'absence de la zone noire (H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>).                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>
<p><b>Tests complémentaires</b></p>	<p>  <b>Fig.08:</b> Résultat du test complémentaire                  -Oxydase<sup>+</sup>: apparition de couleur rose.                  -ONPG<sup>+</sup>: apparition de couleur jaune.                  -Catalase<sup>-</sup>: absence de bulles de gaze (O<sub>2</sub>).</p>	<p>  <b>Fig.12:</b> Résultat du test complémentaire                  -Oxydase<sup>-</sup>: apparition de couleur rose.                  -ONPG<sup>-</sup>: absence de couleur jaune.</p>	<p>  <b>Fig.16:</b> résultat du test complémentaire                  -Oxydase<sup>-</sup>: absence de couleur rose                  -ONPG<sup>+</sup>: apparition d couleur jaune                  -Catalase<sup>+</sup>: apparition de bulles de gaze (O<sub>2</sub>).</p>

		-Catalase <sup>+</sup> : présence de bulles de gaze (O <sub>2</sub> ).	
Espèces	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>

**Tableau 10** : Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02.

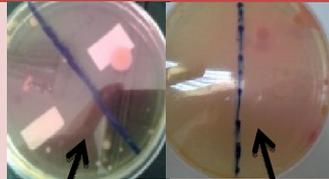
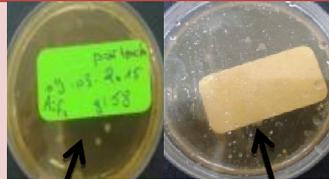
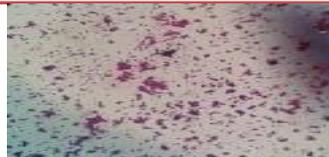
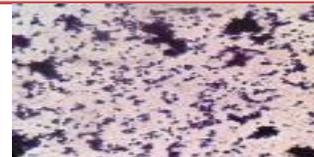
Milieu Gélose nutritif (GN)		
	Prélèvement 01 site D	Prélèvement 02 site G
<b>Aspect macroscopique</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.17:</b> colonies jaunâtres.</p> <p>Des colonies bombées, lisses, régulières de forme (S) et d'autre sont plates avec couleur jaunâtres.</p>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.20:</b> colonies et jaunâtres.</p> <p>Des colonies plates, régulières de la forme (s) jaunâtres.</p>
<b>Aspect microscopique</b>	 <p><b>Fig.18:</b> Bacille à Gram-</p>	 <p><b>Fig.21:</b> Bacille à Gram-</p>

<b>Galerie api 20E</b>	 <p><b>Fig. 19:</b> Résultat du profil biochimique</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-ONPG<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ADH<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-LDC<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-ODC<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-CIT<sup>+</sup>: bleu</li> <li>-H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-URE<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-TDA<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-IND<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-VP<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-GEL<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-GLU<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MAN<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-INO<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SOR<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-RHA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SAC<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MEL<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-AMY<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ARA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-NO<sub>2</sub><sup>+</sup>: rouge</li> <li>-MOB<sup>+</sup>: mobile</li> </ul>	 <p><b>Fig. 22:</b> Résultat du profil biochimique</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-ONPG<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ADH<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-LDC<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-ODC<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-CIT<sup>+</sup>: bleu</li> <li>-H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-URE<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-TDA<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-IND<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-VP<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-GEL<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-GLU<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MAN<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-INO<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SOR<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-RHA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SAC<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MEL<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-AMY<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ARA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-NO<sub>2</sub><sup>+</sup>: rouge</li> <li>-MOB<sup>-</sup>: Immobile</li> </ul>
	<b>Espèces</b>	<i>Octobacter faemeri</i>

### V.1.2 Résultats de la recherche des staphylocoques

Les résultats de la recherche des staphylocoques sont représentés dans le tableau suivant

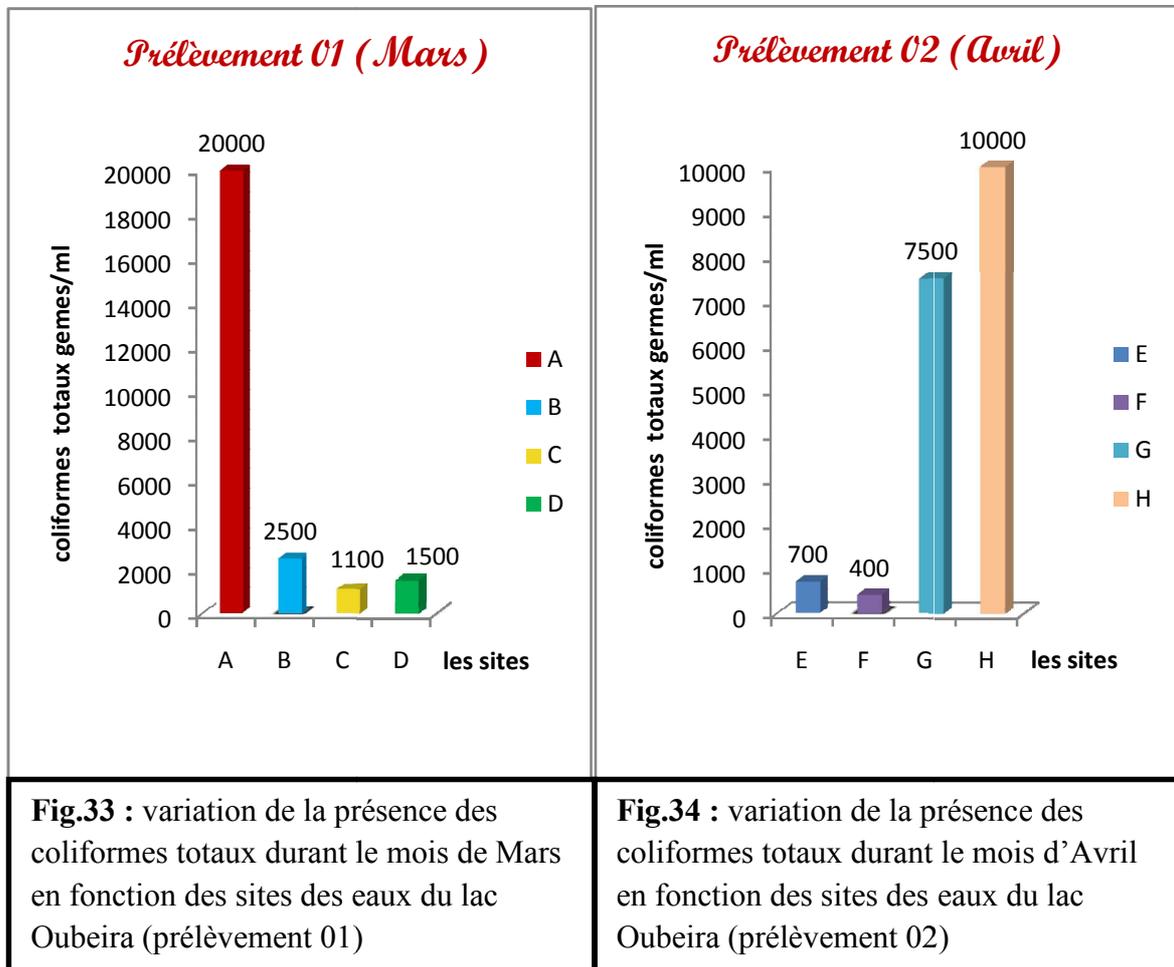
**Tableau 11** : Résultats d'identification des souches de staphylocoques isolée des prélèvements 01 et 02.

	Milieu Chapman		
	Prélèvement 02 Site B	Prélèvement 02	
		Site F	Site H
<b>Aspect macroscopique</b>	 <p><b>Fig. 23:</b> colonies jaunâtres.</p> <p>Des colonies plates régulières de forme (S) jaunâtres avec une transformation du couleur vers le jaune.</p>	 <p><b>Fig. 26:</b> colonies jaunâtres.</p> <p>Présence des colonies jaunâtres bombées petite et grande taille ; avec une transformation du couleur vers le jaune.</p>	 <p><b>Fig. 30:</b> colonies blanchâtres.</p> <p>Des colonies plates, régulières blanchâtres.</p>
<b>Aspect microscopique</b>	 <p><b>Fig. 24:</b> Cocci à Gram+ en amas</p>	 <p><b>Fig. 27:</b> Cocci à Gram+ en amas</p>	 <p><b>Fig. 31:</b> Cocci à Gram+ en amas</p>
<b>Galerie classique/ api Staph</b>	 <p><b>Fig. 25:</b> Résultat du profil biochimique.</p> <p>-O<sup>-</sup> : incolore -GLU<sup>+</sup> : rouge</p>	 <p><b>Fig. 28 :</b> Résultat de galerie classique.</p> <p>-Manitol mobilité+ : virage du couleur vert le</p>	 <p><b>Fig. 32 :</b> Résultat du profil biochimique.</p> <p>-O<sup>-</sup> : incolore -GLU<sup>+</sup> :jaune</p>

	<p>-FRU<sup>+</sup>: rouge                  -MNE<sup>+</sup>: rouge                  -MAL<sup>+</sup>: rouge                  -LAC<sup>+</sup>: rouge                  -TRE<sup>+</sup>: rouge                  -MAN<sup>+</sup>: rouge                  -XLT<sup>+</sup>: jaune                  -MEL<sup>+</sup>: rouge                  -NIT<sup>+</sup>: rouge                  -PAL<sup>-</sup>: violet                  -VP<sup>+</sup>: incolore/rose                  RAF<sup>+</sup>: rouge                  --XYL<sup>+</sup>: rouge                  -SAC<sup>+</sup>: rouge                  -MDG<sup>-</sup>: jaune                  -NAG<sup>+</sup>: rouge                  -ADH<sup>-</sup>: orange/violet                  -URE<sup>-</sup>: rouge/violet</p>	<p>jaune avec ramification                  -Urée d'idole: avec addition du réactif kovax l'absence d'un anneau rouge (indole<sup>-</sup>)                  -Citrate<sup>+</sup>: virage du couleur vers le bleu vert.                  - TSI: transformation de couleur (lactose<sup>+</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>+</sup>) la présence du gaz (gaz<sup>+</sup>) et l'absence du zone noire (H<sub>2</sub>S-)                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>	<p>-FRU<sup>+</sup>:rouge                  -MNE<sup>+</sup>: rouge                  -MAL<sup>-</sup>: jaune                  -LAC<sup>+</sup>:rouge                  -TRE<sup>+</sup>: rouge                  -MAN<sup>+</sup>: rouge                  -XLT<sup>+</sup>: jaune                  -MEL<sup>-</sup>: jaune                  -NIT<sup>+</sup>: incolore/use                  -PAL<sup>+</sup>: jaune                  -VP<sup>+</sup>: incolore/rose                  -RAF<sup>-</sup>: rouge                  -XYL<sup>+</sup>: rouge                  -SAC<sup>+</sup>:rouge                  -MDG<sup>-</sup>: rouge                  -NAG<sup>+</sup>:rouge                  -ADH<sup>-</sup>:Orange/rouge                  -URE<sup>+</sup>: jaune</p>
<p><b>Tests complémentaires</b></p>		 <p><b>Fig. 29:</b> Résultat du test complémentaire</p> <p>-Oxydase<sup>+</sup>: virage du couleur rose                  -ONPG<sup>+</sup>: apparition d couleur jaune                  -Catalase<sup>+</sup>: apparition de bulles de gaze.</p>	
<p><b>Espèces</b></p>	<p><i>Staphylococcus lentus</i></p>	<p><i>Staphylococcus auerus</i></p>	<p><i>Staphylococcus xylocus</i></p>

### V.1.3 Résultats de la recherche des coliformes totaux

Les variations du nombre de coliformes totaux dans les différents sites, situées sur le lac Oubeira sont illustrées dans la figure si dessous.



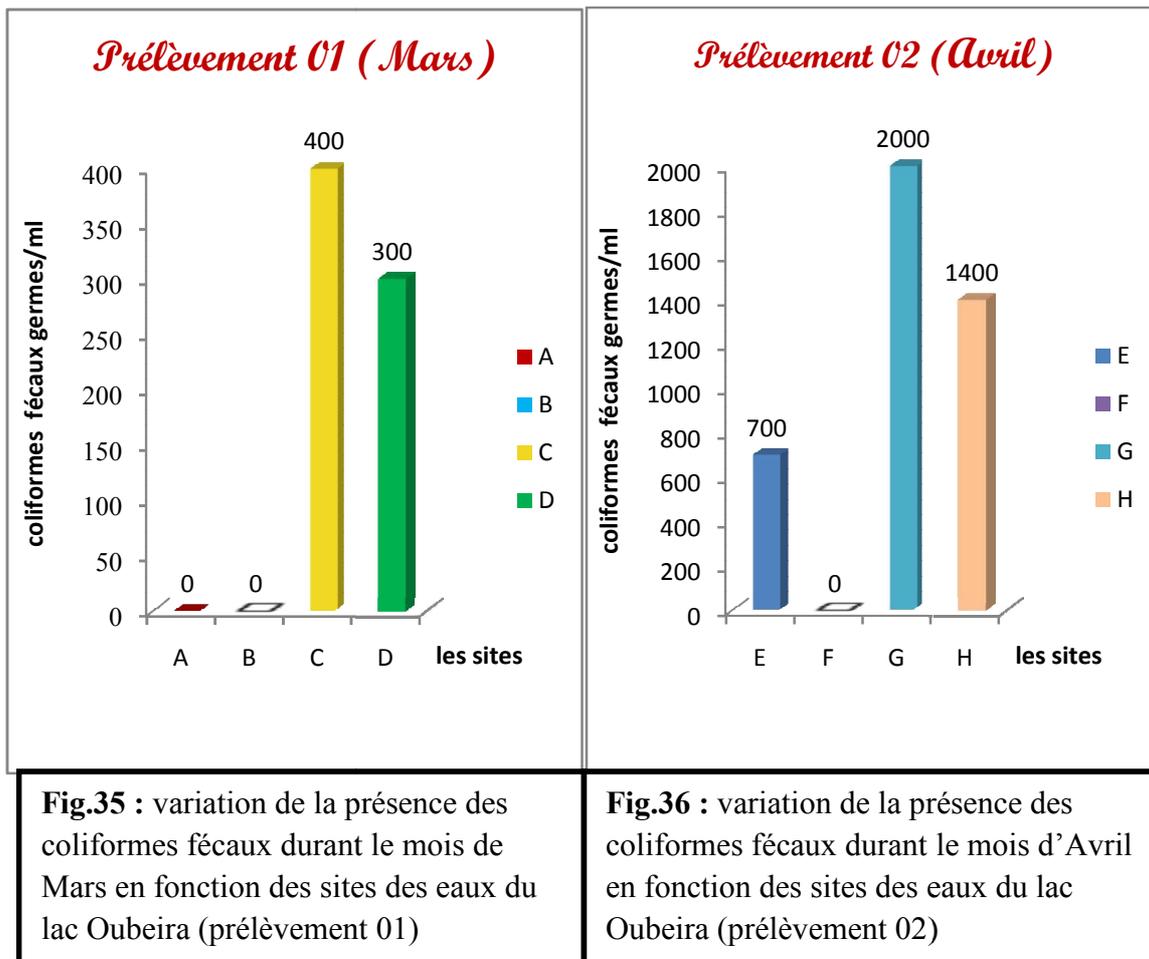
**Fig.33** : variation de la présence des coliformes totaux durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.34** : variation de la présence des coliformes totaux durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

La forte concentration des coliformes totaux a été enregistrée au niveau du site A (20000germes/ml) tandis que la valeur minimale est enregistré au niveau du site F (400germes/ml),ce qui explique la présence des bactéries à l'origine d'une contamination récente par la matière fécale des animaux.

### V.1.3 La recherche des coliformes fécaux (*Escherichia coli*)

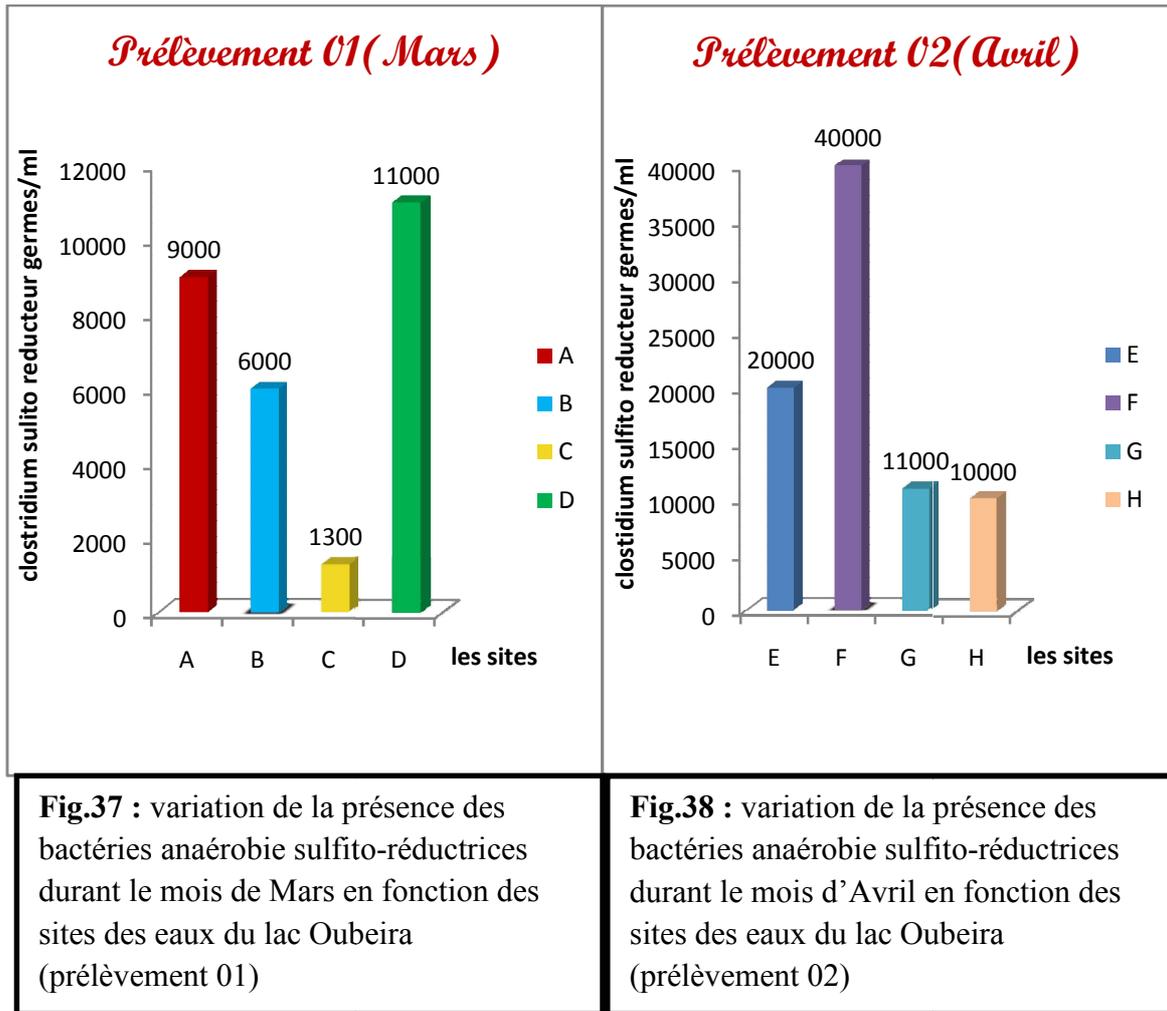
L'isolement des coliformes fécaux se fait dans le milieu exempt d'indole à 44°C pendant à 24h à bin marin. Les variations du nombre des bactéries des coliformes fécaux dans les différents sites situés sur lac Oubeira sont présentées dans les figures si dessous.



La valeur la plus élevée pour les coliformes fécaux a été enregistré au niveau du site G (2000germes/ml) ce qui explique l'abondance de ses germes grâce à la présence d'une contamination fécale.

#### V.1.4 La recherche des spores de clostridium sulfito-réducteurs

La gélose viande foie est utilisée pour le dénombrement des spores de clostridium sulfito-réducteurs dans l'eau du lac Oubeira à 37°C pendant 24 heures. Les variations des colonies de germes sulfito-réducteurs dans les différents sites situés sur lac Oubeira sont présentés dans les figures si dessous.



La concentration la plus faible des bactéries anaérobies sulfite-réductrices a été enregistrée au niveau du site C (1300germes /ml) durant le mois de mars, par contre la plus élevée au niveau du site F (40000 germes/ml) durant le mois d'avril ce qui exprime que ce dernier contient une contamination fécale ancienne.

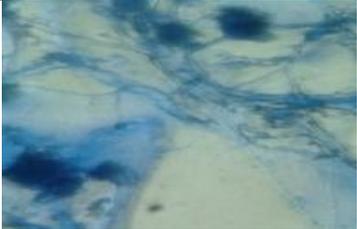
## V.2 Identification fongique

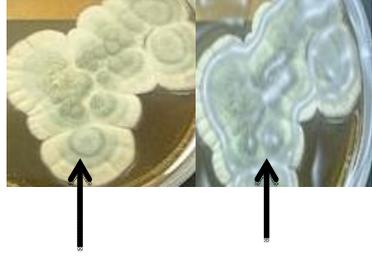
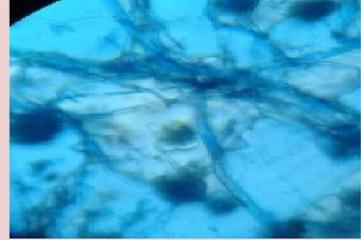
L'aspect macroscopique et microscopique des espèces fongiques dans les milieux de cultures sont présentées dans les tableaux suivants.

**Tableau 12 :** Aspect macroscopique des filaments fongiques à partir de plusieurs milieux.

Milieu de culture	Site A	Site B	Site C	Site D	Site E	Site F	Site G	Site H
Czapek simple [à 25°C pd01-05 jour].	Absence de culture.	Des filaments verdâtres et blanchâtres de petites tailles.	Absence de culture.	Absence de culture.	Des petits mycéliums de couleurs marron et noirs.	Des petits mycéliums de couleurs noirs.	Absence de culture.	Des petits mycéliums de couleurs marron.
Czapek concentré [à 25°C pd01-05 jour].	Absence de culture.	Absence de culture.	Absence de culture.	Quelque hyphe de couleur blanc et noir.	Des hyphes de couleur blanc et noir.	Quelque petites hyphes marron.	Petit hyphe de couleur marron.	Des petits hyphes marron.
sabouraud [à 25°C pd01-05 jour].	Colonies grands tailles avec des colonies blanchâtres de petites tailles.	Des colonies grandes tailles de couleur blanchâtres.	Des colonies grandes tailles bombées de couleurs blanchâtres.	Des colonies blanchâtres grandes tailles.	Des mycéliums blanc, marrons et noirs.	Mycéliums bombés de couleur vert et petites mycéliums noir et blanc.	Mycéliums de couleurs blanc, marron, et noir.	Mycéliums de couleurs blanc, marron, vert et noir.
TGEA [à 25°C pd01-05 jour].	Absence de culture.	Des colonies bombées avec couleur blanchâtres.	Des colonies blanchâtres petites tailles.	Absence de culture.	Des filaments noirs petites tailles.	Des filaments de couleur noir et des colonies blanchâtres.	Absence de culture.	Absence de culture.

**Tableau 13:** Aspects macroscopiques et microscopiques des analyses fongiques.

Milieu de culture	Aspect macroscopique	Aspect Microscopique	Espèces
<b>Czapek Simple</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig. 39:</b> Aspect macroscopique Des petits filaments de couleur marron.</p>	 <p><b>Fig. 40 :</b> Aspect microscopique Des thalle présente des micilium closonné.</p>	<i>Aspergillus glaucus</i>
<b>Czapek Concentré</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig 41 :</b> Aspect macroscopique des mycéliums Des petits filaments de couleurs noir et blanc.</p>	 <p><b>Fig. 42 :</b> Aspect microscopique Des filaments de couleur bleu.</p>	<i>Aspergillus flavus</i>
<b>Sabouraud</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.43 :</b> Résultat d'aspect macroscopique des mycéliums.  Une variation de couleur dans le mycélium : blanc, marron, vert et noir.</p>	 <p><b>Fig. 44:</b> Résultat d'aspect microscopique  Des filaments de couleur bleu.</p>	<i>Aspergillus fumigatus</i>

	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig. 45 :</b> Résultat d'aspect macroscopique des mycéliums.</p>	 <p><b>Fig. 46:</b> Résultat d'aspect microscopique</p>	<p><i>Penicillium notatum</i></p>
<p><b>TGEA</b></p>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.47 :</b> Résultat d'aspect macroscopique des mycéliums.</p> <p>Des petits mycéliums de couleurs blanchâtres.</p>	 <p><b>Fig. 48:</b>Résultat d'aspect microscopique</p> <p>Des filaments de couleur bleu.</p>	<p><i>Aspergillus niger</i></p>

### V.3 Paramètres physico-chimiques

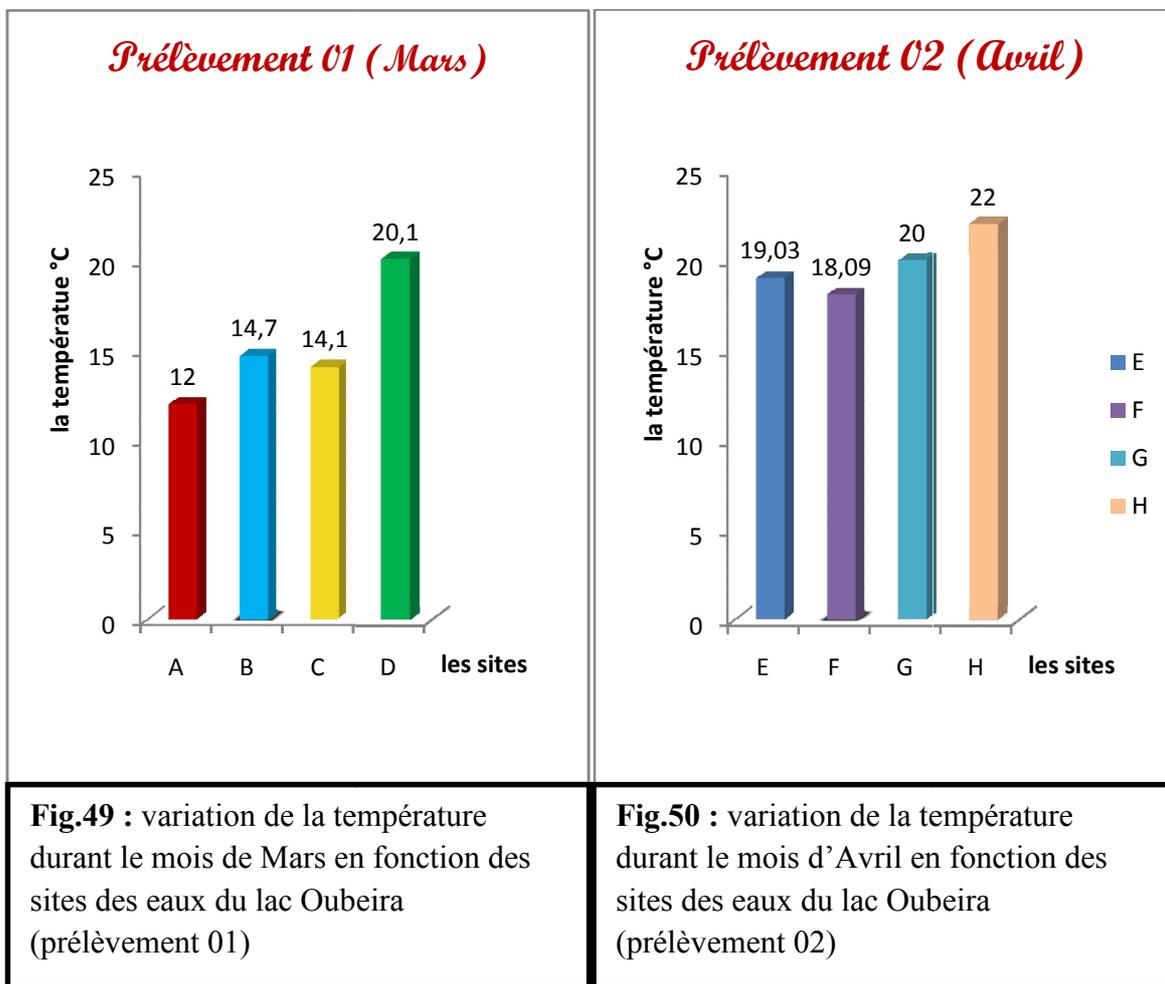
Notre travail a été réalisé au niveau de la station d'épuration de Guelma durant deux mois (Avril et Mai) pour déterminer les paramètres physicochimiques mentionnés dans le tableau.

**Tableau 14** : les différents donnés des paramètres physico-chimiques des prélèvements des sites du lac Oubeira.

	Prélèvement 01				Prélèvement 02			
	Site A	Site B	Site C	Site D	Site E	Site F	Site G	Site H
<b>Température</b>	12	14.7	14.1	20.1	19.03	18.9	20	22
<b>Conductivité <math>\mu\text{s}/\text{cm}</math></b>	668	355	358	350	375	435	377	365
<b>Turbidité</b>	333	312	322	345	298	355	318	328
<b>Matières en suspensions (MES) (mg/l)</b>	52	100	44	64	572	1160	24	60
<b>Potentiel hydrogène (pH)</b>	11.33	12	9.61	7.11	13	6.51	10.24	9.12
<b>Oxygène dissous (mg/l)</b>	0.20	0.22	0.17	0.10	0.18	0.13	0.23	0.11
<b>Matières organiques (MO) (mg/l)</b>	6.5	7	6.8	7.3	6.7	7.5	7.1	7.7
<b>Calcium (mg/l)</b>	28.50	30.01	31.88	28.13	27.62	29.89	25.25	30.96
<b>Magnésium (mg/l)</b>	7.91	9.08	8.71	7.22	7.03	8.60	7.41	8.15
<b>Chlorure (mg/l)</b>	45.8	50.7	48.9	41.2	55.3	43.6	46.1	57.5
<b>Demande chimique en oxygène (DCO) (mg/l)</b>	18.4	55.2	46	55.2	312.8	662.4	46	36.8

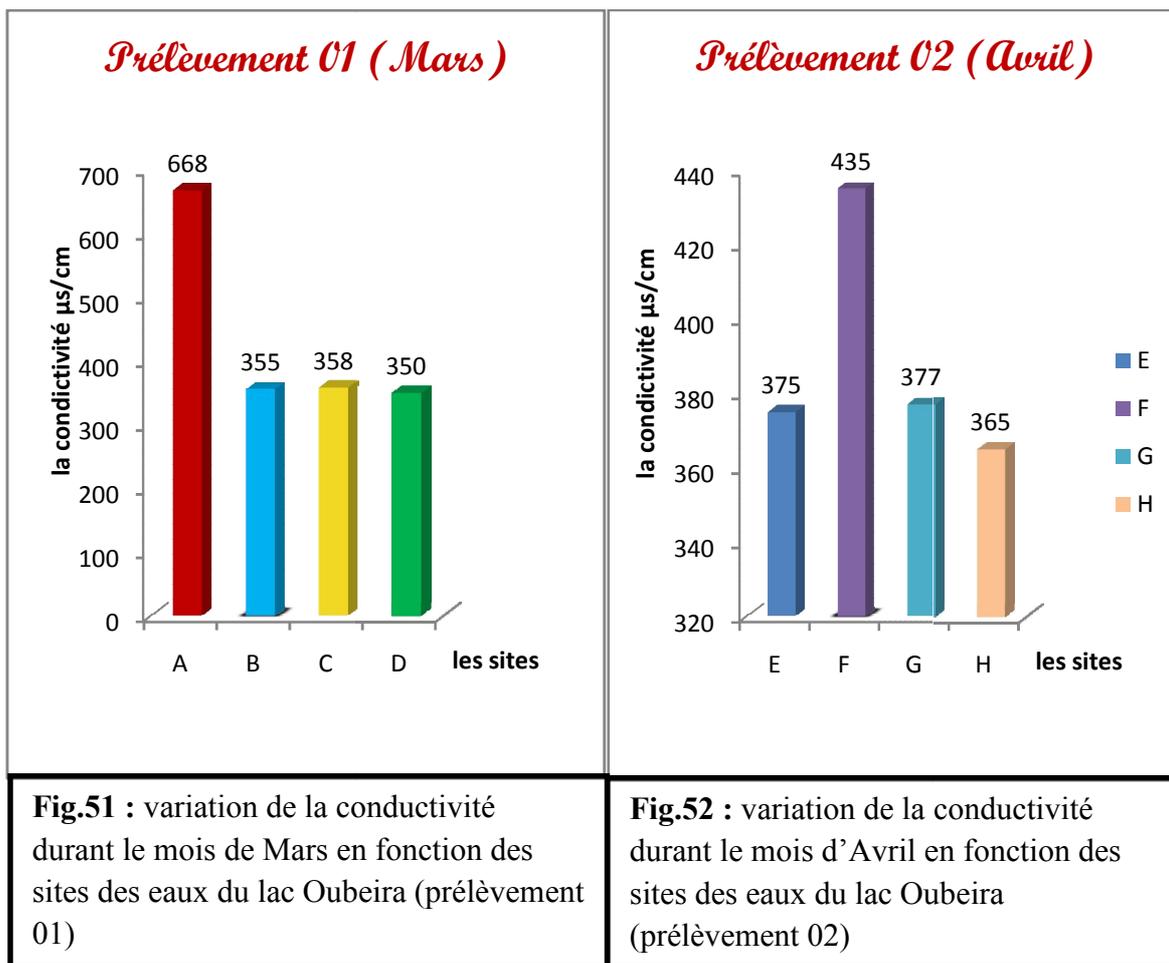
V.3.1 Paramètres physiques

➤ Température



Les valeurs de la température variée d’un site à l’autre ; ou la plus élevée a été enregistré au niveau du site D(20.1°C) et la plus bas au niveau du site A (12°C) pour le premier prélèvement, par contre pour le prélèvement 02 la plus élevée au niveau du site H (22°C) et la plus bas a été enregistré au niveau du site F (18.09°C), ou la moyenne entre les sites est 17.50°C ; d’après l’organisation mondiale de la santé (OMS) on remarque que la température est normale dans les deux prélèvements.

➤ La Conductivité

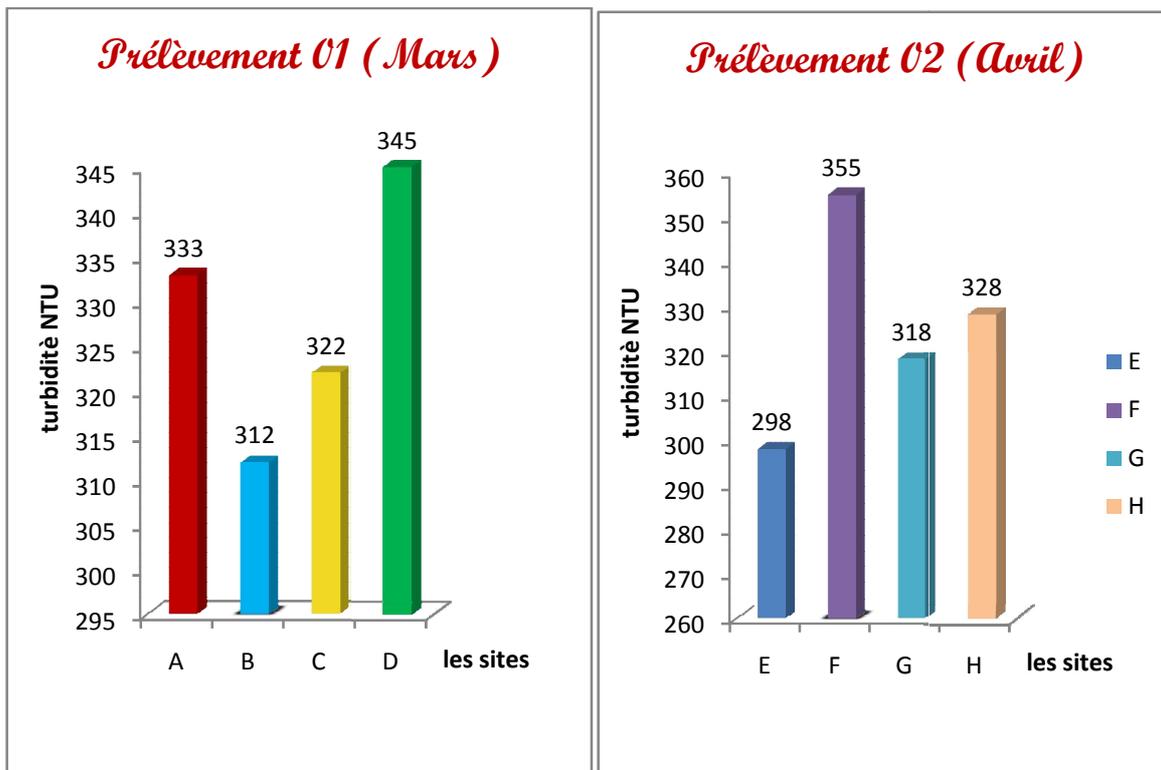


**Fig.51** : variation de la conductivité durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.52** : variation de la conductivité durant le mois d’Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

Les valeurs la conductivité variée d’un site à l’autre ; ou la plus élevée a été enregistré au niveau du site A (668µS/cm) et la plus bas au niveau du site A (350µS/cm) pour le premier prélèvement, par contre pour le prélèvement 02 la plus élevée au niveau du site F (435µS/cm) et la plus bas a été enregistré au niveau du site H (365µS/cm), avec une moyenne entre les sites est (668µS/cm) ; d’après l’organisation mondiale de la santé (OMS) on remarque que la concentration très forte car sont en contact avec des roches très solubles chargées en sels minéraux.[4]

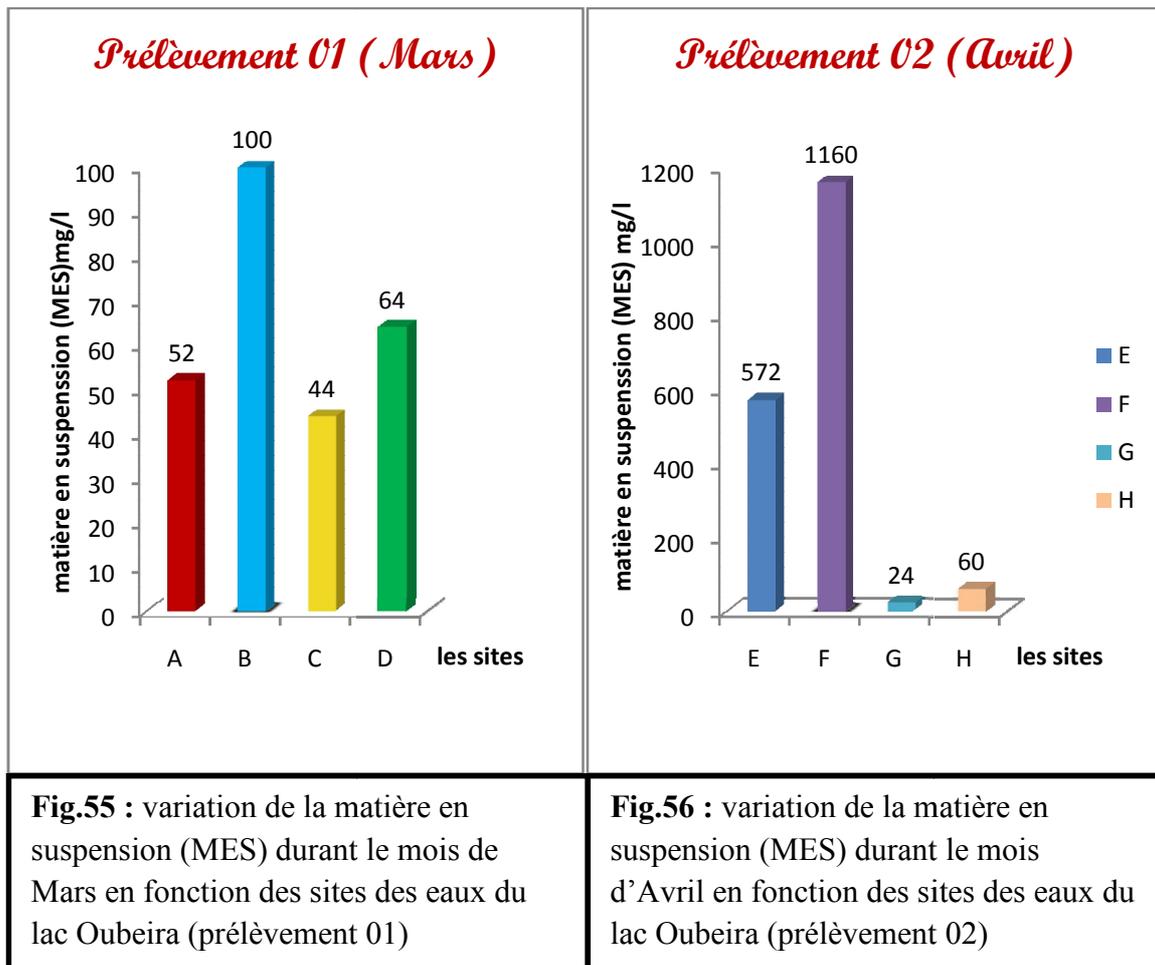
➤ Turbidité



**Fig.53 :** variation de la turbidité durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.54 :** variation de la turbidité durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

Les valeurs de la turbidité variée dans les huit sites avec une petite différence de 57mg/l entre le minimale et la maximale turbidité ; dont la plus élevée a été enregistré au niveau du site F(355NTU) et la plus bas au niveau du site E (298NTU) pour le prélèvement 02, et pour le prélèvement 01les valeurs sont très proches entre 312NTU du site B et 345NTU du site D. d'après 'organisation mondiale de la santé (OMS) ont constaté que les eaux du lac Oubeira sont polluées et trouble.[34].

➤ **Matières en suspensions (MES)**

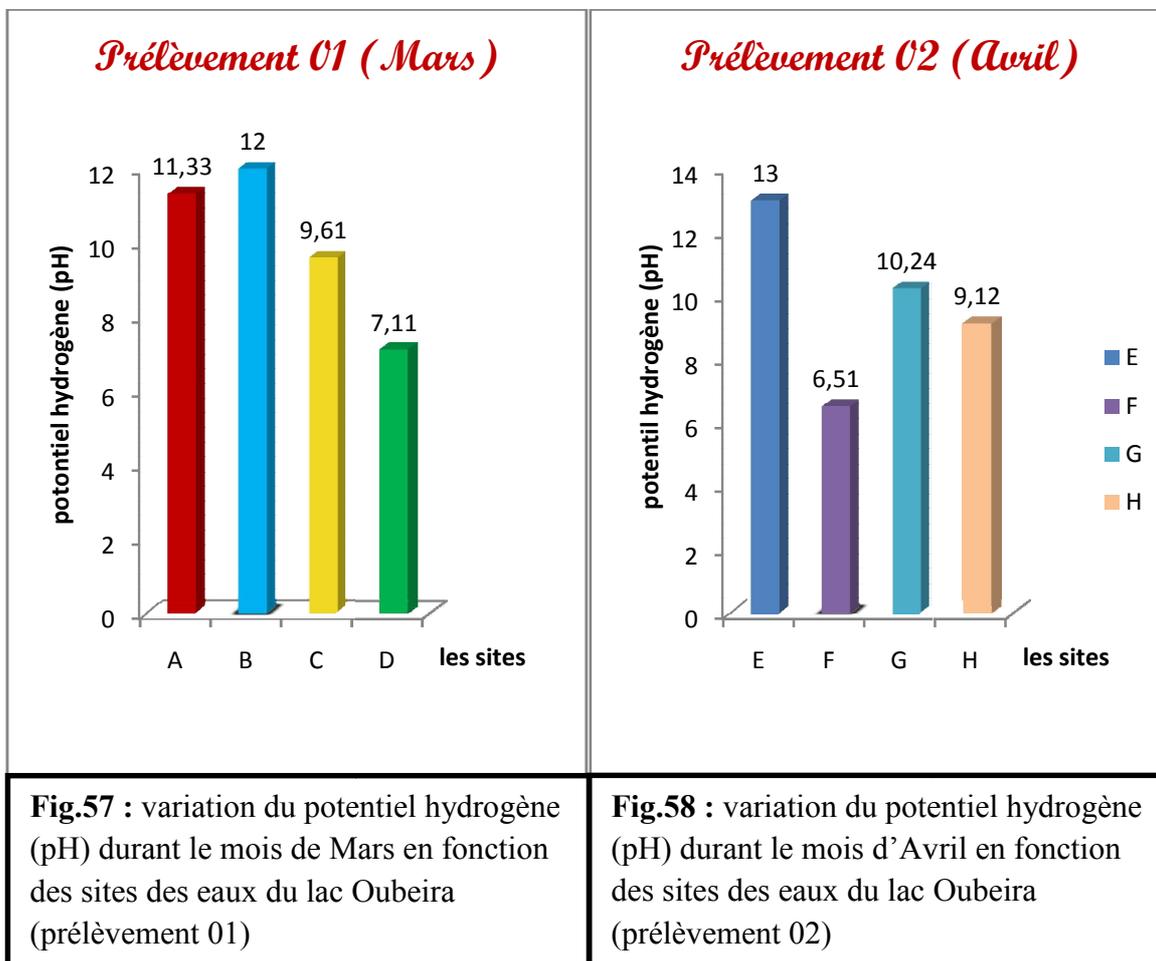
**Fig.55** : variation de la matière en suspension (MES) durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.56** : variation de la matière en suspension (MES) durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

La valeur maximale de la matière en suspension (MES) est enregistrée au niveau du site F (1160mg/l) c'est très élevée peut être causé par les pluies, et la plus faible au niveau du site G (24mg/l)d'après les résultats on remarque qu'il ya une variation dans les valeurs de la matière en suspensions avec une moyenne de (260mg/l)qui dépasse les normes de l'organisation mondiale de la santé (OMS).[34].

V.3.2 Les paramètres chimiques

➤ Potentiel hydrogène (pH)

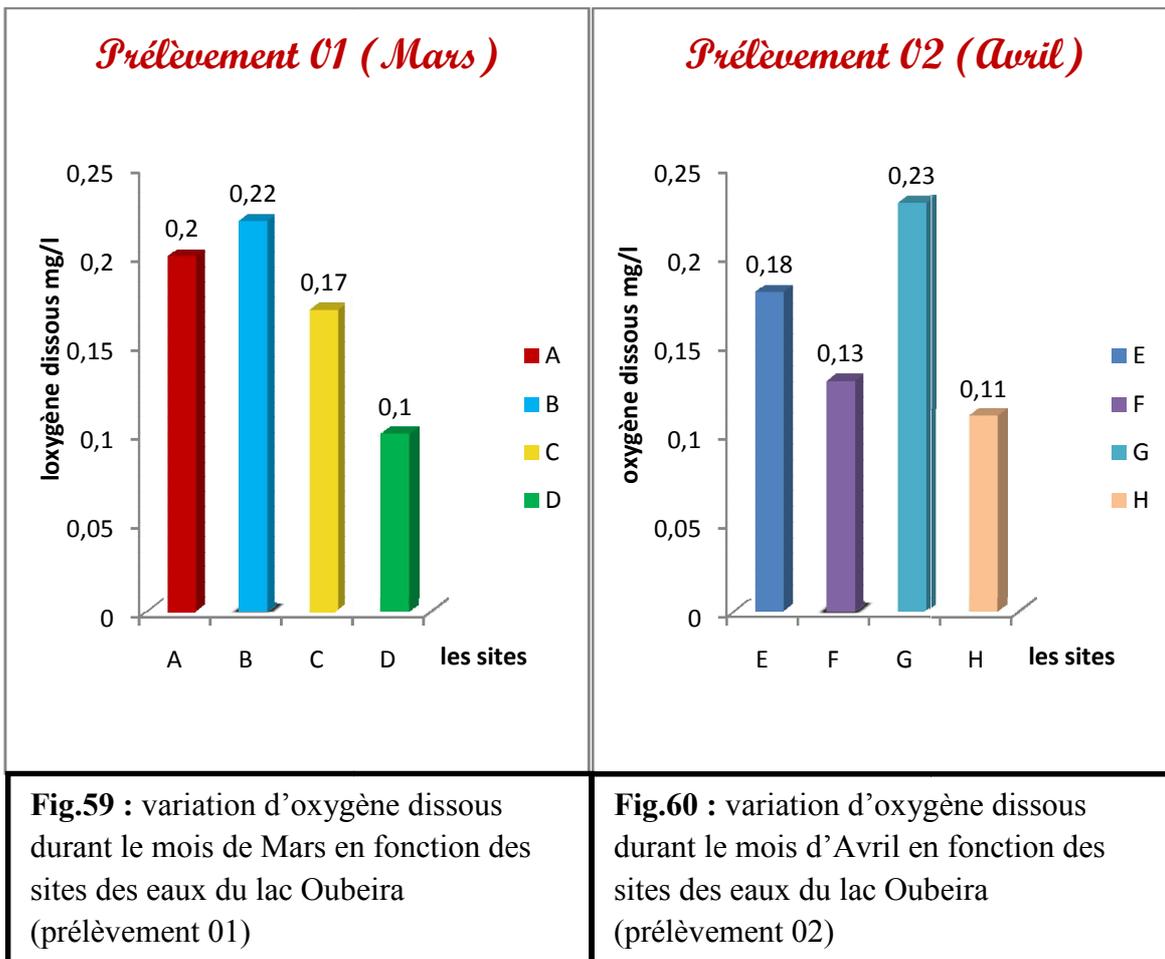


**Fig.57** : variation du potentiel hydrogène (pH) durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.58** : variation du potentiel hydrogène (pH) durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

On remarque qu'il ya une augmentation dans les valeurs du pH durant le mois de Mars par contre il ya une dans les valeurs durant le mois d'Avril qui explique leur influence sur la photosynthèse. [33].

➤ Oxygène dissous

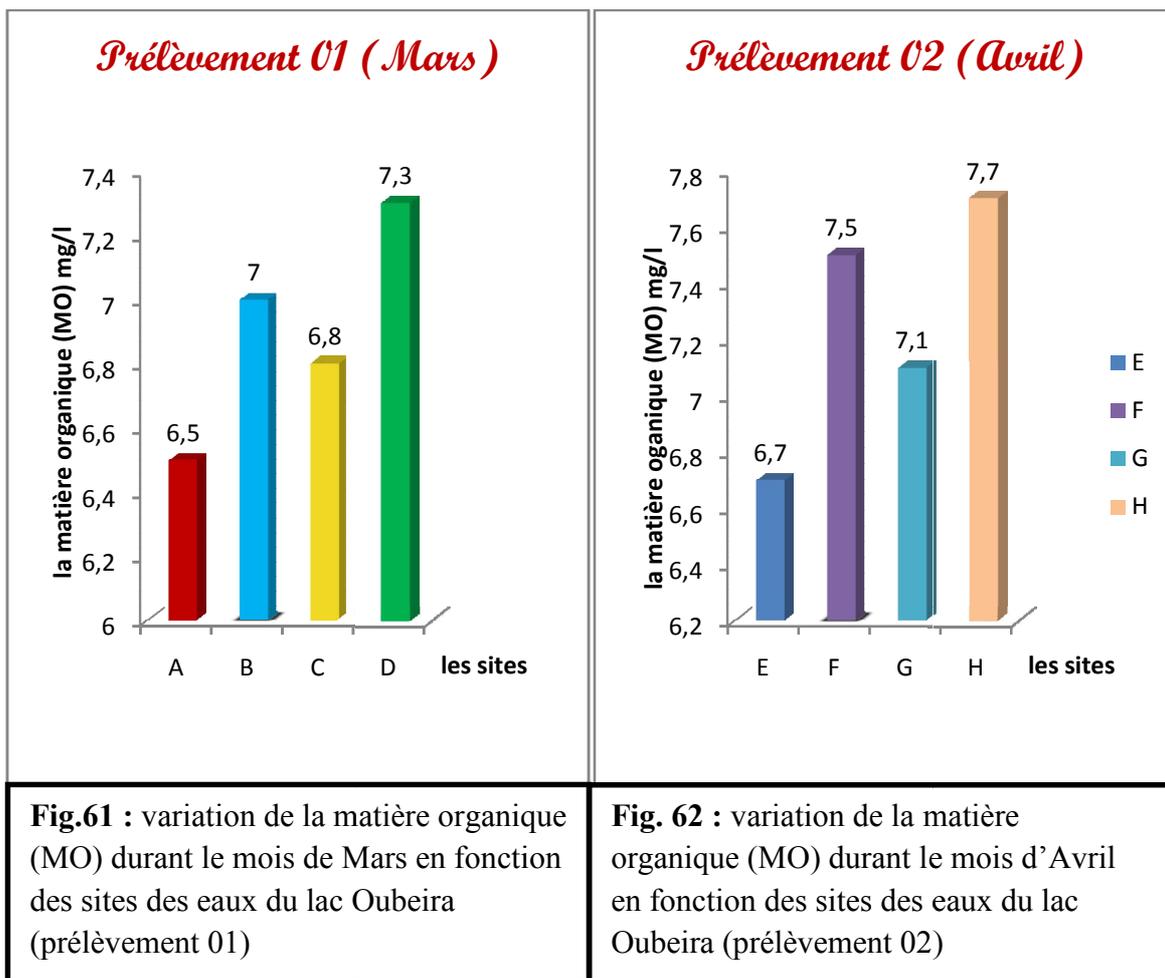


**Fig.59** : variation d’oxygène dissous durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.60** : variation d’oxygène dissous durant le mois d’Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

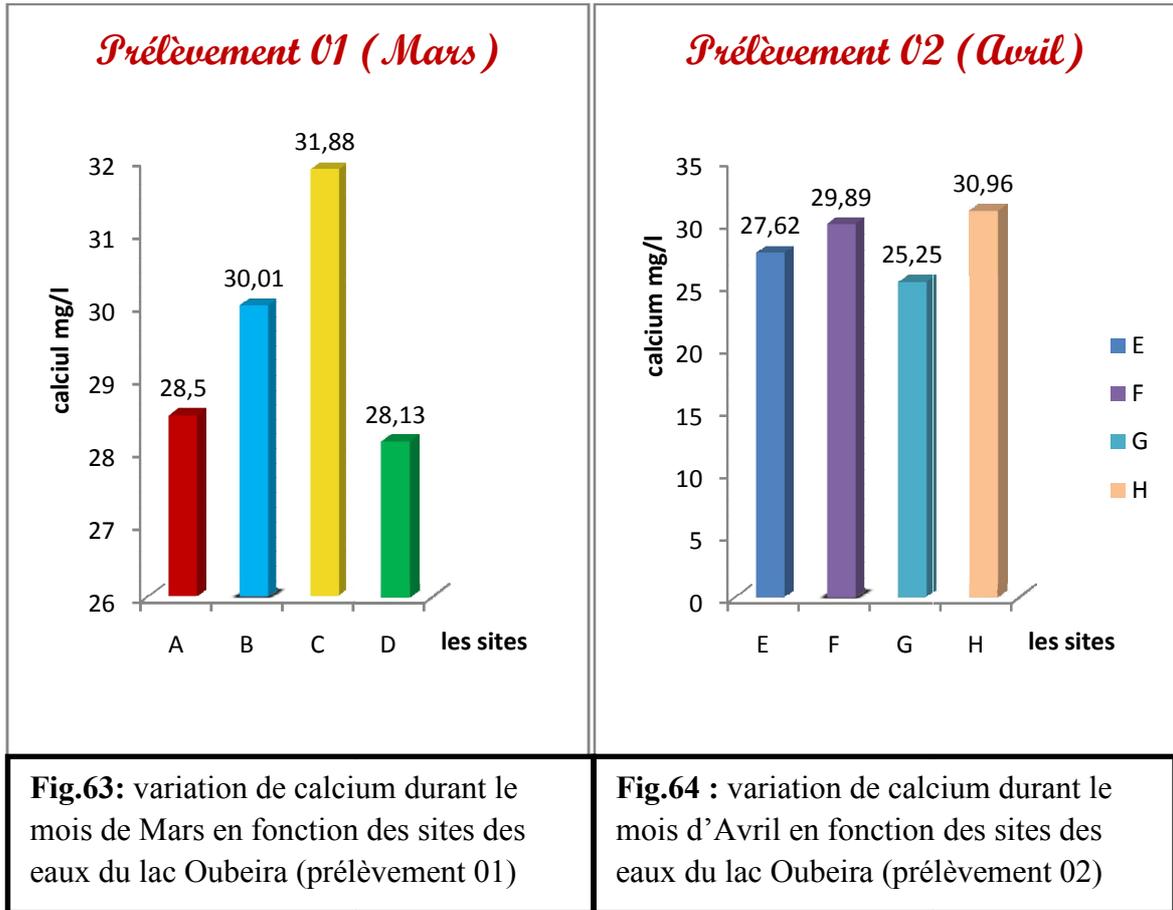
Le taux d’oxygène le plus élevé a été enregistré au niveau du site G (0.23mg/l) et le plus bas au niveau du site D (0.1mg/l), avec une moyenne de 0.17 mg/l qui traduit la présence de la matière organique qui permet le développement des plantes aquatiques et les algues dans les eaux du lac Oubeira. [35]

➤ **Matières organiques (MO)**



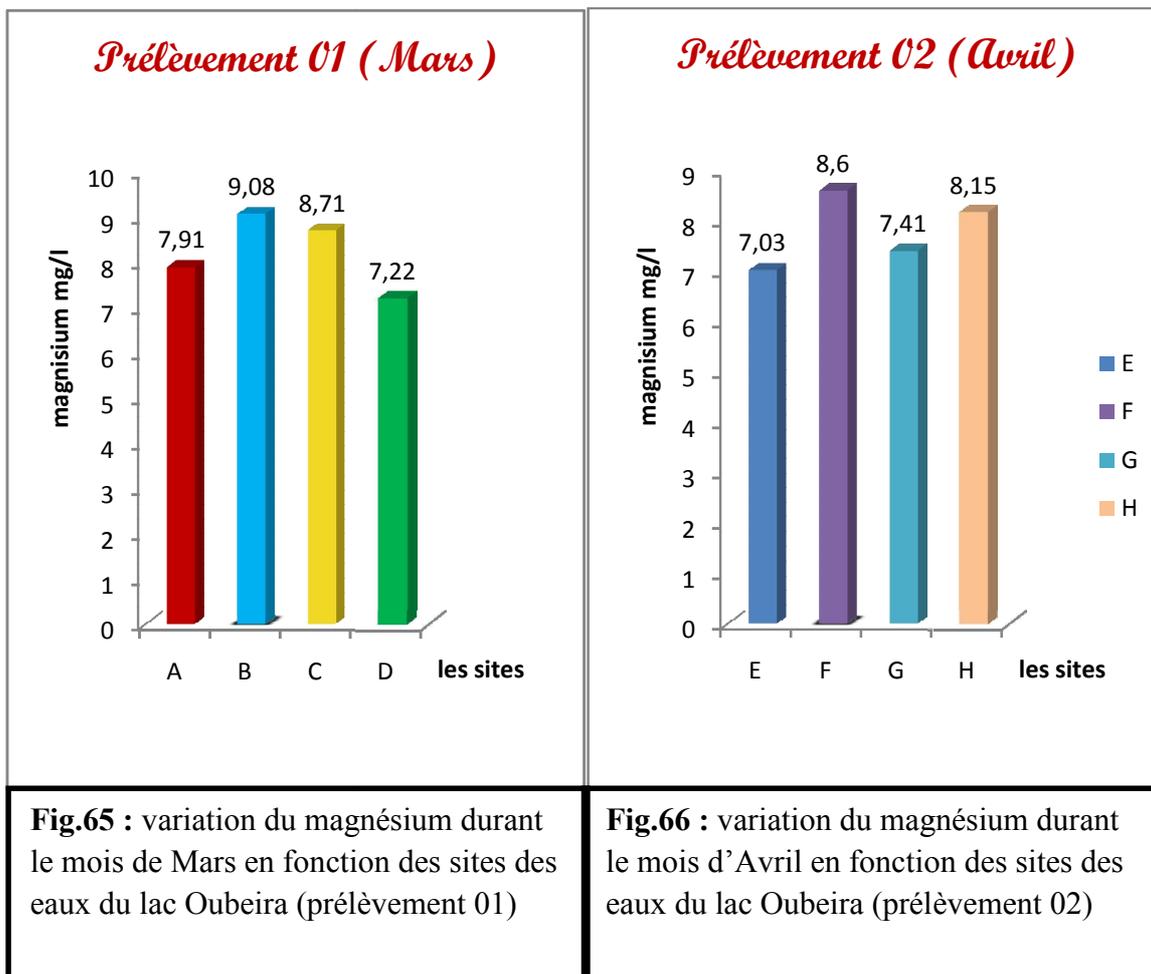
La matière organique variée d’un site à autre ; la quantité la plus élevée a été enregistré au niveau du site D(7.3mg/l) et la plus bas au niveau du site A (6.5) pour le prélèvement 01, et pour le prélèvement 02 la plus élevée au niveau du site H (7.7) et la plus bas a été enregistré au niveau du site E(6.7), ce qui explique les activités humaines et les matières susceptible d’être rencontrées dans les eaux qui sont dues à la décomposition d’origine animale ou végétale, élaborés sous l’influence des microorganismes. [34]

## ➤ Calcium



Les valeurs de calcium variée dans les huit sites des deux prélèvements; dont la plus élevé a été enregistré au niveau du site C(31.88mg/l)durant le mois de Mars et la plus bas au niveau du site G (25.25mg/l)durant le mois d'Avril , avec une moyenne de (29.03mg/l) ; ce qui explique leur influence sur la dureté de l'eau. [34]

➤ Magnésium

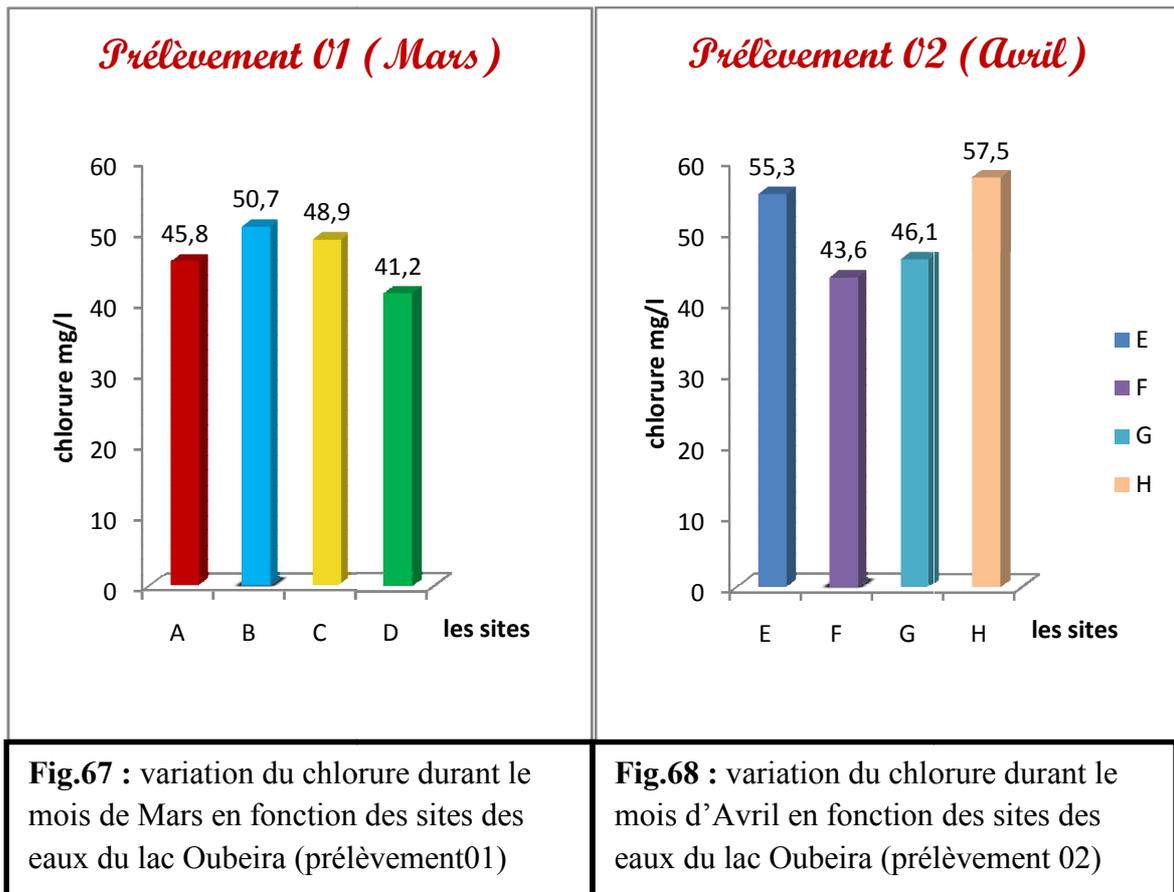


**Fig.65** : variation du magnésium durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.66** : variation du magnésium durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

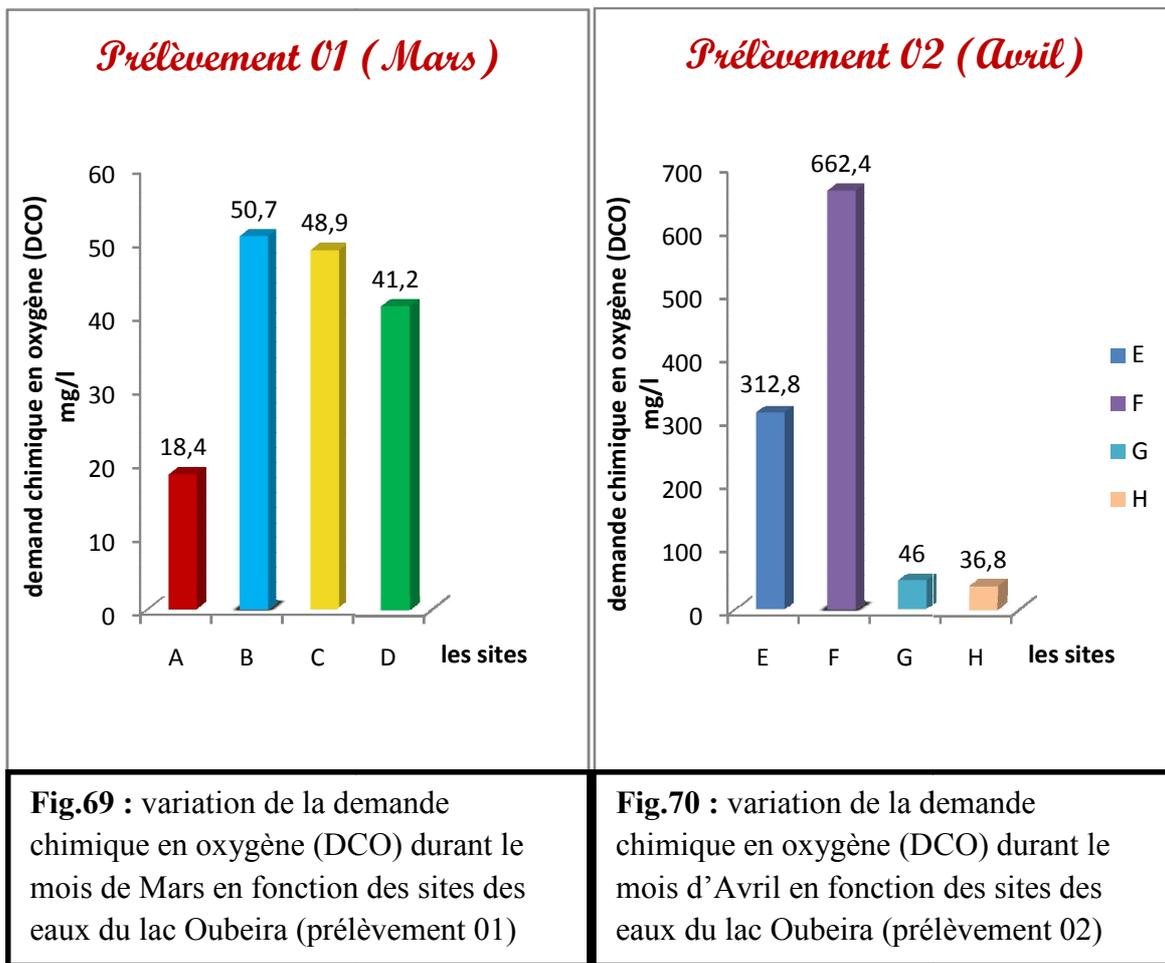
Les valeurs de magnésium variée dans les huit sites des deux prélèvements; dont la plus élevée a été enregistré au niveau du site 02 (9.08mg/l) et la plus bas au niveau du site 05 (7.03mg/l) avec une moyenne de (8.23mg/l),cette variation explique l'existence des roches sédimentaires rencontrées par les eaux lors de l'écoulement du Lac Oubeira. [34]

➤ Chlorure



Les valeurs de chlorure variée dans les huit sites des deux prélèvements; dont la plus élevée a été enregistrée au niveau du site H(57.5mg/l) et la plus basse au niveau du site D (41.2mg/l) avec une moyenne de (48.13mg/l). D'après l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) on remarque que ces valeurs sont élevées et dépassent les normes normales des eaux. [34]

➤ Demande chimique en oxygène (DCO)



**Fig.69** : variation de la demande chimique en oxygène (DCO) durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.70** : variation de la demande chimique en oxygène (DCO) durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

Les sites présentent des valeurs variantes entre 18.4mg/l - 57.5mg/l avec une moyenne de 45.21mg/l ce qui explique la présence des composés azotés provenant des rejets industriels, leur décomposition par des bactéries nitrifiants. [35]

### Discussion générale

Lac Oubeira fait partie du complexe d'El Kala sont des zones humides se caractérisent par sa faune et flore diversifiées malheureusement sont touchés par une double pollution chimique par la présence de plusieurs types d'éléments toxiques leur origine les déchets industriels tel que la matière en suspension, et autre bactériologique par l'existence de plusieurs genres pathogènes responsables des maladies transmissibles graves.

D'après notre étude le lac Oubeira est subdivisé en 4 sites selon la situation géographique ou on remarque les points communs dans la forte concentration des sites :

**Site 1 :** présente une forte concentration de deux éléments conductivité et la turbidité ce qui explique la dégradation énorme de la matière organique qui influence directement sur la minéralisation.

**Site 2, 5 et 6 :** la concentration de la demande biochimique en oxygène est élevée ce qui traduit l'existence de plusieurs types de bactéries qui sont aérobies on leur type respiratoire nécessite la présence d'oxygène tel que *E. coli* responsable de l'intoxication alimentaire et *Salmonella paratyphia* la fièvre paratyphoïde.

**Site 3, 4 et 8 :** une forte concentration de la matière organique traduit l'existence de plusieurs espèces fongiques telles que *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *penicillium notatum*, qui élaborent des enzymes de dégradation pour avoir leur développement.

Le lac Oubeira est une zone humide très importante en Algérie présente, avec l'ensemble du complexe lacustre du parc national d'El-kala, des valeurs écologiques et des richesses naturelles considérables à l'échelle mondiale.

L'objectif principal de notre travail est d'évaluer le risque de contamination des eaux du lac Oubeira à partir des analyses bactériologiques et physico-chimiques.

Les résultats ont révélés la présence d'une forte concentration de deux éléments conductivité et turbidité au niveau du site 1, une concentration élevée du magnésium site 2 chlorure, calcium au niveau du site 8 exprime un milieu favorable pour le développement d'un taux important de bactéries pathogènes tel que (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*) d'autre d'origine fécale par la présence des *E.coli*, et d'autres fongiques qui peuvent être toxiques (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus glaucus*, *pinicilium notatum* ).

À la lumière des résultats obtenus, on peut distinguer que l'eau du lac Oubeira est polluée. Donc la consommation de ces eaux capable de provoquer des grands problèmes sanitaires.

Pour terminer notre travail on suggère d'autres perspectives tel que :

-Utilisation des stations d'épuration.

-sensibiliser les gens pour l'utilisation des eaux non contaminées pour l'irrigation.

## Annexes

### Annexe I : préparation des Milieux de culture et réactifs

#### 1 - Milieu de culture :

➤ **bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre (BCPL) :** il permet de rechercher et de dénombrer les coliformes, par la fermentation du lactose et la production de gaz.

• **Simple concentration :**

Peptone .....	5 g/l.
Extrait de viande .....	3 g/l.
Lactose .....	5 g/l.
Pourpre de bromocrésol.....	0.025 g/l.
Eau distillée.....	1000 g/l.

pH final = 6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

➤ **Czapeck Simple :**

NaoH3 .....	2g.
K2HPO4 .....	1g.
kCl .....	0.5g.
MgSO4, 7H2O .....	0.5g
FeSO4, 7H2O .....	0.01g
ZnSO4, 7H2O .....	0.005g
CuSO4, 7H2O .....	0.01g
Saccharose .....	30g
Agar .....	20g
Eau distillé .....	1000ml

➤ **Czapeck Concentré**

NaoH3 .....	30g
K2HPO4 .....	20g
kCl .....	10g.
MgSO4, 7H2O .....	10g.
FeSO4, 7H2O .....	0.2g.
Saccharose .....	30g.
Agar .....	20g.
Eaudistillé .....	1000ml

➤ **Bouillon nitrate réductase**

Infusion Cœur-cervelle.....	25.0g
Nitrate se sodium.....	10.0g
Eau distillée.....	1L

➤ **Milieu TSI**

Agar.....	12g
Extrait de boeuf.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	20g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
NaCl.....	5g
Glucose.....	1g
Citrate ferrique.....	3g
Thiosulfate de sodium.....	3g
Rouge de phénol.....	0.025g
Eau distillée.....	1000ml.

## Annexe II :

### ❖ Tableau de lecture de la galerie miniaturisée api 20E

			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA/Immédiat</b>	
IND	Tryptophane	Production d'indole	jaune	Marron foncé
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	<b>VP1 + VP2 / 10 mn</b>	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
NO <sub>3</sub> -NO <sub>2</sub>	Tube GLU	Production de NO <sub>2</sub> Réduction au stade N <sub>2</sub>	<b>NIT 1 +NIT 2 / 2-3 mn</b>	
			jaune	Rouge

❖ **Tableau de lecture de la galerie miniaturisée api staph**

<b>0</b>	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-
<b>GLU</b>	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune
<b>FRU</b>	D-fructose	Acidification à partir du carbohydate		
<b>MNE</b>	D-mannose			
<b>MAL</b>	Maltose			
<b>LAC</b>	Lactose			
<b>TRE</b>	D-tréhalose			
<b>MAN</b>	D-mannitol			
<b>XLT</b>	Xylitol			
<b>MEL</b>	D-melibiose			
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium			
			Incolore/ rose	Rouge
<b>PAL</b>	$\beta$ -naphtyl ac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A + ZYM B / 10 mn	
			Jaune	Violet
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl Méthyl-carbonyl	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			Incolore/rose	Violet / rose
<b>RAF</b>	Raffinose	Acidification à partir du carbohydate	Rouge	Jaune
<b>XYL</b>	Xylose			
<b>SAC</b>	Saccharose			
<b>MDG</b>	$\alpha$ -méthyl-D- glucosamine			
<b>NAG</b>	N-acétyl- glucosamine			
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rou ge
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/viol et

**Table de Mac Grady**

<b>2tubes par dilution</b>		<b>3tubes par dilution</b>					
Nombre caractéristiques	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

**5 tubes par dilution**

Nombre caractéristiques	Nombre de cellule	Nombre caractéristiques	Nombre de cellules	Nombre caractéristiques	Nombre de cellule	Nombre caractéristiques	Nombre de cellule
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0

120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

### Annexe III :

**Tableau : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.**

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

**Tableau : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique.**

Conductivité électrique (µs/cm)	Qualité des eaux	Classe
CE<400	Normale	1A
400<CE<750	Bonne	1B
750<CE<1500	Passable	2
1500<CE<3000	Médiocre	3

### I. Les appareils utilisés :

- Agitateur (ISO 9002).
- Balance analytique (BP 2215 SARORIUS).
- Bain marie (FALC M38545).
- Dissecteur (GL).

- Dispositif de filtration sous vide ou sous pression.
- Etuve (INCUCCELL).
- Multi paramètre.
- Microscope optique (MOTIC SFC-18).
- Oxymétrie (YSI550).
- pHmètre (HANNA 209).
- Turbidimètre (TN-100).
- Plaque chauffant (CERAN ISO 9000).
- Chronomètre numérique (NOVO).
- Autoclave (SANO clan K1-7-3).

## **II. Les matériels utilisés :**

- Anse de platine.
- Béchers.
- Boîte des pétris.
- Burettes.
- Capsule en porcelaine.
- Cuvette de verre incolore de 50 nm.
- Erlen-Meyer au col large
- Flacons en verre de 250 ml.
- Glacière.
- Lames et lamelles.
- Membrane de filtration.
- Papier hygiénique.
- Pipettes graduées (1 ml, 10 ml, 15 ml).
- Pipette pasteurs.

## **III. Matériels et réactifs des paramètres physicochimiques :**

### **I-1 Matériels**

- Dispositif de filtration (pompe à vide ou sous pression).
- Disques filtrants en fibre de verre (filtres de *Wattman*).
- Etuve réglable à 105-110°C et 175-185°C.
- Dessiccateur

- Flacons en verre à bouchon rodé de 150 ou 250 ml.
- Enceinte thermo statée (étuve) à 20°C, plus ou moins 1°C.
- Matériel nécessaire pour le dosage de l'oxygène (oxymétrie).
- Barboteur.
- Appareil à reflux composé d'un ballon à fond plat de 250 ml à col rodé et d'un réfrigérant adaptable réservé exclusivement à la détermination de le DCO.
- Spectrophotomètre.
- Béchers.
- Papier filtre.
- Pipetes gradées.
- Fiole jaugée 200ml.
- Appareil à distiller par entrainement de la vapeur.
- Verrerie.
- Autoclave.

## **I-2 Réactifs**

- Solution de chromate de potassium à 10%.
- Solution de nitrate d'argent N/10.
- Solution d'acide sulfurique à 50%.
- Solution de permanganate de potassium N/80 (1 ml de la solution N/80 correspond à 0,1g d'oxygène).
- Solution d'acide oxalique.
- e N/80 à partir d'une solution de N/10 récemment titrée.
- Solution d'EDTA N/50.
- Noir urochrome T.
- Indicateur coloré d'urochrome T.
- Solution tampon : Ammoniaque à 34%.
- Indicateur coloré d'hydroxyde de sodium à 2N.
- Solution de phénolphtaléine dans l'alcool à 0.5%.

-Eau permutée exempte d'anhydrique carbonique libre (par ébullition de 15 min).

-L'eau distillée.

-Eau de dilution.

-Eau d'ensemencement.

-Solution de sulfate d'argent  $\text{AgSO}_4$ .

-Solution de féronie.

➤ Solution de fer 0.7 g

➤ Eau permutée q.s. 100ml

➤ 1,10-phénanthroline 1.5g

-Sel de mohr (sulfate de fer et d'ammonium).

-Sulfate mercurique cristallisé

-Solution de salicylate de sodium.

- Solution tartrate.

-Solution Zambelli.

-Anti-mousse (silicone).

-Réactif Nasser.

-Acide ascorbique à 5%.

-Chlorure de potassium.

-Solution de molybdate d'ammonium.

-Réactif de phosphate.

-Solution de minéralisation.

-Persulfate de potassium 3g.

## Résumé

Le lac Oubeira présente, avec l'ensemble du complexe lacustre du parc national d'El kala, des valeurs écologiques caractérisé par la présence des plusieurs espèces rares, et des richesses naturelles considérables à l'échelle mondiale.

Notre étude a été basée sur deux types d'analyses physico-chimiques, et microbiologiques. Les résultats montrent la présence d'une forte concentration de deux éléments chimique conductivité et la turbidité au niveau de site 01, une concentration élevée de la demande biochimique en oxygène au niveau des sites 2 et 7. Se qui traduit l'existence de plusieurs types des bactéries pathogènes tel que *E. coli* et *Salmonella paratyphi*. Et autre espèces fongique responsable à des maladies respiratoire et cutanées (*Aspergillus niger penicillium notatum*).

**Mots clés :** Lac Oubeira, analyse microbiologique, analyse bactériologique. Les paramètres physico-chimiques

analyses physico-chimiques

## Abstract

The lake Oubeira with l'ensemble Lake Complex National Park d'El kala, ecological characterized by the presence of several rare species, and considerable natural resources World al échelle.

Our study was based on tow types of physico-chemical, and analysis, microbiological. The results show the presence of a high concentration of two chemical elements conductivity and turbidity in site 1, a high concentration of the biochemical oxygen demand in the site 2 and 7. This reflects the existence of several types of pathogenic bacteria like *E. coli* and *Salmonella paratyphi*. And other fungal species responsible for respiratory and skin diseases (*Aspergillus niger, penicillium notatum*).

**Keywords:** Lake Oubeira, analysis bacteriological, Analysis microbiological, analysis physico-chemical.

## المخلص

تعتبر بحيرة اوبيرة احدى بحيرات الحظيرة الوطنية للقالا تتميز بقيمة بيئية و ثروة طبيعية و ذلك لوجود العديد من الانواع النادرة.

واستنادا على التحاليل الفيزيوكيميائية، البكتيريولوجية و الميكروبيولوجية أظهرت النتائج وجود نسبة عالية من العنصرين الكيمايين الموصلية والعكارة على مستوى الموقع 1 ، تركيز عالي من الأوكسجين الحيوي الممتص في الموقع 2 و 7. الذي يعكس وجود عدة أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض مثل *E. coli* . *Salmonella paratyphi* والأنواع الفطرية الأخرى المسؤولة عن أمراض الجهاز التنفسي والجلد (*Aspergillus niger , penicillium notatum*).

**الكلمات المفتاحية:** بحيرة اوبيرة ، التحاليل البكتيريولوجية، التحاليل الميكروبيولوجية، التحاليل الفيزيو كيميائية.

## **Remerciements**

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements envers toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de ce projet de fin d'études.

Nous adressons notre sincère remerciement à **Mme. Hamdikene Malika** qui a bien voulu présider le jury de ce mémoire.

Notre gratitude va également à **Melle. Amri Sandra** qui nous honore par sa participation à notre jury d'examinations.

Nous adressons nos sincères remerciements et nos expressions les plus respectueuses à **Mme. Bidioui Soraya** qui a proposé et discuté notre sujet.

Elle nous a beaucoup aidées par ses conseils, son soutien et surtout sa patience.

On remercie également tout personnel de l'aide, surtout les responsables de laboratoire du département et la technicienne de laboratoire **Mme. wafa.**

Tous les enseignants et les enseignantes du département de biologie qui ont contribué à notre formation durant les Cinq années.

Enfin, à tous mes collègues de 2<sup>ème</sup> année master.

Nous dédions ce travail à Louai Dai-Eddine, petit fils de notre encadreuse  
Mme. Bidioui Soraya

# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des schémas

Les abréviations

**Partie I:** Etude bibliographique

**Introduction**

**Chapitre I :** Généralités sur lac Oubeira

I.1. Les Zones humides.....04

I.1.1. Définition de zone humide.....04

I.1.2. Les zones humides en Algérie.....04

I.1.3. Les différentes fonctions des zones humides.....05

I.2. Lac Oubeira.....05

I.2.1. Description du site d'étude : Lac Oubeira.....05

I.2.2 Les caractéristiques du Lac Oubeira.....06

I.2.3 Diversités biologiques du lac Oubeira.....07

**Chapitre II :** Paramètre physicochimique

II.1. Les paramètres physiques.....09

II.2. Les paramètres chimiques.....10

**Chapitre III :** Contamination des eaux

III.1. La contamination de l'eau.....14

III.2. Les grandes catégories des polluants de l'eau.....14

III.2.1 Les polluants biologiques.....14

III.2.2. Les polluants chimiques.....17

III.2.3. Les polluants physiques.....17

III.3. Les différentes pollutions de l'eau.....18

III.3.1. Pollution physique.....8

III.3.2. Pollution chimique.....	18
III.4. Impact sur l'environnement.....	19
III.4.1. Matières en suspension.....	19
III.4.2. Pollution organique.....	19
III.4.3. Azote/ Phosphore.....	19
III.4.4. Métaux.....	19
III.4.5. Substances pour les milieux aquatiques.....	19

## **Partie II : Partie expérimentale**

### **Chapitre IV : Matériel et Méthodes**

IV.1. Les prélèvements.....	22
IV.1.1. Matériel du prélèvement.....	22
IV.1.2. Echantillonnage .....	22
IV.1.3. Mesure in situ.....	23
IV.1.4. Transport des échantillons.....	23
IV.1.5 Méthode d'analyse.....	23
IV.2. L'identification fongique.....	23
IV.2.1 Les milieux et coulage des boîtes.....	23
IV.2.2. Stérilisation des milieux.....	23
IV.2.3.Préparation des dilutions.....	23
IV.2.4. L'ensemencement et l'incubation.....	24
IV.2.5. Lecture.....	26
IV.3. Examen microscopique des souches.....	26
IV.3.1. Examen à l'état frais.....	26
IV.3.2. Examen après coloration .....	26
IV.4. Analyse bactériologique.....	27
IV.4.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants.....	27

IV.4.2. Examen microscopique.....	30
IV.5. Recherche et dénombrement des entérobactéries.....	30
IV.5.1. Détermination des caractères biochimique des entérobactéries.....	30
IV.6. Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR).....	34
IV.7. La recherche et d'indentification des staphylocoques.....	36
IV.7.1. L'observation macroscopique.....	36
IV.7.2. L'observation microscopique.....	36
IV.7.3. L'indentification biochimique des <i>staphylocoques</i> .....	36
IV.8. Analyse physico-chimique.....	36
IV.8.1. Les mesures in situ.....	36
IV.8.2. La turbidité.....	37
IV.8.3. Les matières en suspension (MES).....	37
IV.5.4. Le Magnésium.....	38
IV.8.5 Les chlorure.....	38
IV.8.6. Le calcium.....	39
<b>Chapitre V : Résultats et Discussion</b>	
V.1. Analyse bactériologique.....	41
V.1.1.Résultats de la recherche des entérobactéries.....	41
V.1.2. Résultats de la recherche des staphylocoques.....	45
V.1.3.Résultats de la recherche des coliformes totaux.....	47
V.1.4. la recherche des coliformes fécaux ( <i>Escherichia coli</i> ).....	47
V.1.5.La recherche des spores de clostridium sulfite-réducteurs.....	48
V.2.Identification fongique.....	50
V.3.Paramètres physico-chimiques.....	53
V.3.1.Paramètres physiques.....	54
V.3.2. Les paramètres chimiques.....	58

Discussion générale.....65

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Page
<b>Tableau 01</b>	les parties des zones humides en Algérie	04
<b>Tableau 02</b>	Les fonctions principales des zones humides.	05
<b>Tableau 03</b>	Les caractéristiques physiques du Lac Oubeira	06
<b>Tableau 04</b>	Variation du pH	10
<b>Tableau 05</b>	Description de quelques espèces responsables à la contamination bactérienne.	15
<b>Tableau 06</b>	Identification d' <i>Aspergillus et Penicillium</i>	16
<b>Tableau 07</b>	Présentation des points du prélèvement.	21
<b>Tableau 08</b>	Détermination des étapes d'une galerie classique.	30
<b>Tableau 09</b>	Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02 des entérobactéries	41
<b>Tableau 10</b>	Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02 de entérobactéries	43
<b>Tableau 11</b>	Résultats d'identification de la souche de staphylocoque isolée des prélèvements 01 et 02.	45
<b>Tableau 12</b>	Aspect macroscopique des filaments fongiques à partir de plusieurs milieux.	50
<b>Tableau 13</b>	Aspects macroscopiques et microscopiques des espèces fongiques.	51
<b>Tableau 14</b>	les différents donnés des paramètres physico-chimiques des prélèvements des sites du lac Oubeira.	53

## Liste des figures

Numéro	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Situation géographique du lac Oubeira dans le parc national d'El-Kala.	06
<b>Figure 02</b>	Les déférents polluants chimiques.	17
<b>Figure 03</b>	Les sites de prélèvement du lac Oubeira.	22
<b>Figure 04</b>	Multi-paramètre.	36
<b>Figure 05</b>	Colonies blanchâtres sur le milieu GN	41
<b>Figure 06</b>	Colonies blanchâtres sur milieu GN	41
<b>Figure 07</b>	Colonies marron sur milieu GN	41
<b>Figure 08</b>	Bacille à Gram négatif	41
<b>Figure 09</b>	Bacille à Gram négatif	41
<b>Figure 10</b>	Bacille à Gram négatif	41
<b>Figure 11</b>	Résultat de galerie classique <i>E. coli</i>	41
<b>Figure 12</b>	Résultat de galerie classique <i>Salmonella paratyphi</i>	41
<b>Figure 13</b>	Résultat de galerie classique <i>Enterobacter aerogenes</i>	41
<b>Figure 14</b>	Résultat du test complémentaire <i>E. coli</i>	42
<b>Figure 15</b>	Résultat du test complémentaire <i>Salmonella paratyphi</i>	42
<b>Figure 16</b>	Résultat du test complémentaire <i>Enterobacter aerogenes</i>	42
<b>Figure 17</b>	colonies jaunâtres sur le milieu GN	43
<b>Figure 18</b>	colonies jaunâtres sur le milieu GN	43
<b>Figure 19</b>	Bacille à Gram négatif	43
<b>Figure 20</b>	Bacille à Gram négatif	43
<b>Figure 21</b>	Résultat de galerie api 20E <i>Octobacter faemeri</i>	44
<b>Figure 22</b>	Résultat de galerie api 20E <i>Klebsyella oxytoca</i>	44
<b>Figure 23</b>	Colonies jaunâtres sur le milieu chapman	45
<b>Figure 24</b>	Colonies jaunâtres sur le milieu chapman	45
<b>Figure 25</b>	Colonies jaunâtres sur le milieu chapman	45
<b>Figure 26</b>	Cocci à Gram+ en amas	45
<b>Figure 27</b>	Cocci à Gram+ en amas	45
<b>Figure 28</b>	Cocci à Gram+ en amas	45
<b>Figure 29</b>	Résultat du profil biochimique <i>Staphylococcus lentus</i>	45

<b>Figure 30</b>	Résultat de galerie classique <i>Staphylococcus auerus</i>	45
<b>Figure 31</b>	Résultat du profil biochimique <i>Staphylococcus xylocus</i> .	45
<b>Figure 32</b>	Résultat du test complémentaire <i>Staphylococcus auerus</i>	46
<b>Figure 33</b>	variation de la présence des coliformes totaux durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	47
<b>Figure 34</b>	variation de la présence des coliformes totaux durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	47
<b>Figure 35</b>	variation de la présence des coliformes fécaux durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	48
<b>Figure 36</b>	variation de la présence des coliformes fécaux durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	48
<b>Figure 37</b>	variation de la présence des bactéries anaérobie sulfito-réductrices durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	49
<b>Figure 38</b>	variation de la présence des bactéries anaérobie sulfito-réductrices durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	49
<b>Figure 39</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus glaucus</i> sur le milieu czapek simple	51
<b>Figure 40</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus glaucus</i>	51
<b>Figure 41</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus flavus</i> sur le milieu czapek concentré.	51
<b>Figure 42</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	51
<b>Figure 43</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus fumigatus</i> sur le milieu sabouraud	51
<b>Figure 44</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus fumigatus</i>	51
<b>Figure 45</b>	Aspect macroscopique de <i>Penicillium notatum</i> sur le milieu sabouraud	52
<b>Figure 46</b>	Aspect microscopique de <i>Penicillium notatum</i>	52
<b>Figure 47</b>	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus niger</i> sur le milieu TGEA	52
<b>Figure 48</b>	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	52
<b>Figure 49</b>	Variation de la température durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	54
<b>Figure 50</b>	Variation de la température durant le mois d'avril en fonction des sites	54

	des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	
<b>Figure 51</b>	Variation de la conductivité durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	55
<b>Figure 52</b>	Variation de la conductivité durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	55
<b>Figure 53</b>	Variation de la turbidité durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	56
<b>Figure 54</b>	Variation de la turbidité durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	56
<b>Figure 55</b>	Variation de la matière en suspension (MES) durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	57
<b>Figure 56</b>	Variation de la matière en suspension (MES) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	57
<b>Figure 57</b>	Variation du potentiel hydrogène (pH) durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	58
<b>Figure 58</b>	Variation du potentiel hydrogène (pH) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	58
<b>Figure 59</b>	Variation d'oxygène dissous durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	59
<b>Figure 60</b>	Variation d'oxygène dissous durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	59
<b>Figure 61</b>	Variation de la matière organique (MO) durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	60
<b>Figure 62</b>	Variation de la matière organique (MO) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	60
<b>Figure 63</b>	Variation de calcium durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	61
<b>Figure 64</b>	Variation de calcium durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	61
<b>Figure 65</b>	Variation du magnésium durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	62
<b>Figure 66</b>	Variation du magnésium durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	62
<b>Figure 67</b>	Variation du chlorure durant le mois de mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	63

<b>Figure 68</b>	Variation du chlorure durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	63
<b>Figure 69</b>	Variation de la demande chimique en oxygène (DCO) durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)	64
<b>Figure 70</b>	Variation de la demande chimique en oxygène (DCO) durant le mois d'avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)	64

## Liste des Schémas

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Schéma 01</b>	Méthode de dilution	24
<b>Schéma 02</b>	Méthode d'ensemencement et incubation	25
<b>Schéma 03</b>	Recherche et le dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants.	28
<b>Schéma 04</b>	Test confirmatif pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.	29
<b>Schéma 05</b>	Recherche et dénombrement des spores des Bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR).	35

## Les abréviations

**ADH** : Arginine des hydrolases

**ASR** : Anaérobie Sulfite Réducteur

**BCPL** : Bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre

**Cit** : Citrate

**DBO** : Demande biochimique en oxygène

**DCO** : Demande chimique en oxygène

**E.coli** : Escherichia coli

**Fig**: Figure

**GN**: Gélose nutritive

**H**: Heure

**H<sub>2</sub>S**: Production d'H<sub>2</sub>S

**IND**: Indole

**INO**: Insitol

**LDC** : Lysine Dècarboxylase

**M** : Mètre

**MAN** : Manitol

**MES** : Matière en suspension

**Min** : Minute

**MI** : Millilitre

**MO** : Matière organique

**Nb** : Nombre

**NIT** : Nitrate

**NPP** : Nombre Plus Probable

**NTU** : Unité de Turbidité Nuphélométrique

**ODC** : Onithine dècarboxylase

**OMS** : Organisation Mondiale de La Santé

**ONPG**: Ortho-Nitrophényle-B-D Galactosidase

**pH** : Potentiel Hydrogène

**PNEK** : Park Nationale d'El Kala

**RHA** : Rhamnose

**RM** : Rouge de Méthyle

**SAC** : Saccharose

**SF** : Streptocoque Fécaux

**SOR** : Sorbitol

**TDA** : Tryptophane Décarboxylase

**TGEA** : Gèlose Typtone Glucose à l'Extrait de Levure

**TSI** : Triple Suger Iron

**URE** : Uréase

**µs /cm** : Micro Siemens par centimètre

**VF** : Viande foie

**VP** : Vouge Proskawer

**Zn** : zinc

L'eau est l'élément le plus demandé et le plus essentiel dans la vie. Sans eau, il n'y aurait pas de vie sur terre. L'eau est très irrégulièrement répartie à la surface de la planète : 97 % du volume total s'accumule dans les océans, 2 % sur les continents, 0,6 % en phase solide dans les inlandsis polaires et les glaciers, enfin une part très modeste en phase gazeuse dans l'atmosphère [24].

Elle est utilisée par l'homme depuis le début de leur existence pour différents usages et en ont ainsi modifié la qualité. Aujourd'hui la nature n'est plus en mesure de dépolluer les milieux naturels, les habitudes que nous avons prises de considérer les cours d'eau, les lacs, les rivières, les fleuves comme des décharges susceptibles d'accueillir l'ensemble de nos déchets ont engendré des pollutions irrémédiables. Les déchets créés par l'homme sont trop nombreux et plus polluants qu'autrefois, particulièrement à cause de l'urbanisation et aux pratiques agricoles.

Le lac Oubeira est une eau douce qui contient plusieurs espèces rares tels que la châtaigne d'eau *Trapa natans*. Etant par nature, la cuve d'eaux de pluie qui Lessivent leur Bassin versant, est utilisé par les riverains de cette zone humide soit pour l'irrigation des terres agricoles avoisinantes, soit par son utilisation pour le pâturage de leurs bétails [1].

L'objectif de notre travail est déterminer la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux du lac Oubeira qui consiste à identifier tout les éléments toxique ainsi que les germes pathogènes.

Notre travail a été reparté en plusieurs chapitres selon le plan suivant:

- Chapitre I:** généralités sur lac Oubeira
- Chapitre II:** les paramètres physicochimiques des eaux
- Chapitre III:** la contamination des eaux
- Chapitre IV:** Matériel et méthodes
- Chapitre V:** Résultats et discussion et enfin on terminera par une conclusion.

## I.1 Les Zones humides

### I.1.1 Définition de zone humide

Les zones humides sont des étendues de marais, de marécages, de tourbières, d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée y compris des étendues d'eau marines dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres [27].

### I.1.2 Les zones humides en Algérie

La position géographique et stratégique de l'Algérie, on y compte plus 254 zones humides (Medouni, 1996). Sa configuration physique et la diversité de son climat lui confèrent d'importantes zones humides [27].

**Tableau 01** : présente les parties des zones humides en Algérie.

Les parties des zones humides en Algérie	La frange Nord-Ouest	La partie Nord-Est	Le Sahara
Les caractéristiques	<p>Les hautes plaines steppiques se caractérisent par des plans d'eau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• salé : Chotts</li> <li>• non salée : Dayas [27].</li> </ul>	<p>Renferme de nombreux lacs d'eau douce, des marais, des ripisylves et des plaines d'inondation [27].</p>	<p>Renferme les oasis, dans le réseau hydrographique des massifs, montagneux du Tassili et du Hoggar on assiste à des sites exceptionnels alimentés par des sources d'eau permanentes appelées Gueltas [27].</p>

- **L'importance des zones humides en Algérie**

Les zones humides internationales présentent une importance exceptionnelle, car sont meilleurs exemples d'écosystèmes des zones humides du point de vue de leurs fonctions écologiques et hydrologiques leur biodiversité et de leur importance socio-économique. [26].

### I.1.3 Les différentes fonctions des zones humides

Le tableau suivant résume les deux fonctions principales des zones humides.

**Tableau 02** : présente les fonctions principales des zones humides.

<b>Fonctions</b>	
Fonctions biologiques	Fonctions de régulation hydrologique
Les zones humides sont des habitats et niche écologique pour les espèces animales et zone de réserve de protection et d'étude écologique.	Sont des réservoirs d'expansion des crues, régulation des débits, actions antiérosives pour les zones humides littorales et fonction d'échange avec les nappes aquifères [27].

## I.2 Lac Oubeira

### I.2.1 Description du site d'étude : Lac Oubeira

- **Le cadre géographique du lac Oubeira**

Lac Oubeira est un plan d'eau douce d'une superficie de 2200 ha qui fait partie du complexe de zones humides le plus important du Maghreb que le parc national d'El kala. Il est situé près des lacs Mellah et Tonga, et entouré par une ceinture de végétation très diversifiée.

Lac Oubeira se situe à l'extrême Nord-Est de l'Algérie (36°50 N et 38°23 E), à une altitude de 25 m. C'est un système endoréique dont l'alimentation en eau est assurée particulièrement par le ruissellement des eaux sur les estuaires argilo-gréseux composant le bassin versant. De ce fait, le régime hydrologique du Lac Oubeira est fortement influencé par les variations climatiques [21].



**Fig. 01** : Situation géographique du Lac Oubeira dans le parc national d'El-Kala [21].

## I.2.2 Les caractéristiques du Lac Oubeira

Ses caractéristiques sont présentées dans le tableau 03

**Tableau 03** : présente les caractéristiques physiques du Lac Oubeira [18].

Géologie et hydrologie	-La profondeur maximale est de 4m. -Le substrat est entièrement composé d'argile, alimenté essentiellement par l'Oued Messida et d'une dizaine de petits affluents des collines avoisinantes, constitue un dépotoir de sédiment provenant du bassin versant [18].
Climat	-Vents dominants Nord-Ouest (permanents) -Pluviométrie annuelle entre 800 mm et 1000 mm [18].
Température	-Température de l'eau varie de 8.8 à 15.2° au mois de Janvier. [18].
Qualité des eaux	Eaux turbides surtout en hiver, un pH variant entre (8 et 10.653) [18].

### I.2.3 Diversités biologiques du lac Oubeira

- **Flore remarquable**

Une ceinture d'Hélophytes indispensable à la nidification des oiseaux d'eau. Parmi les espèces rares et très rares, (la châtaigne d'eau Trapanatans, le Polygonum senegalense, le Scripe incliné *Scripusinclinatus*) [18].

- **Faune remarquable**

Lac Oubeira constitue l'habitat de plusieurs espèces animales telles que :

- Les oiseaux d'eau.
- Les sédentaires : Blongios nain, Poule sultane.
- Les hivernais : Erismature à tête blanche, Grande aigrette spatule blanche.
- Les mammifères représentés par la loutre [18].

# Chapitre II

Les paramètres physico-chimiques

# Chapitre I

Généralités sur lac Oubeira

# Chapitre III

La contamination des eaux

# Matériel et méthodes

# Résultats et discussion

# Références bibliographiques

# Introduction

L'appréciation de la qualité des eaux de surface se base sur la mesure de paramètres physico-chimiques ainsi que sur la présence ou l'absence d'organismes et de micro-organismes aquatiques, indicateur d'une plus ou moins bonne qualité de l'eau [31].

## **II.1 Les paramètres physiques**

### **II.1.1 Conductivité**

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes et permet d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau [15].

### **II.1.2 Turbidité**

Mesure du caractère trouble de l'eau. Elle dépend des matières en suspension, du plancton et d'autres organismes microscopiques. Une turbidité trop élevée peut nuire à la pénétration de la lumière et à la croissance des algues et plantes aquatiques [16].

### **II.1.3 Matières en suspension (MES)**

Des particules fines dans une eau sont soit d'origine naturelle en liaison avec les précipitations, soit produites par les rejets urbains et industriels. Leur effet néfaste est mécanique, par formation de sédiments et d'un écran empêchant la bonne pénétration de la lumière d'une part (réduction de la photosynthèse), ainsi que par colmatage des branchies des poissons d'autre part. Leur effet est par ailleurs chimique par constitution d'une réserve de pollution potentielle dans les sédiments [17].

### **II.1.4 La température**

La température de l'eau est un paramètre de confort pour les usages. Elle permet également de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température (conductivité notamment).de plus en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu, il est possible d'obtenir des indications sur l'origine et l'écoulement de l'eau [15].

## II.2 Les paramètres chimiques

### II.2.1 Le potentiel hydrogène

Le pH indique l'équilibre entre les acides et les bases d'un plan d'eau. Il influence également la toxicité de plusieurs éléments en régissant un grand nombre de réactions chimiques. Outre l'état naturel du cours d'eau échantillonné (nature des sols et sous-sol), le pH est généralement influencé par les rejets industriels et urbains.

Le pH doit être impérativement mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre ou par colorimétrie [18].

**Tableau 04:** la variation du pH [18].

pH≤5	Acidité forte=présence d'acides minéraux ou organique dans les eaux naturelles
pH=7	pH neutre
7≤pH≤8	Neutralité approchée la majorité des eaux de surface
5.5≤pH≤8	Majorité des eaux souterraines
pH=8	Alcalinité forte vaporisation intense

### II.2.2 Le chlorure

Des chlorures peuvent être localement impliqués dans les pluies acides et phénomènes d'acidification d'eaux superficielles ou souterraines [18].

### II.2.3 Le phosphore

Le phosphore est la forme sous laquelle le phosphore peut être assimilé par les êtres vivants, en particulier les algues. Chimiquement, le phosphore est une combinaison d'atomes de phosphore et d'oxygène [19].

### II.2.4 Le magnésium

Un élément chimique, métallique, structural léger dans l'industrie causé par son poids faible et sa capacité à former des alliages mécaniquement résistants [19].

### II.2.5 L'oxygène dissous

La concentration en oxygène dissous est un paramètre essentiel dans le maintien de la vie et donc dans les phénomènes de dégradation de la matière organique et de la photosynthèse. C'est un paramètre utilisé essentiellement pour les eaux de surface [18].

### II.2.6 L'alcalinité d'une eau

Dans les eaux, l'alcalinité est principalement due à la présence d'ions carbonate  $\text{CO}_3$ , d'ions hydroxylate  $\text{OH}$  et hydrogénocarbonate  $\text{HCO}_3$  (anciennement appelés ions bicarbonate). L'alcalinité d'une eau est mesurée par un dosage avec un acide fort. Par convention, on exprime ce résultat par :

- Le titre alcalimétrique (TA) : mesure la teneur de l'eau en alcalis libre et en carbonates alcalis caustiques.
- Le titre alcalimétrique(TA) : ce titre est égal au volume d'acide(en ml) à  $0,02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  d'ion  $\text{SH}_3\text{O}^+$  nécessaires pour doser 100 ml d'eau en présence de phénolphtaléine.
- Le titre alcalimétrique complet ou (TAC) : correspond à la teneur de l'eau en alcalis libre, carbonates et hydrogénocarbonates, c'est la somme des ions  $\text{OH}$  et  $\text{CO}_3$  [19].

### II.2.7 La dureté ou hydrotimétrie (TH)

En reconnaissant la valeur du TH, on peut classer les eaux en eaux douces, eaux moins dures et eaux dures. La dureté ou (titre hydrotimétrique) d'une eau correspond à la somme des concentrations en cation métallique à l'exception de ceux des métaux alcalis et de l'ion hydrogène. Dans la plupart des cas la dureté est surtout due aux ions calcium et magnésium auxquels s'ajoutent quelquefois les ions de fer, aluminium, manganèse, strontium [20].

**II.2.8 La demande chimique en oxygène (DCO)**

La DCO représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder toute la matière organique contenue dans une eau. C'est l'un des paramètres de la qualité d'une eau [27].

**II.2.9 La demande biochimique en oxygène (DBO<sub>5</sub>)**

Généralement exprimée en milligrammes d'oxygène dissous par litre d'eau pendant un nombre de jours précis à température donnée, la DBO d'une eau polluée par des rejets d'égouts est élevée. Ce qui signifie qu'il ne reste presque plus d'oxygène dissous dans l'eau [16].

### III.1 La contamination de l'eau

La contamination de l'eau engendre la modification de la composition de l'eau et de ses propriétés suite à l'apport de diverses substances provenant principalement des activités humaines. Plusieurs sources de contamination de l'eau existent, tel que ; les déchets, les eaux usées, les activités humaines.

La pollution de l'eau est une dégradation physique, chimique, biologique ou bactériologique de ses qualités naturelles, provoquée par l'Homme et ses activités. Elle perturbe les conditions de vie de la flore et de la faune aquatiques; elle compromet les utilisations de l'eau et l'équilibre du milieu aquatique [29].

### III.2 Les grandes catégories des polluants de l'eau

On regroupe généralement les polluants de l'eau sous trois grandes catégories.

#### III.2.1 Les polluants biologiques

Ce type de polluant regroupe des microorganismes (bactéries, virus, parasites) et des matières organiques produites par les êtres vivants (excréments, sucres, graisses, etc.)[29]. parmi les types de contamination on a :

- **Contamination bactérienne**

Certaines bactéries peuvent être pathogènes. Les bactéries ont colonisé tous les milieux et font peuvent d'une extraordinaire diversité. Certaines peuvent vivre dans des conditions extrêmes devenant capables de croître à partir des éléments soufrés, qui composent leur environnement de méthane ou d'hydrogène [43].

Parmi ces microorganismes on cite les coliformes totaux, les coliformes fécaux, *salmonella*, *stafilococcus auerus* et bactéries anaérobies sulfite réducteurs.

Tableau 05 : Description de quelques espèces

Espèces	Description
<b>Les coliformes totaux</b>	Les coliformes totaux sont des bactéries utilisées comme indicateur de la qualité microbiologique de l'eau. Leur présence en excès dans l'eau [33]
<b>Les coliformes fécaux</b>	Les coliformes fécaux ( <i>E. coli</i> ) et les entérocoques sont des bactéries d'origine fécale qu'on retrouve dans le tube digestif des humains et des animaux. [52]
<b><i>Salmonella</i></b>	Responsable de la fièvre typhoïde et paratyphoïde, sot des bacilles à Gram négatif, mobile dans toutes les directions grâce à des flagelles. Elles sont aéro-anaérobies facultatives [40].
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<i>Staphylococcus aureus</i> est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0.5 à 1µm de diamètre, ne sporule pas immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase positive [38].
<b>Bactéries anaérobies Sulfite Réducteurs</b>	<p>Les anaérobies Sulfite Réducteurs sont des germes telluriques (présents dans le milieu extérieur : sol, eau, air, capable d'y résiste très longtemps sous forme de spore), présent également dans la flore intestinale de l'homme et des animaux</p> <p>Cette appellation regroupe essentiellement les <i>clostridium</i> (dont <i>clostridium perfringens</i> ; 3ème cause d'intoxications alimentaires, agissant par une entero toxine et <i>clostridium botulinum</i>, responsable du bœulisme) [39].</p>

- **Contamination fongique**

Les champignons sont présents avec les espèces animales ou végétales. Des interactions saprophytisme (*Aspergillus*) au parasitisme (moisissures noire du pain), et symbiotiques (lichens, mycorhize) traduisent vraisemblablement leur coévolution avec d'une part et les animaux d'autre part. [51]

Parmi les espèces fongiques on a *Aspergillus et penicillium*

**Tableau 06 :** Identification d'*Aspergillus et penicillium*

Genre <i>Aspergillus</i>	Genre <i>penicillium</i>
<p>Sont des champignons saprophytes, très répandus dans la nature et inhalés quotidiennement par la plupart des humains.</p> <p>Agents responsable d'aspergilloses: <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Aspergillus flavus</i>, <i>Aspergillus nidulans</i>, <i>Aspergillus versicolor</i>, <i>Aspergillus niger</i> Et <i>Aspergillus terrus</i> [41].</p>	<p>Ce genre réunit des champignons filamenteux appartenant au phylum des <i>Ascomycètes</i>.</p> <p>Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores.</p> <p>Les <i>penicilliums</i> sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations.</p> <p>Les espèces du genre <i>Penicillium</i> se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des <i>Aspergillus</i>, à des températures plus basses, il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées [42].</p>

### III.2.2 Les polluants chimiques

Les polluants chimiques sont des contaminants ; soit des composés créés par l'homme (les pesticides), soit des composés naturels utilisés par l'homme (les métaux lourds). Figure 02 représente les différents polluants chimiques [30].



Fig. 02 : Les différents polluants chimiques [30].

### III.2.3 Les polluants physiques

- **La chaleur**

L'augmentation de la température diminue la teneur en oxygène dissous dans l'eau ce qui peut poser des problèmes de respiration pour certains organismes sensibles [30].

- **Les radio-isotopes (pollution radioactive)**

Le récent accident de la centrale nucléaire de Fukushima au Japon en est un exemple, même si on ne peut, à l'heure actuelle, en mesurer l'ensemble des conséquences écologiques [30].

- **Le bruit**

Le bruit peut être une nuisance importante, en particulier pour la faune.

- **La pollution lumineuse**

Il peut s'agir notamment de l'impact de l'éclairage public sur les animaux nocturnes (oiseaux migrateurs, invertébrés du sol, etc.) [30].

### **III.3 Les différentes pollutions de l'eau**

De nombreux facteurs peuvent modifier les composantes physico-chimiques des milieux aquatiques et notamment des pollutions de nature diverse. Selon la nature des polluants on distingue deux grandes catégories :

#### **III.3.1 Pollution physique**

Elle est essentiellement industrielle, secondairement domestique. On peut distinguer trois types de polluant ayant un caractère physique : les polluants mécaniques, les polluants thermiques et les polluants atomiques (polluants radioactifs) [23].

#### **III.3.2 Pollution chimique**

Elle est essentiellement aux rejets industriels qui apportent de grandes quantités de substances chimiques, perturbant ainsi l'équilibre de l'écosystème aquatique. Certains de ces produits, entre autres les métaux lourds, sont non biodégradables et peuvent occasionner des intoxications chez l'homme [23].

Les polluants chimiques peuvent avoir aussi pour origine : les eaux usées et les eaux de ruissellement. Selon la nature des polluants, on distingue :

- **Polluants organiques**

Les hydrocarbures, les pesticides et les détergents sont les plus importants et les plus dangereux des polluants organiques rencontrés dans les milieux aquatiques [23].

- **Polluants inorganiques**

Parmi les polluants inorganiques rejetés en grandes quantités par l'industrie, on trouve les résidus de traitement de minerais, traitement de surface, traitement électrolytiques, etc. beaucoup d'entre eux sont riches en métaux lourds et sont donc toxiques [23].

### **III.4 Impact sur l'environnement**

#### **III.4.1 Matières en suspension**

Augmentation de la turbidité préjudiciable à la photosynthèse, à la respiration des poissons et colmatant les milieux aquatiques. Les particules peuvent transporter différentes formes de pollution (organiques, métalliques) [26].

#### **III.4.2 Pollution organique**

Asphyxie du milieu par consommation de l'oxygène dissous. Toxicité de la charge organique faiblement biodégradable [26].

#### **III.4.3 Azote/ Phosphore**

Eutrophisation des milieux aquatiques par excès de matières nutritives pour les végétaux (algues) et conduisant à l'asphyxie des milieux. Toxicité de l'ammoniaque et des nitrites pour la faune aquatique. Les nitrates peuvent engendrer chez les nourrissons un empoisonnement du sang par blocage de l'hémoglobine interdisant le transport de l'oxygène [26].

#### **III.4.4 Métaux**

La majorité des éléments métalliques est indispensable à la vie animale et végétale (oligo-éléments). La pollution métallique des milieux aquatiques pose un problème particulier car non biodégradable. De façon générale, les troubles les plus fréquents sont d'ordre respiratoire, digestif, nerveux ou cutané. Certains métaux sont également considérés comme cancérigènes : Arsenic, Nickel, Chrome VI [26].

#### **III.4.5 Substances pour les milieux aquatiques**

Les insecticides sont généralement les pesticides les plus toxiques. Ce sont des polluants organiques persistants subissant trois types de phénomènes (transformation, rétention, transport) selon leurs propriétés physico-chimiques. Ils s'adsorbent sur les matières en suspension et s'accumulent dans certains compartiments (sédiments, matières organiques, chaîne alimentaire) Selon leurs formes et propriétés chimiques, ces substances présentent des effets toxiques, mutagènes et cancérigènes [25].

L'objectif de notre étude est d'évaluer le risque de contamination des eaux du lac Oubeira en analysant les paramètres physico-chimiques et bactériologiques.

Les prélèvements ont été réalisés durant les deux mois : mars et avril et subdivisés en 4 sites.

- **Présentation des sites**

En déterminant les analyses physico-chimiques au niveau de la station d'épuration Guelma, et microbiologique au niveau de laboratoire d'université 8 mai 1945 Guelma.

**Tableau07** : Présentation des points du prélèvement.

Site	Date du prélèvement	Heure du prélèvement	Situation géographique des sites
Site A	02 mars 2015	10 :07h	Au nord
Site B		10 :20h	A l'est
Site C		10 :32h	A l'ouest
Site D		10 :47h	Au sud du lac Oubeira
Site E	22 avril 2015	08 :45h	A l'est
Site F		09 :00h	A l'ouest
Site G		09 :17h	Au sud
Site H		09 :32h	Au nord du lac.



Fig. 03 : Les sites de prélèvement du lac Oubeira.

## IV.1 Les prélèvements

### IV.1.1 Matériel du prélèvement

Les prélèvements destinés à l'analyse bactériologique ont été réalisés dans des flacons en verre de 250 ml stérilisé en four pasteur pendant 30 minutes à 180°C.

### IV.1.2 Echantillonnage

Les prélèvements ont été subdivisé en 4 sites, Les échantillons ne doivent pas être contaminés, le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, il convient de laisser un petit vide d'air, permettant un mélange et un aspect homogène.

Les échantillons doivent être soigneusement étiquetés; l'étiquette doit comporter tous les éléments nécessaires à la bonne exploitation des résultats de l'analyse : numéro d'ordre, date et heure, les conditions météorologique, lieu précis [45].

#### IV.1.3 Mesure in situ

Pour chaque prélèvement, les mesures in situ ont été sur le site lui-même (la température, le pH, la conductivité, l'O<sub>2</sub> dissous) à l'aide d'un multi-paramètre.

#### IV.1.4 Transport des échantillons

Afin d'éviter tout changement chimique de l'eau et d'inhiber l'activité bactérienne, Les échantillons sont transportés dans une glacière isotherme (4°C), l'analyse durant nue période ne dépasse pas 2 heure.

#### IV.1.5 Méthode d'analyse

L'objectif d'analyse microbiologique des eaux consiste à ensemencher une concentration de l'eau à analyser sur milieu de culture, solide ou liquide. Le développement des cellules indique la présence des colonies.

### IV.2 L'identification fongique

#### IV.2.1 Les milieux et coulage des boîtes

Les milieux de culture utilisés sont : **Sabouraud** ; **Czapek simple** ; **Czapek concentré** et **le milieu** Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar (**TGEA**). Les milieux sont couler dans des boîtes de pétries, et laisser refroidir.

#### IV.2.2 Stérilisation des milieux

La stérilisation a été faite à l'autoclave par la vapeur d'eau sous pression, à haute température (120°C) pendant 20 minutes. [14].

#### IV.2.3 Préparation des dilutions

- **Le but**

La diminution de la charge microbienne pour avoir des colonies distinctes.

- **Le principe**

A partir de l'échantillon mère nous réalisons une série de dilution décimale à condition de l'addition de 1 ml pour chaque tube.

- **Mode opératoire**

A l'aide d'une pipette graduée, préparer une série de dilution pour la raison de mettre 9 ml dans chaque tube [13].

#### IV.2.4 L'ensemencement et incubation

L'ensemencement s'effectue par strie et autre par touche. Après l'ensemencement, les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve à des températures allant de 28°C à 37°C telle que :

-Les boîtes contenant les milieux Czapek simple, TGEA (Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar).à 26°-28°C.

-Les boîtes contenant les milieux Czapek concentré et le milieu sabouraud à 30°C [13].

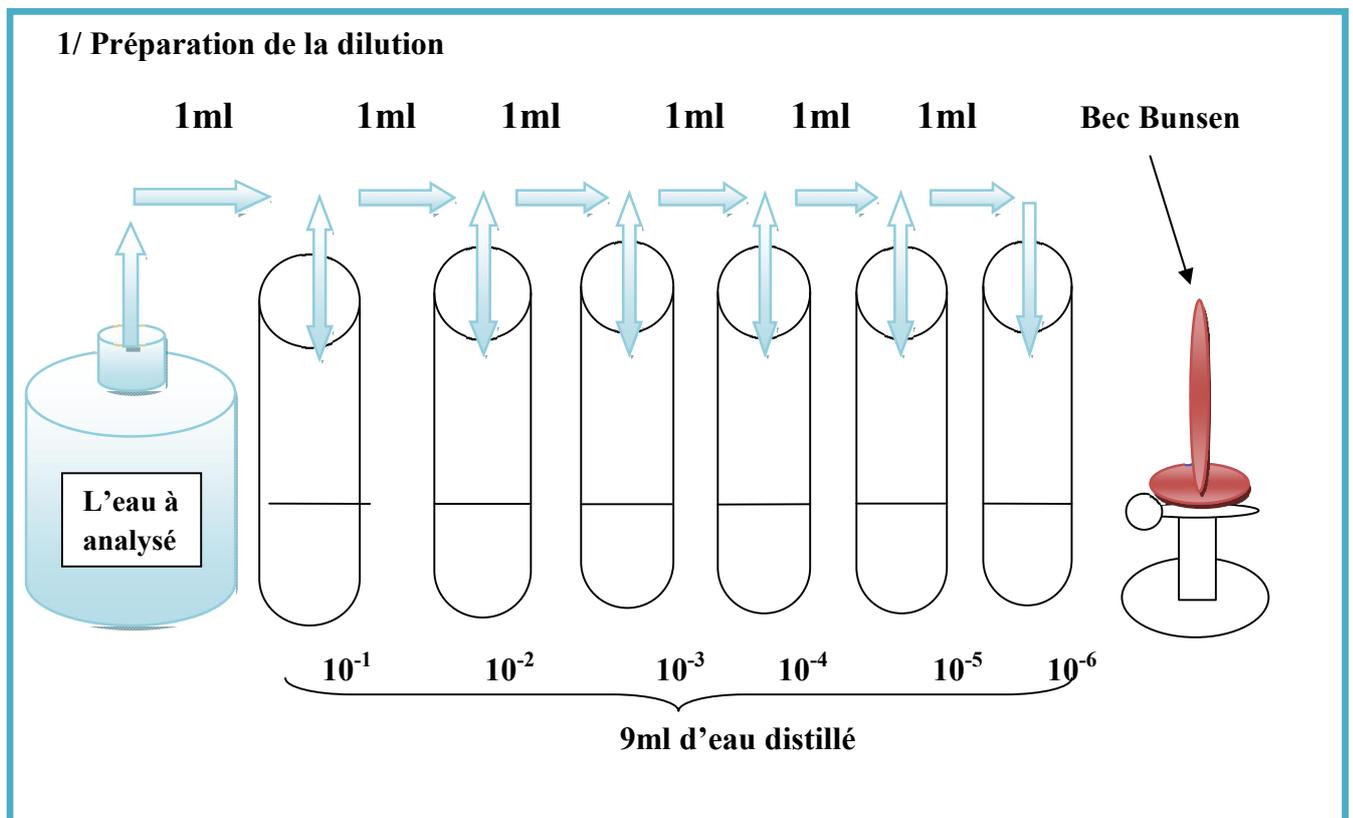
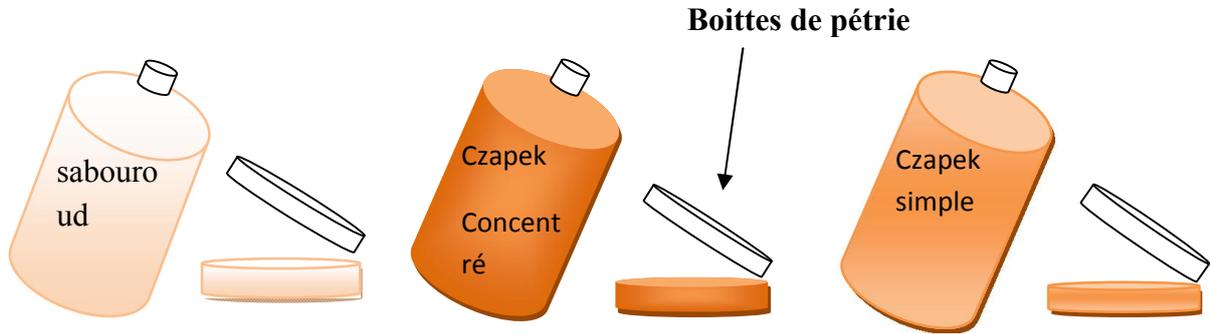
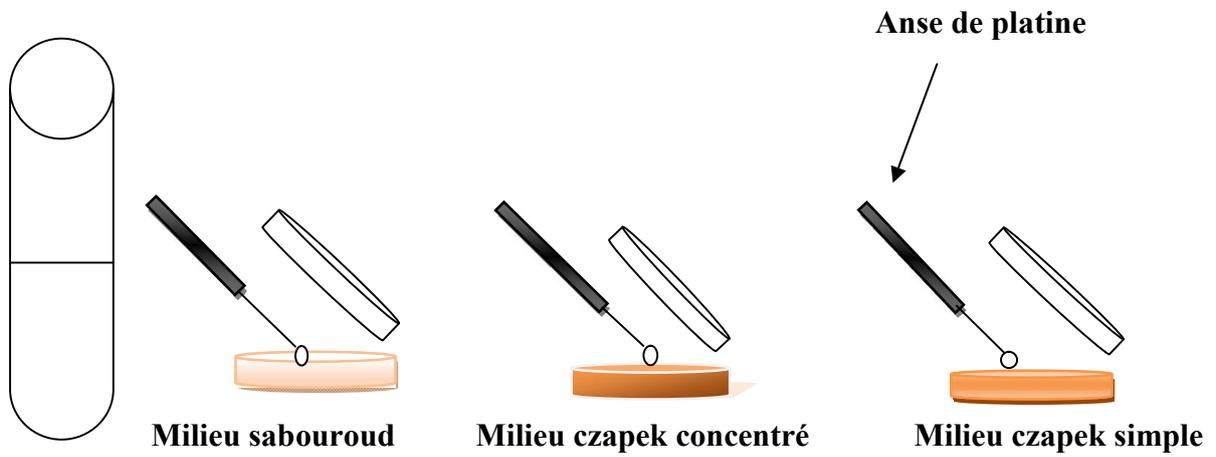


Schéma.01 : méthode de dilution

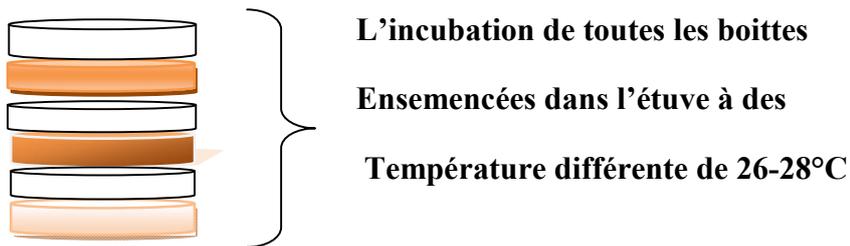
**2/coulage des boîtes**



**3/ L'ensemencement**



**4/L'incubation**



**Schéma 02 : Méthodes d'ensemencement et incubation**

### IV.2.5 Lecture

La lecture se réalise à partir du troisième jour pour déterminer les caractéristiques des colonies et suivre leur cycle, ce qui nous aide à identifier les espèces.

- **Aspect macroscopique :** permet de connaître
  - Caractères culturaux.
  - Couleur.
  - Couleur du revers.
  - Exsudat : présence ou absence.
  - Odeur : présence ou absence
- **Aspect microscopique des colonies**
  - Orange de fructification
  - Aspect et taille des spores.
  - Couleur et disposition des spores [1].

### IV.3 Examen microscopique des souches

L'examen consiste à déterminer les caractères morphologiques et les caractères culturaux.

- **Principe :** le choix d'un fragment mycélien à partir d'un site de prélèvement, sur le thalle, intermédiaire du mycélium juvénile à la marge et le vieux mycélium au ceci permet le visionnement idéal des appareils sporifères. Le matériel biologique fongique est préparé pour l'observation microscopique aux différents grossissements (X10, X40) [2].

#### IV.3.1 Examen à l'état frais

Cet examen Permet l'observation des mycéliums

- La morphologie des champignons.
- Leur mode de regroupement et leur structure [2].
- **La technique :** Prélever à l'aide d'une anse de platine fragment d'un mycélium qu'on dépose entre lame et lamelle. L'observation se fait à l'aide d'un microscope optique avec grossissement (X10 et X40).

#### IV.3.2 Examen après coloration

La coloration consiste deux étapes, les champignons consiste une coloration simple (Bleu de méthylène).

- **Préparation des frottis :** Les frottis destinés à la coloration doivent être étalés en couches minces régulières, séchés et le plus souvent fixés.
- **Réactif :** Bleu de méthylène.
- **Technique :**
  - Recouvrir le frottis avec le bleu de méthylène
  - Laisser agir de 1 à 3 minutes.
  - Rincer la lame.
  - Sécher avec un papier filtre fin.
  - Addition de l'huile de cèdre (X100) [3].

## IV.4 Analyse bactériologique

### IV.4.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants

La recherche et dénombrement des coliformes ont été réalisées selon la technique du Mac Grady nombre le plus probable (NPP).

➤ **Technique :**

- Préparer une série de tubes contenant le milieu bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) qui est un milieu liquide avec une cloche de Durham.
- A partir des dilutions décimales (jusqu'à la  $10^{-9}$ ), porter aseptiquement 1 ml, dans chacun des tubes de BCPL à partir de la même dilution.
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48h.

➤ **Lecture :**

Les tubes considérés comme positifs présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur la cloche).
- Un trouble accompagné d'un virage du milieu au jaune (fermentation du lactose).

➤ **Dénombrement :**

On note le nombre de tubes positifs dans chaque série, l'illustration avec la table de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes [4].

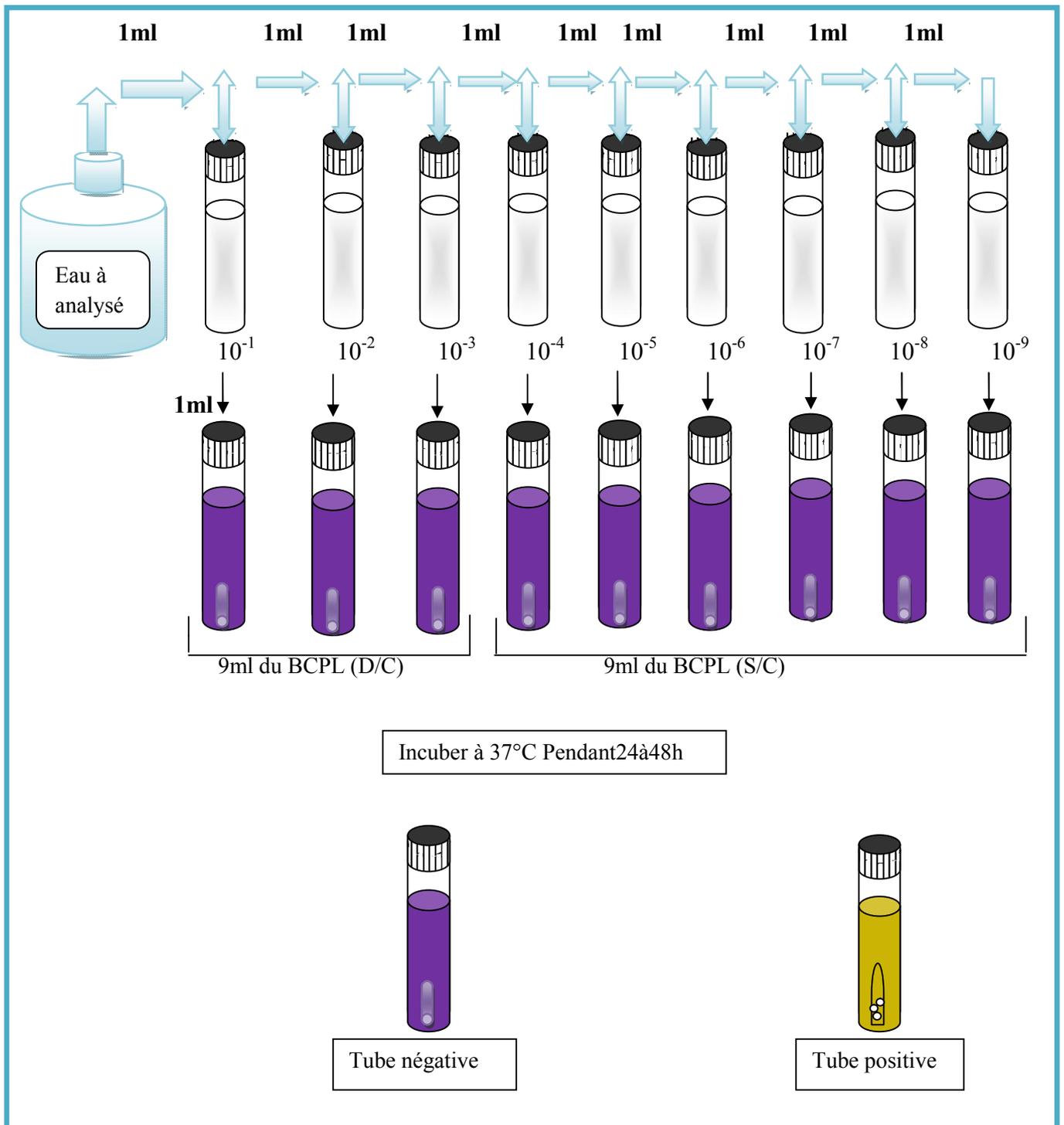
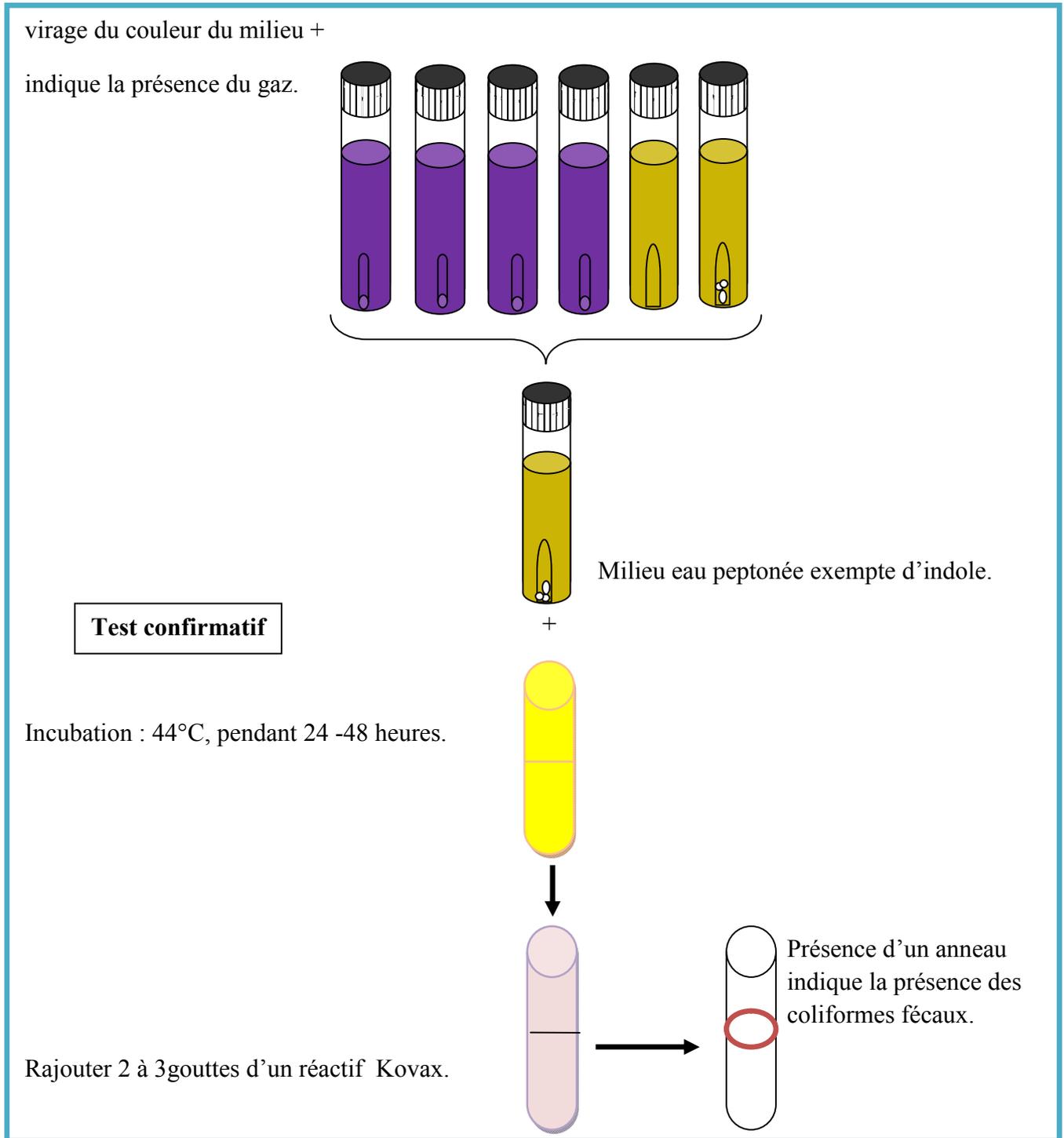


Schéma 03 : Recherche et le dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants.



**Schéma 04 :** Test confirmatif pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.

#### IV.4.2 Examen microscopique

A partir des colonies isolées sur les milieux de culture, on utilise la coloration de Gram [5].

- **Coloration de Gram**

Une coloration différentielle se base sur la :

- Préparation d'un frottis.
- Coloration par le violée de Gentiane : laisser agir la solution de cristal violet pendant 1mn puis laver la lame avec l'eau.
- Mordançage : laisser agir le lugol pendant 1mn puis rinçage avec l'eau de robine
- Décoloration : recouvrir la lame avec l'alcool pendant 30 secondes, lavé avec l'eau.
- Recoloration : laisse agir la solution de fushine pendant 30 à 40 secondes laves avec l'eau et enfin sécher.

#### IV.5 Recherche et dénombrement des entérobactéries

Le milieu de culture utilisé est gélose nutritive, l'ensemencement se fait par touche ou par stries sur les boites de pétris.

##### IV.5.1 Détermination des caractères biochimique des entérobactéries

- **La galerie biochimique classique**

Le tableau 04 présente les milieux, les techniques et les résultats pour la galerie classique.

**Tableau 08** : la détermination des étapes d'une galerie classique.

Milieux	Ensemencements	Caractères recherchés	Résultats
Citrate de Simmons	Par stries, au fil droit à partir d'une suspension bactérienne. Mettre à l'étuve à 37°C pendant 24h [6].	Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme source d'énergie [6].	Virage de couleur vers le bleu :(citrate+) [7].

TSI (Triple Suger Iron)	par stries avec une simple piqure. Mettre à l'étuve à 37°C pendant 24h	Utilisation du glucose, saccharose, et lactose. -production d' H <sub>2</sub> S -production du gaz.	Transformation de couleur vers le jaune (glucose, lactose, saccharose). Formation des zones noire (H <sub>2</sub> S). [6]
Mannitol mobilité	par piqure central à laide d'un fil droite. Mettre à l'étuve 37°C à 24h. [8].	-Mannitol.  -Mobilité [8].	Virage de couleur vers le rouge (mannitol+). Formation d'une voile autour de la piqure (mobilité) [7].
Urée indole	incorporation 0,1 ml Mettre à l'étuve 37°C à 24h [7]	L'uréase, enzyme hydrolysant l'urée. Formation d'indole [7]	Virage de couleur vers le rose uréase(+). Apparition d'un anneau rouge à la surface (indole +).
Clark et clubs	incorporation et incubation à 37°C pendant 24h. 1. Test VP : Ajouter quelque goutte de (VPI et VPII) de 2à3 gouttes. Attendre quelque min à 1 heure. 2. Test MR : Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle [7].	Présence d'acétoïne dans le milieu absence d'acétoïne dans le milieu. Misse en évidence de la voie des fermentations acide mixtes par le test (rouge de méthyle) RM [7].	1. Test VP Virage de couleur vers le rose (VP+) 2. Test RM Virage de couleur vers le rouge (RM +) [7].

- **Les tests complémentaires**

**A) Catalase**

Cette enzyme permet la dissociation d' $\text{H}_2\text{O}_2$  selon la réaction suivante :

**Techniques**

- Sur une lame propre et séchée, déposer une goutte d'eau oxygénée.
- A l'aide d'une pipette pasteur, ajouter l'inoculum bactérien.
- Surveiller l'apparition d'un dégagement d'oxygène sous forme de bulles de gaz.

**Lecture**

- Dégagement immédiat de bulles de gaz considérés comme positif [9].

**B) Oxydase**

La recherche de l'enzyme respiratoire.

**Techniques**

- Déposer un disque pré-imprégné par le réactif N diméthyle paraphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.
- Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Déposer au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.

**Lecture**

- L'apparition d'une teinte (rose-violette) indique l'oxydase : positif [9].

**C) Recherche de l'enzyme Endocellulaire Béta-galactosidase****Techniques :**

- Réaliser une suspension bactérienne.
- Ajouter un disque imprégné d'Ortho-Nitrophényle-Galactosidase (ONPG) dans une suspension bactérienne.
- Incuber 30 min à 37°C [7].

**Lecture**

Le virage de couleur vers le jaune indique l'éclatement des cellules.

## D) TDA (Tryptophane décarboxylase)

### Techniques

- Réaliser une suspension bactérienne dans milieu Urée indole.
- Incuber 37°C à 24h.
- Ajoute 2 à 3 gouttes du réactif de TDA (Tryptophane décarboxylase) [33].

### Lecture

- L'apparition de la couleur marron foncé TDA(+) [33].

## IV.5.2 La galerie api 20 E

Permet à déterminer les caractères biochimiques.

### Technique

- Faire une suspension bactérienne dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 24 heures [10].

### Lecture

Les Réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certains sont par l'addition de Réactifs :

- Test VP : VPI + VPIL.
- TDA et IND : Réactif de Kovac.
- Test NO<sub>2</sub>: NIT I + NIT II [32].

La lecture de la galerie doit se faire en se référant :

- Soit avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.
- Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient le nombre de 7 chiffres qui sert du code d'identification.

- Soit avec un logiciel d'indentification : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée api 20E. (Voir l'Annexe II) [9].

## **IV.6 Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR)**

Les bactéries anaérobies sulfite-réductrices sont des bacilles Gram positif, se développant entre 24 et 48 heures sur une gélose viande foie (VF). Elles sont capables de produire de l'hydrogène sulfuré ( $H_2S$ ) à partir du sulfite de sodium présent dans le milieu, celui-ci qui se combine avec du citrate de fer ammoniacal ou l'alun de fer pour donner du sulfure de fer noir. Ce test permet de mettre en évidence une pollution fécale ancienne [25].

- **Principe**

Dans ce test, on utilise la méthode (par incorporation de gélose en tube profond) dans le but de rechercher et dénombrer les spores des bactéries anaérobies sulfite réductrices et des clostridium sulfite-réducteur dans les eaux du lac oubiera. [51].

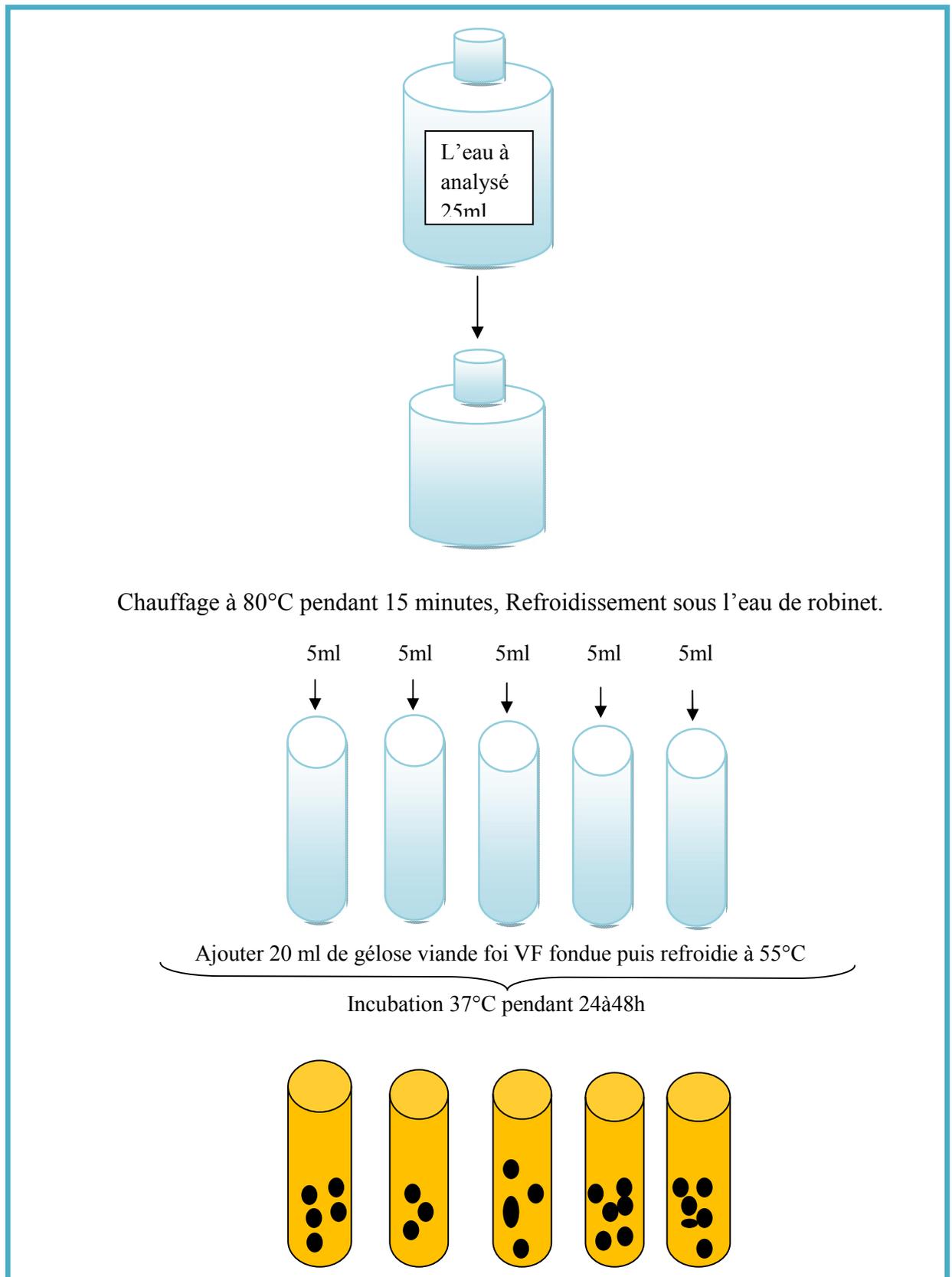
- **Mode opératoire**

La recherche des bactéries sulfite-réductrices se fait principalement en trois étapes :

- Destruction de la forme végétative.
- Préparation du milieu de culture.
- Inoculation et incubation à 37°C pendant 24-48 heures. [49].

- **Lecture**

Dénombrer toutes colonies d'un halo noir et compter le nombre total des colonies dans les tubes. [46].



**Schéma 05 :** Recherche et dénombrement des spores des Bactéries anaérobies sulfite réductrices (ASR).

## IV.7 Recherche et indentification des staphylocoques

L'isolement sélectif des staphylocoques a été réalisé à partir du milieu sélectif chapman qui contient un inhibiteur des sels minéraux (Na Cl) à concentration élevée (75g/L) [6].

### IV.7.1 L'observation macroscopique

- Transformation du couleur vers le jaune et une ramification indique mobile (+).
- Des colonies pigmentées en jaunes et mannitol(+) [11].

### IV.7.2 L'observation microscopique

Entre lame et lamelle en détermine la forme et la mobilité.

### IV.7.3 L'indentification biochimique des *staphylocoques*

On utilise le système miniaturisé api staph.

## IV.8 Analyse physico-chimique

### IV.8.1 Les mesures in situ

Touts les paramètres physico-chimique (pH, Température, Oxygène dissous, conductivité) on été réalisé à l'aide d'un multi paramètre de type (Multi 1970 i).



Fig.04 : le multi-paramètre

### IV.8.2 La turbidité

A été mesurée à l'aide d'un turbidimètre (de préférence le même jour).

### IV.8.3 Les matières en suspension (MES)

La détermination de la matière en suspension dans l'eau s'effectue par filtration ou par centrifugation.

La méthode utilisée est la filtration sur fibre de verre où l'eau est filtrée à l'aide des filtres de Wattman et le poids des matières retenues par le filtre, est déterminé par pesée différentielle.

#### ➤ Mode opératoire

- Laver le disque filtrant fibreux à l'eau distillée, le sécher à l'étuve (1h à 105°C ou 15 min à la micro-onde à puissance moyenne) et le placer en attente dans un dessiccateur.
- Peser le disque ( $M_0$ ).
- Placer le disque dans l'appareil de filtration et mettre en route le système d'aspiration.
- Verser progressivement le volume  $V_e$  d'eau à analyser sur le disque filtrant jusqu'à ce que l'appareil de filtration se vide.
- Rincer le récipient qui a contenu l'échantillon avec 10 ml d'eau distillée et filtrer les eaux de lavage.
- Mettre le disque filtrant à sécher (1h à 105°C ou 15 min à la micro-onde à puissance moyenne). Laisser refroidir le filtre au dessiccateur ; peser le filtre.

#### ➤ Expression des résultats

$$\frac{M_1 - M_0}{V} \times 1000$$

$M_0$  = masse du disque filtrant avant utilisation.

$M_1$  = masse du disque filtrant après utilisation.

$V$  = volume d'eau utilisé.

#### IV.8.4 Le Magnésium

➤ **Mode opératoire**

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large, ajouter 2 ml de NH<sub>4</sub>OH à pH 10 et une pincée de noir urochromes T.
- Titrer par l'EDTA N/50 jusqu'au virage de couleur bleu (V<sub>2</sub>).

➤ **Expression des résultats**

$$[Mg^2] \text{ mg/l} = (V_2 - V_1) \times F \times 4,8$$

V<sub>2</sub> : Volume titré de calcium et de magnésium.

V<sub>1</sub> : Volume titré de calcium.

➤ **Facteur**

- 50 ml de solution mère de CaCl<sub>2</sub>.
- 2 ml de NAOH (2).
- Une pincée de murex ide.
- Tirer par l'EDTA N/50 jusqu'au virage de couleur viole

$$F = 12,5/V \text{ (EDTA)}$$

#### IV.8.5 Les chlorure

➤ **Principe**

- En milieu neutre, les chlorures sont dosés par une solution titrée de nitrate d'argent.
- En présence de chromate de potassium, la fin de la réaction est indiquée par l'apparition d'une teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

➤ **Mode opératoire**

- Introduire 25 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer à col large, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10%.
- Verser au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une teinte rougeâtre qui doit persister 1 à 3 minutes.

➤ **Expression des résultats :**

Soit V, le volume de millimètres de nitrate d'argent utilisés.

#### IV.8.6 Le calcium

➤ **Principe**

Le principe est identique à celui de la méthode complexa-métrique pour la dureté totale. Comme le dosage se fait à un pH élevé, le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. L'indicateur choisi ne se combine qu'avec le calcium.

➤ **Mode opératoire**

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un Erlenmeyer au col large.
- Ajouter 2 ml de solution d'hydroxyde et quelques graines d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet.

➤ **Expression des résultats**

Soit V le volume de solution d'EDTA verser.

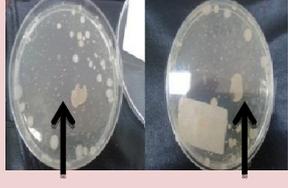
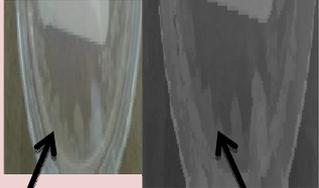
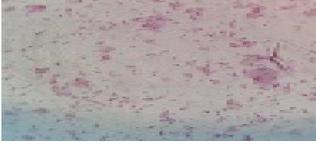
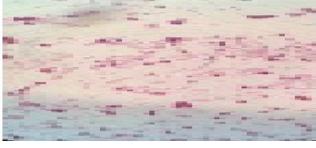
$$[\text{Ca}^2] \text{ mg/l} = V (\text{EDTA}) \times F \times 8$$

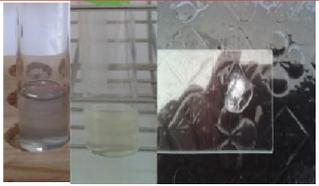
**V.1 Analyse bactériologique**

**V.1.1 Résultats de la recherche des entérobactéries**

L'analyse bactériologique consiste à déterminer l'aspect macro et microscopique et une galerie classique pour l'identification de plusieurs genre existant dans des différents sites étudiés nos résultat sont représenté sous dessous.

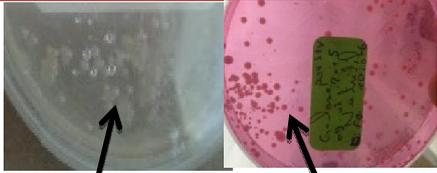
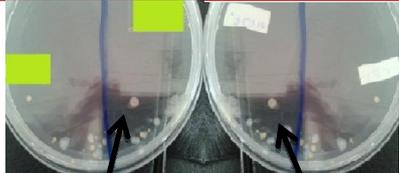
**Tableau 09 :** Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02.

<b>Milieu Gélose nutritif (GN)</b>				
		Prélèvement 01		Prélèvement 02
		Site A	Site C	Site E
<b>Aspect macroscopique</b>	 <p>Recto    Verso</p> <p><b>Fig. 05:</b> colonies blanchâtres.</p> <p>Des colonies blanchâtres bombées de grande taille.</p>	 <p>Recto    Verso</p> <p><b>Fig.09:</b> colonies blanchâtres</p> <p>Des colonies plates, régulières de la forme (S) blanchâtres.</p>	 <p>Recto    Verso</p> <p><b>Fig.13:</b> colonies marron</p> <p>Des colonies marron irrégulières de forme(R)</p>	
	<b>Aspect microscopique</b>	 <p><b>Fig. 06:</b>Bacille à Gram<sup>-</sup></p>	 <p><b>Fig.10:</b>Bacille à Gram<sup>-</sup></p>	 <p><b>Fig.14:</b>Bacille à Gram<sup>-</sup></p>
		 <p><b>Fig. 07:</b> Résultat de galerie classique.</p> <p>-Manitol mobilité<sup>+</sup>: virage du couleur vert le jaune avec formation</p>	 <p><b>Fig. 11:</b> Résultat de galerie classique.</p> <p>-Mannitol mobilité<sup>+</sup>: virage du couleur vert le jaune avec formation</p>	 <p><b>Fig.15 :</b> Résultat de galerie classique.</p> <p>-Manitol mobilité<sup>+</sup>: virage du couleur vert le jaune avec formation</p>

<p><b>Galerie classique</b></p>	<p>d'une ramification.                  -Urée d'idole : addition du réactif kovax                  l'apparition d'un anneau rouge ce qui explique indole<sup>+</sup>.                  -Citrate<sup>+</sup>: virage du couleur vers le bleu vert.                  -TSI: transformation de couleur (lactose<sup>+</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>+</sup>) la présence du gaz (gaz<sup>+</sup>) et l'absence du zone noire (H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>).                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>	<p>d'une ramification.                  -Urée d'indole: addition du réactif kovax                  l'absence d'un anneau rouge (Indole<sup>-</sup>).                  - Citrate<sup>-</sup> : absence du virage du couleur.                  - TSI: la couleur ne change pas complètement (lactose<sup>-</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>-</sup>), l'absence du gaz (gaz<sup>-</sup>) et l'absence de la zone noire (H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>).                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>	<p>d'une ramification.                  -Urée d'indole: addition du réactif kovax                  l'absence d'un anneau rouge (Indole<sup>-</sup>).                  -Citrate<sup>+</sup>: virage du couleur vers le bleu vert.                  -TSI: la couleur ne change pas complètement (lactose<sup>-</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>-</sup>), l'absence du gaz (gaz<sup>-</sup>) et l'absence de la zone noire (H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>).                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>
<p><b>Tests complémentaires</b></p>	<p>  <b>Fig.08:</b> Résultat du test complémentaire                  -Oxydase<sup>+</sup>: apparition de couleur rose.                  -ONPG<sup>+</sup>: apparition de couleur jaune.                  -Catalase<sup>-</sup>: absence de bulles de gaze (O<sub>2</sub>).</p>	<p>  <b>Fig.12:</b> Résultat du test complémentaire                  -Oxydase<sup>-</sup>: apparition de couleur rose.                  -ONPG<sup>-</sup>: absence de couleur jaune.</p>	<p>  <b>Fig.16:</b> résultat du test complémentaire                  -Oxydase<sup>-</sup>: absence de couleur rose                  -ONPG<sup>+</sup>: apparition d couleur jaune                  -Catalase<sup>+</sup>: apparition de bulles de gaze (O<sub>2</sub>).</p>

		-Catalase <sup>+</sup> : présence de bulles de gaze (O <sub>2</sub> ).	
Espèces	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>

**Tableau 10** : Résultats macro et microscopique des prélèvements 01 et 02.

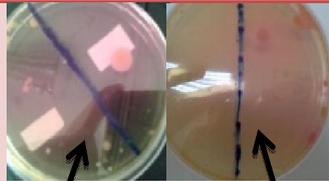
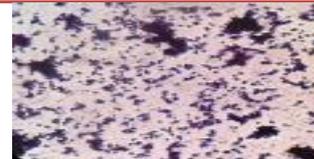
Milieu Gélose nutritif (GN)		
	Prélèvement 01 site D	Prélèvement 02 site G
<b>Aspect macroscopique</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.17:</b> colonies jaunâtres.</p> <p>Des colonies bombées, lisses, régulières de forme (S) et d'autre sont plates avec couleur jaunâtres.</p>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.20:</b> colonies et jaunâtres.</p> <p>Des colonies plates, régulières de la forme (s) jaunâtres.</p>
<b>Aspect microscopique</b>	 <p><b>Fig.18:</b> Bacille à Gram-</p>	 <p><b>Fig.21:</b> Bacille à Gram-</p>

<b>Galerie api 20E</b>	 <p><b>Fig. 19:</b> Résultat du profil biochimique</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-ONPG<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ADH<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-LDC<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-ODC<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-CIT<sup>+</sup>: bleu</li> <li>-H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-URE<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-TDA<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-IND<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-VP<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-GEL<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-GLU<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MAN<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-INO<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SOR<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-RHA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SAC<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MEL<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-AMY<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ARA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-NO<sub>2</sub><sup>+</sup>: rouge</li> <li>-MOB<sup>+</sup>: mobile</li> </ul>	 <p><b>Fig. 22:</b> Résultat du profil biochimique</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-ONPG<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ADH<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-LDC<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-ODC<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-CIT<sup>+</sup>: bleu</li> <li>-H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-URE<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-TDA<sup>-</sup>: jaune</li> <li>-IND<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-VP<sup>+</sup>: rouge</li> <li>-GEL<sup>-</sup>: incolore</li> <li>-GLU<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MAN<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-INO<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SOR<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-RHA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-SAC<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-MEL<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-AMY<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-ARA<sup>+</sup>: jaune</li> <li>-NO<sub>2</sub><sup>+</sup>: rouge</li> <li>-MOB<sup>-</sup>: Immobile</li> </ul>
	<b>Espèces</b>	<i>Octobacter faeneri</i>

V.1.2 Résultats de la recherche des staphylocoques

Les résultats de la recherche des staphylocoques sont représentés dans le tableau suivant

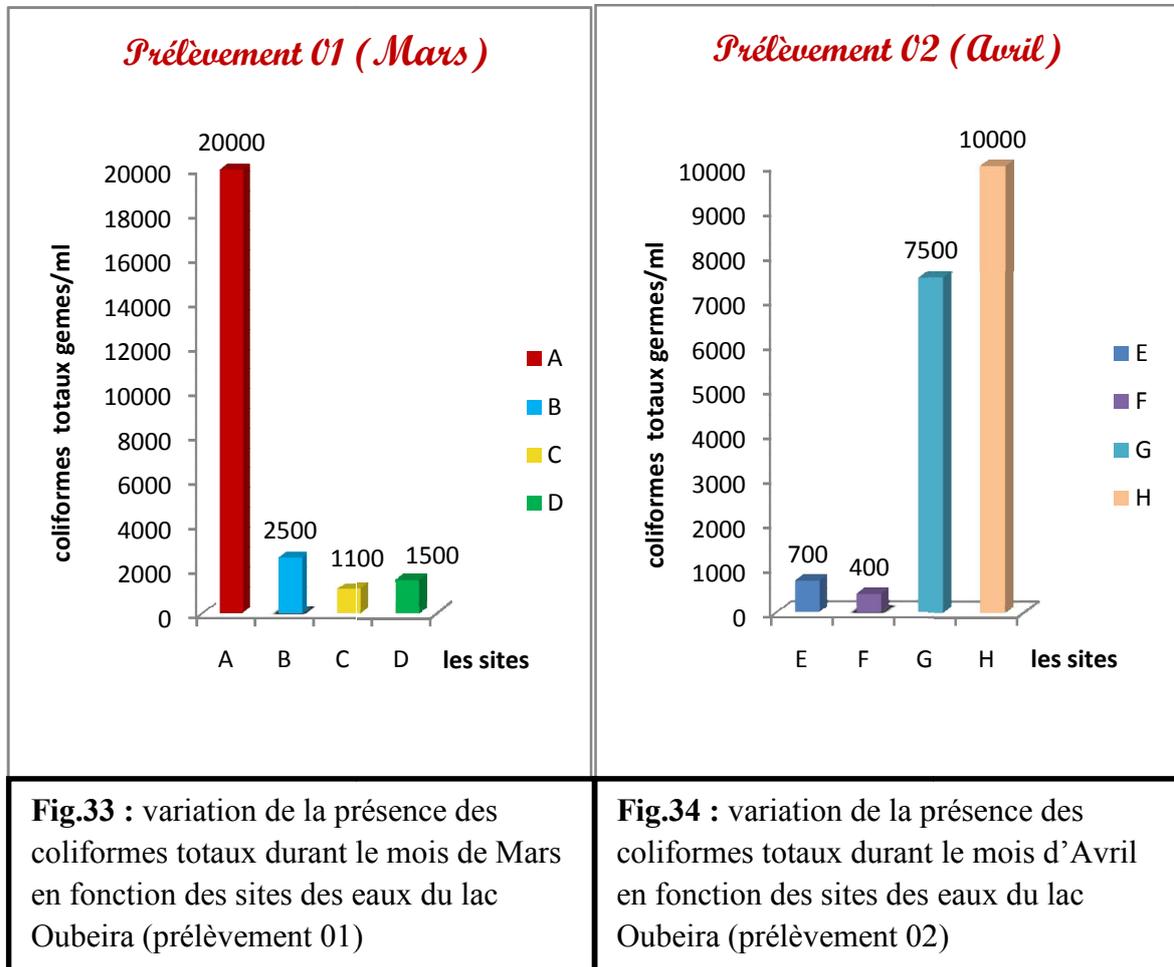
**Tableau 11** : Résultats d'identification des souches de staphylocoques isolée des prélèvements 01 et 02.

	Milieu Chapman					
	Prélèvement 02 Site B		Prélèvement 02			
			Site F		Site H	
<b>Aspect macroscopique</b>	 <p><b>Fig. 23:</b> colonies jaunâtres.</p> <p>Des colonies plates régulières de forme (S) jaunâtres avec une transformation du couleur vers le jaune.</p>		 <p><b>Fig. 26:</b> colonies jaunâtres.</p> <p>Présence des colonies jaunâtres bombées petite et grande taille ; avec une transformation du couleur vers le jaune.</p>		 <p><b>Fig. 30:</b> colonies blanchâtres.</p> <p>Des colonies plates, régulières blanchâtres.</p>	
<b>Aspect microscopique</b>	 <p><b>Fig. 24:</b> Cocci à Gram+ en amas</p>		 <p><b>Fig. 27:</b> Cocci à Gram+ en amas</p>		 <p><b>Fig. 31:</b> Cocci à Gram+ en amas</p>	
<b>Galerie classique/ api Staph</b>	 <p><b>Fig. 25:</b> Résultat du profil biochimique.</p> <p>-O<sup>-</sup>: incolore -GLU<sup>+</sup>: rouge</p>		 <p><b>Fig. 28 :</b> Résultat de galerie classique.</p> <p>-Manitol mobilité+: virage du couleur vert le</p>		 <p><b>Fig. 32 :</b> Résultat du profil biochimique.</p> <p>-O<sup>-</sup>: incolore -GLU<sup>+</sup>:jaune</p>	

	<p>-FRU<sup>+</sup>: rouge                  -MNE<sup>+</sup>: rouge                  -MAL<sup>+</sup>: rouge                  -LAC<sup>+</sup>: rouge                  -TRE<sup>+</sup>: rouge                  -MAN<sup>+</sup>: rouge                  -XLT<sup>+</sup>: jaune                  -MEL<sup>+</sup>: rouge                  -NIT<sup>+</sup>: rouge                  -PAL<sup>-</sup>: violet                  -VP<sup>+</sup>: incolore/rose                  RAF<sup>+</sup>: rouge                  --XYL<sup>+</sup>: rouge                  -SAC<sup>+</sup>: rouge                  -MDG<sup>-</sup>: jaune                  -NAG<sup>+</sup>: rouge                  -ADH<sup>-</sup>: orange/violet                  -URE<sup>-</sup>: rouge/violet</p>	<p>jaune avec ramification                  -Urée d'idole: avec addition du réactif kovax l'absence d'un anneau rouge (indole<sup>-</sup>)                  -Citrate<sup>+</sup>: virage du couleur vers le bleu vert.                  - TSI: transformation de couleur (lactose<sup>+</sup> glucose<sup>+</sup> saccharose<sup>+</sup>) la présence du gaz (gaz<sup>+</sup>) et l'absence du zone noire (H<sub>2</sub>S-)                  - Clark et lubs: absence du couleur pour Vp1 et Vp2 et virage du couleur vers le rouge pour rouge de méthyle.</p>	<p>-FRU<sup>+</sup>:rouge                  -MNE<sup>+</sup>: rouge                  -MAL<sup>-</sup>: jaune                  -LAC<sup>+</sup>:rouge                  -TRE<sup>+</sup>: rouge                  -MAN<sup>+</sup>: rouge                  -XLT<sup>-</sup>: jaune                  -MEL<sup>-</sup>: jaune                  -NIT<sup>+</sup>: incolore/use                  -PAL<sup>+</sup>: jaune                  -VP<sup>+</sup>: incolore/rose                  -RAF<sup>-</sup>: rouge                  -XYL<sup>+</sup>: rouge                  -SAC<sup>+</sup>:rouge                  -MDG<sup>-</sup>: rouge                  -NAG<sup>+</sup>:rouge                  -ADH<sup>-</sup>:Orange/rouge                  -URE<sup>+</sup>: jaune</p>
<p><b>Tests complémentaires</b></p>		 <p><b>Fig. 29:</b> Résultat du test complémentaire</p> <p>-Oxydase<sup>+</sup>: virage du couleur rose                  -ONPG<sup>+</sup>: apparition d couleur jaune                  -Catalase<sup>+</sup>: apparition de bulles de gaze.</p>	
<p><b>Espèces</b></p>	<p><i>Staphylococcus lentus</i></p>	<p><i>Staphylococcus auerus</i></p>	<p><i>Staphylococcus xylocus</i></p>

### V.1.3 Résultats de la recherche des coliformes totaux

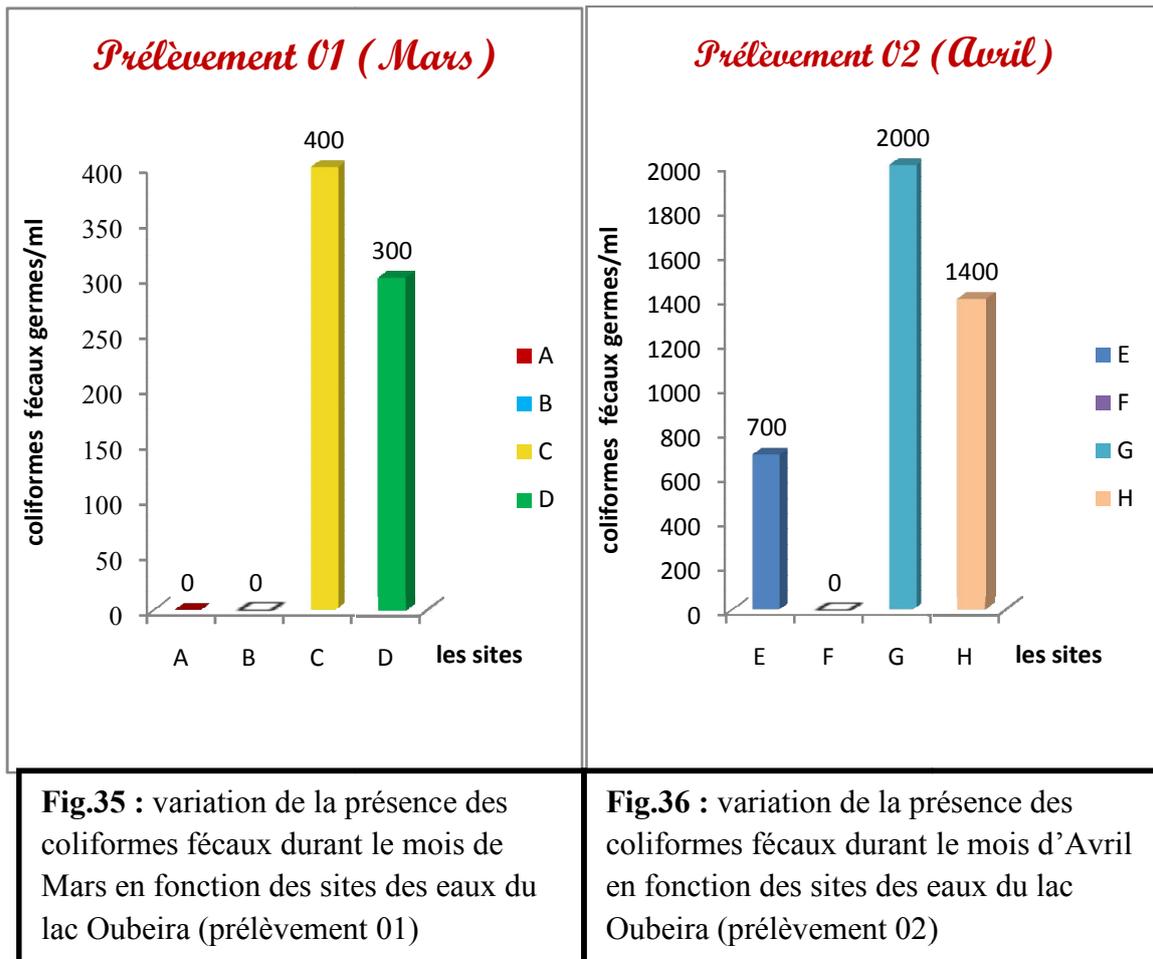
Les variations du nombre de coliformes totaux dans les différents sites, situées sur le lac Oubeira sont illustrées dans la figure si dessous.



La forte concentration des coliformes totaux a été enregistrée au niveau du site A (20000germes/ml) tandis que la valeur minimale est enregistrée au niveau du site F (400germes/ml), ce qui explique la présence des bactéries à l'origine d'une contamination récente par la matière fécale des animaux.

### V.1.3 La recherche des coliformes fécaux (*Escherichia coli*)

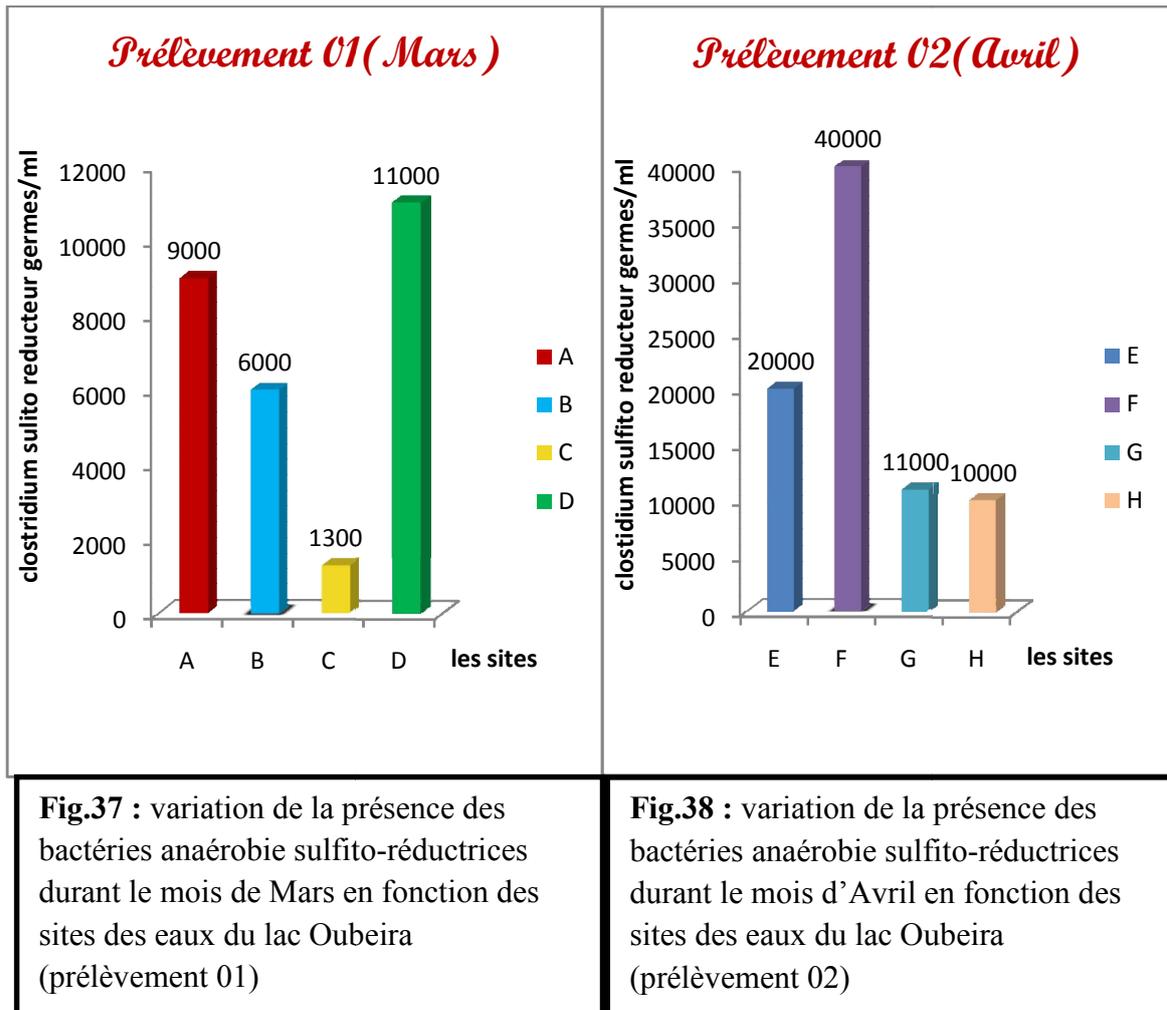
L'isolement des coliformes fécaux se fait dans le milieu exempt d'indole à 44°C pendant à 24h à bin marin. Les variations du nombre des bactéries des coliformes fécaux dans les différents sites situés sur lac Oubeira sont présentées dans les figures si dessous.



La valeur la plus élevée pour les coliformes fécaux a été enregistrée au niveau du site G (2000germes/ml) ce qui explique l'abondance de ses germes grâce à la présence d'une contamination fécale.

#### V.1.4 La recherche des spores de clostridium sulfito-réducteurs

La gélose viande foie est utilisée pour le dénombrement des spores de clostridium sulfito-réducteurs dans l'eau du lac Oubeira à 37°C pendant 24 heures. Les variations des colonies de germes sulfito-réducteurs dans les différents sites situés sur lac Oubeira sont présentés dans les figures ci-dessous.



La concentration la plus faible des bactéries anaérobie sulfito-réductrices a été enregistrée au niveau du site C (1300germes /ml) durant le mois de mars, par contre la plus élevé au niveau du site F (40000 germes/ml) durant le mois d'avril ce qui exprime que ce dernier contient une contamination fécale ancienne.

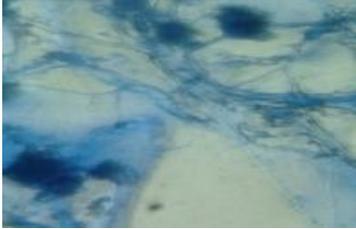
## V.2 Identification fongique

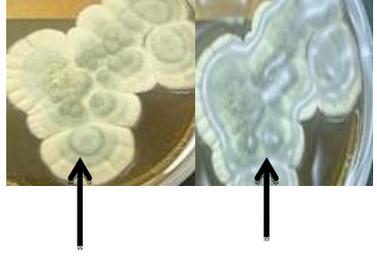
L'aspect macroscopique et microscopique des espèces fongiques dans les milieux de cultures sont présentées dans les tableaux suivants.

**Tableau 12 :** Aspect macroscopique des filaments fongiques à partir de plusieurs milieux.

Milieu de culture	Site A	Site B	Site C	Site D	Site E	Site F	Site G	Site H
Czapek simple [à 25°C pd01-05 jour].	Absence de culture.	Des filaments verdâtres et blanchâtres de petites tailles.	Absence de culture.	Absence de culture.	Des petits mycéliums de couleurs marron et noirs.	Des petits mycéliums de couleurs noirs.	Absence de culture.	Des petits mycéliums de couleurs marron.
Czapek concentré [à 25°C pd01-05 jour].	Absence de culture.	Absence de culture.	Absence de culture.	Quelque hyphe de couleur blanc et noir.	Des hyphes de couleur blanc et noir.	Quelque petites hyphes marron.	Petit hyphe de couleur marron.	Des petits hyphes marron.
sabouraud [à 25°C pd01-05 jour].	Colonies grands tailles avec des colonies blanchâtres de petites tailles.	Des colonies grandes tailles de couleur blanchâtres.	Des colonies grandes tailles bombées de couleurs blanchâtres.	Des colonies blanchâtres grandes tailles.	Des mycéliums blanc, marrons et noirs.	Mycéliums bombés de couleur vert et petites mycéliums noir et blanc.	Mycéliums de couleurs blanc, marron, et noir.	Mycéliums de couleurs blanc, marron, vert et noir.
TGEA [à 25°C pd01-05 jour].	Absence de culture.	Des colonies bombées avec couleur blanchâtres.	Des colonies blanchâtres petites tailles.	Absence de culture.	Des filaments noirs petites tailles.	Des filaments de couleur noir et des colonies blanchâtres.	Absence de culture.	Absence de culture.

**Tableau 13:** Aspects macroscopiques et microscopiques des analyses fongiques.

Milieu de culture	Aspect macroscopique	Aspect Microscopique	Espèces
<b>Czapek Simple</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig. 39:</b> Aspect macroscopique Des petits filaments de couleur marron.</p>	 <p><b>Fig. 40 :</b> Aspect microscopique Des thalle présente des micilium closonné.</p>	<i>Aspergillus glaucus</i>
<b>Czapek Concentré</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig 41 :</b> Aspect macroscopique des mycéliums Des petits filaments de couleurs noir et blanc.</p>	 <p><b>Fig. 42 :</b> Aspect microscopique Des filaments de couleur bleu.</p>	<i>Aspergillus flavus</i>
<b>Sabouraud</b>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.43 :</b> Résultat d'aspect macroscopique des mycéliums.  Une variation de couleur dans le mycélium : blanc, marron, vert et noir.</p>	 <p><b>Fig. 44:</b> Résultat d'aspect microscopique  Des filaments de couleur bleu.</p>	<i>Aspergillus fumigatus</i>

	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig. 45 :</b> Résultat d'aspect macroscopique des mycéliums.</p>	 <p><b>Fig. 46:</b> Résultat d'aspect microscopique</p>	<p><i>Penicillium notatum</i></p>
<p><b>TGEA</b></p>	 <p>Recto      Verso</p> <p><b>Fig.47 :</b> Résultat d'aspect macroscopique des mycéliums.</p> <p>Des petits mycéliums de couleurs blanchâtres.</p>	 <p><b>Fig. 48:</b>Résultat d'aspect microscopique</p> <p>Des filaments de couleur bleu.</p>	<p><i>Aspergillus niger</i></p>

### V.3 Paramètres physico-chimiques

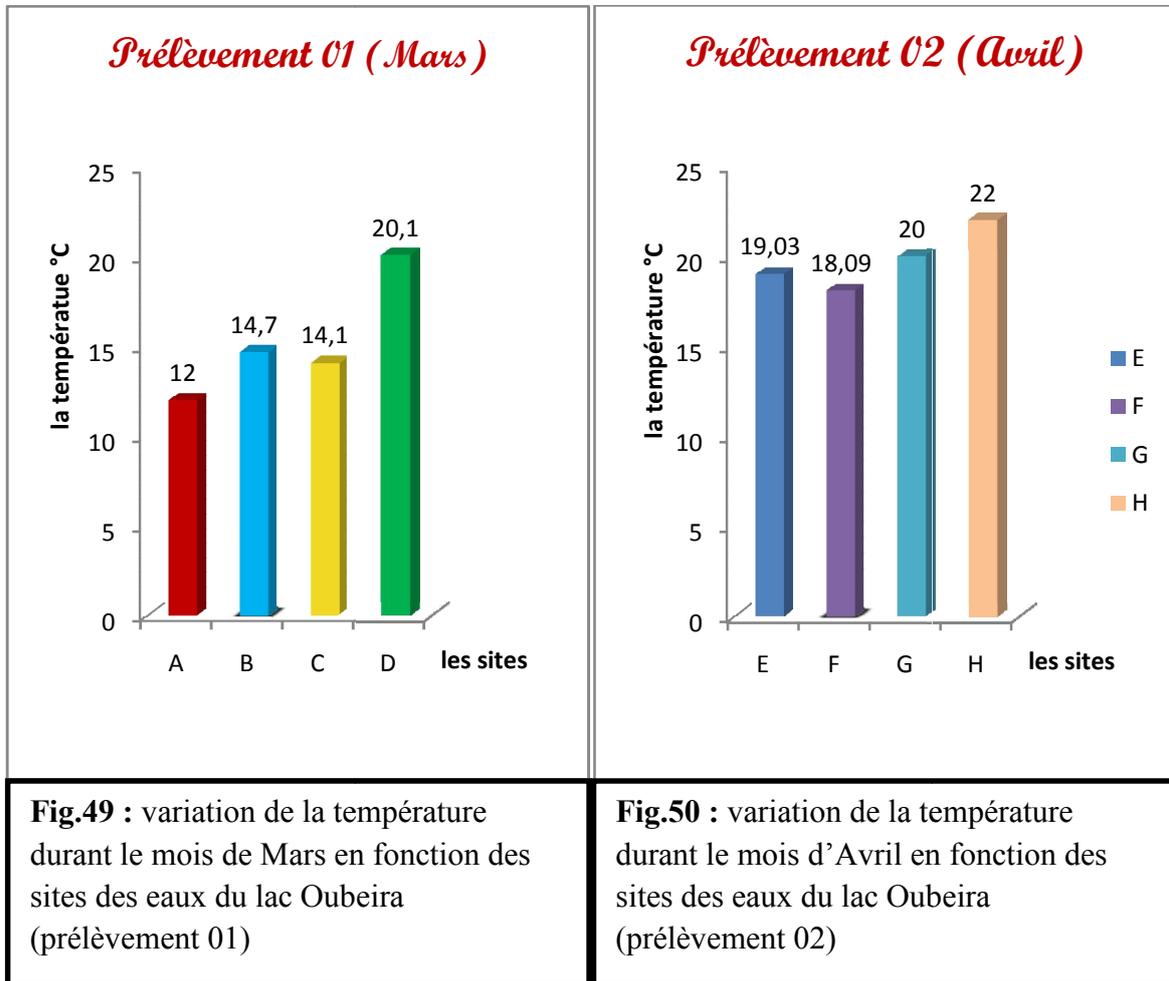
Notre travail a été réalisé au niveau de la station d'épuration de Guelma durant deux mois (Avril et Mai) pour déterminer les paramètres physicochimiques mentionnés dans le tableau.

**Tableau 14** : les différents données des paramètres physico-chimiques des prélèvements des sites du lac Oubeira.

	Prélèvement 01				Prélèvement 02			
	Site A	Site B	Site C	Site D	Site E	Site F	Site G	Site H
<b>Température</b>	12	14.7	14.1	20.1	19.03	18.9	20	22
<b>Conductivité <math>\mu\text{s}/\text{cm}</math></b>	668	355	358	350	375	435	377	365
<b>Turbidité</b>	333	312	322	345	298	355	318	328
<b>Matières en suspensions (MES) (mg/l)</b>	52	100	44	64	572	1160	24	60
<b>Potentiel hydrogène (pH)</b>	11.33	12	9.61	7.11	13	6.51	10.24	9.12
<b>Oxygène dissous (mg/l)</b>	0.20	0.22	0.17	0.10	0.18	0.13	0.23	0.11
<b>Matières organiques (MO) (mg/l)</b>	6.5	7	6.8	7.3	6.7	7.5	7.1	7.7
<b>Calcium (mg/l)</b>	28.50	30.01	31.88	28.13	27.62	29.89	25.25	30.96
<b>Magnésium (mg/l)</b>	7.91	9.08	8.71	7.22	7.03	8.60	7.41	8.15
<b>Chlorure (mg/l)</b>	45.8	50.7	48.9	41.2	55.3	43.6	46.1	57.5
<b>Demande chimique en oxygène (DCO) (mg/l)</b>	18.4	55.2	46	55.2	312.8	662.4	46	36.8

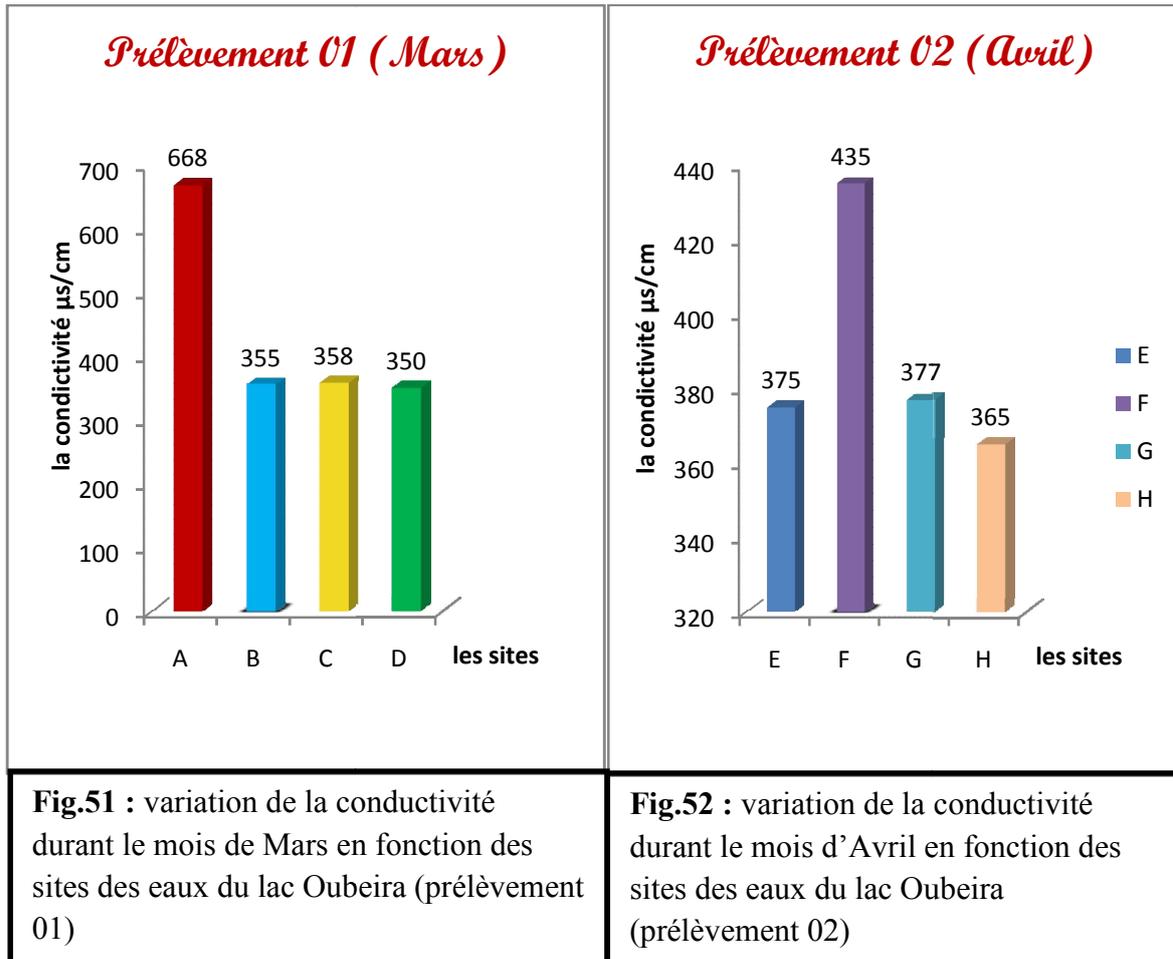
## V.3.1 Paramètres physiques

## ➤ Température



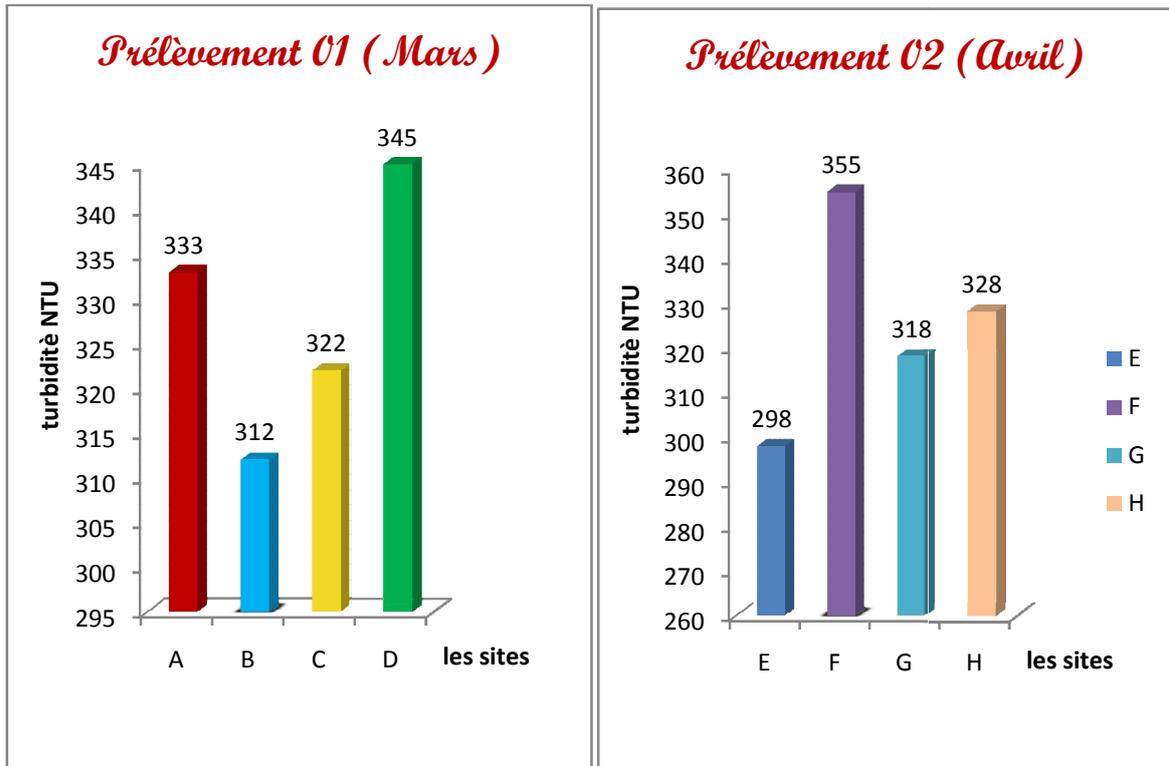
Les valeurs de la température variée d'un site à l'autre ; ou la plus élevée a été enregistré au niveau du site D(20.1°C) et la plus bas au niveau du site A (12°C) pour le premier prélèvement, par contre pour le prélèvement 02 la plus élevée au niveau du site H (22°C) et la plus bas a été enregistré au niveau du site F (18.09°C), ou la moyenne entre les sites est 17.50°C ; d'après l'organisation mondiale de la santé (OMS) on remarque que la température est normale dans les deux prélèvements.

➤ La Conductivité



Les valeurs la conductivité variée d'un site à l'autre ; ou la plus élevée a été enregistré au niveau du site A (668µs/cm) et la plus bas au niveau du site A (350µs/cm) pour le premier prélèvement, par contre pour le prélèvement 02 la plus élevée au niveau du site F (435µs/cm) et la plus bas a été enregistré au niveau du site H (365µS/cm), avec une moyenne entre les sites est (668µs/cm) ; d'après l'organisation mondiale de la santé (OMS) on remarque que la concentration très forte car sont en contact avec des roches très solubles chargées en sels minéraux.[4]

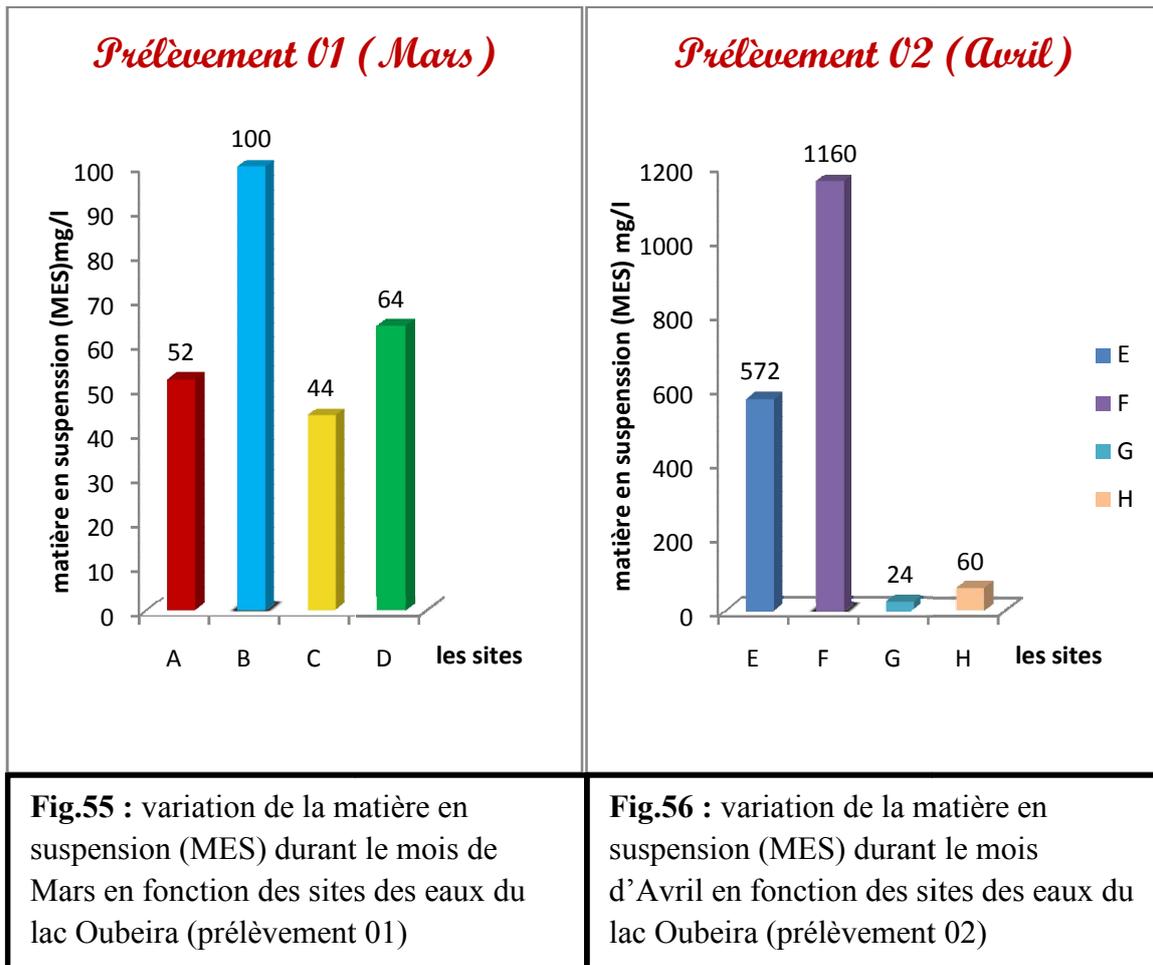
## ➤ Turbidité



**Fig.53** : variation de la turbidité durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.54** : variation de la turbidité durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

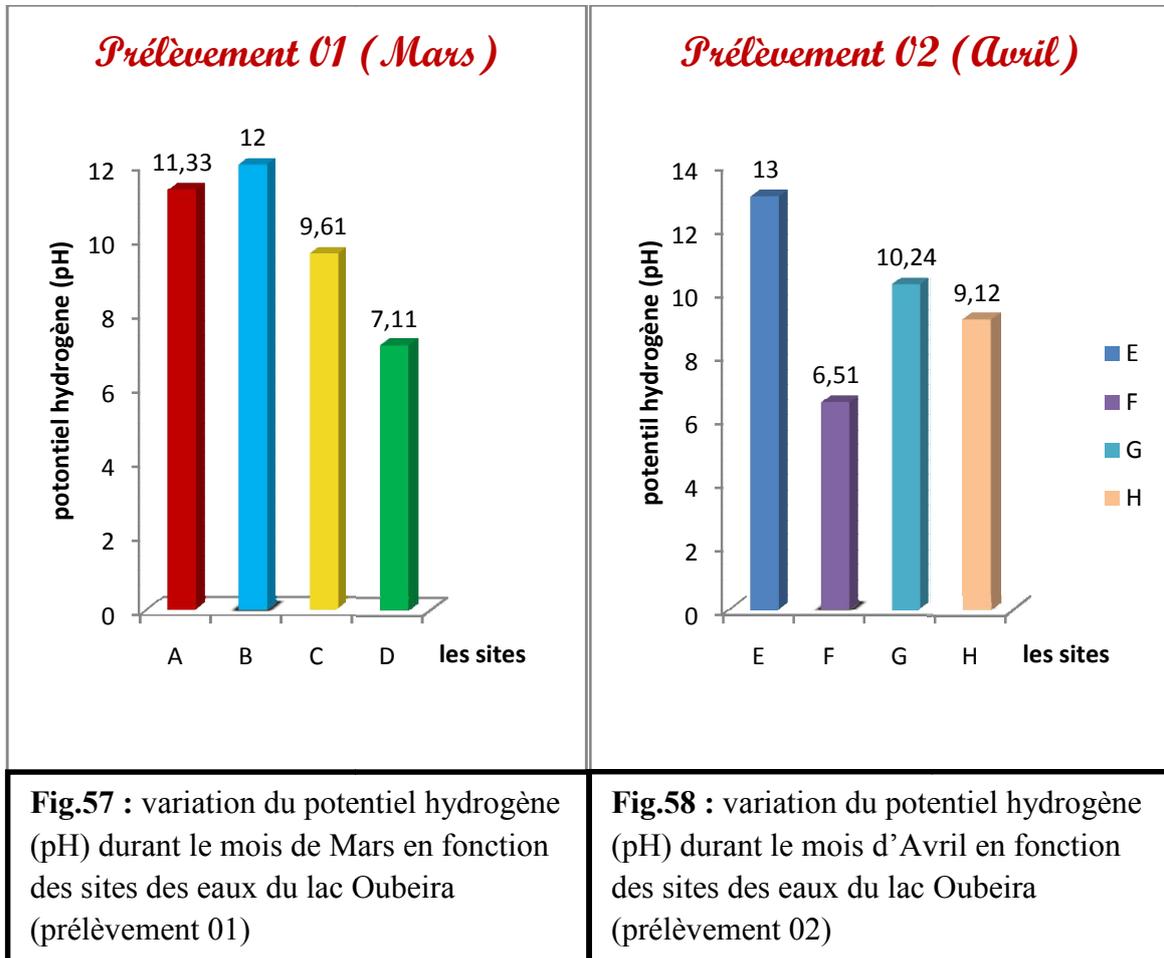
Les valeurs de la turbidité variée dans les huit sites avec une petite différence de 57mg/l entre le minimale et la maximale turbidité ; dont la plus élevée a été enregistré au niveau du site F(355NTU) et la plus bas au niveau du site E (298NTU) pour le prélèvement 02, et pour le prélèvement 01 les valeurs sont très proches entre 312NTU du site B et 345NTU du site D. d'après 'organisation mondiale de la santé (OMS) ont constaté que les eaux du lac Oubeira sont polluées et trouble.[34].

➤ **Matières en suspensions (MES)**

La valeur maximale de la matière en suspension (MES) est enregistrée au niveau du site F (1160mg/l) c'est très élevée peut être causé par les pluies, et la plus faible au niveau du site G (24mg/l)d'après les résultats on remarque qu'il ya une variation dans les valeurs de la matière en suspensions avec une moyenne de (260mg/l)qui dépasse les normes de l'organisation mondiale de la santé (OMS).[34].

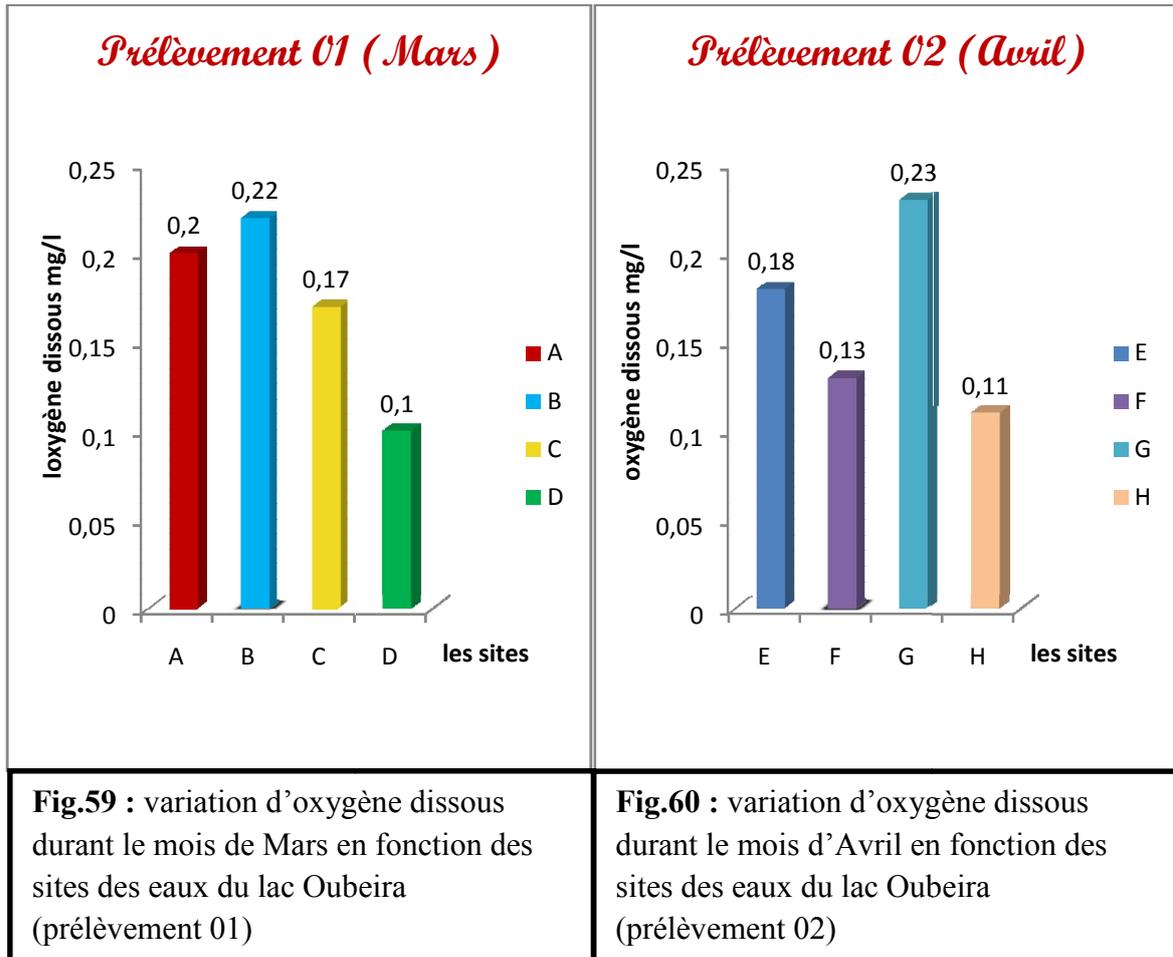
## V.3.2 Les paramètres chimiques

## ➤ Potentiel hydrogène (pH)

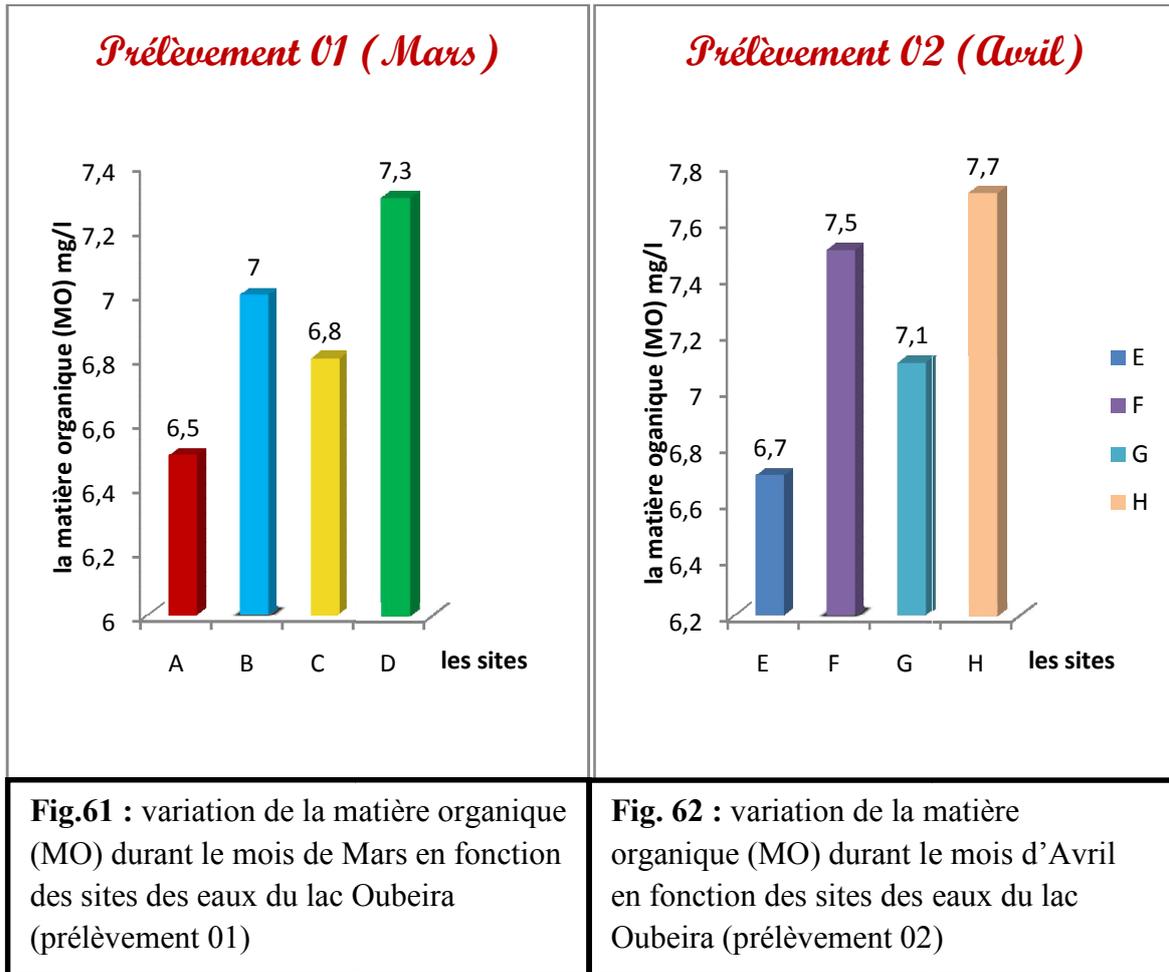


On remarque qu'il y a une augmentation dans les valeurs du pH durant le mois de Mars par contre il y a une dans les valeurs durant le mois d'Avril qui explique leur influence sur la photosynthèse. [33].

## ➤ Oxygène dissous

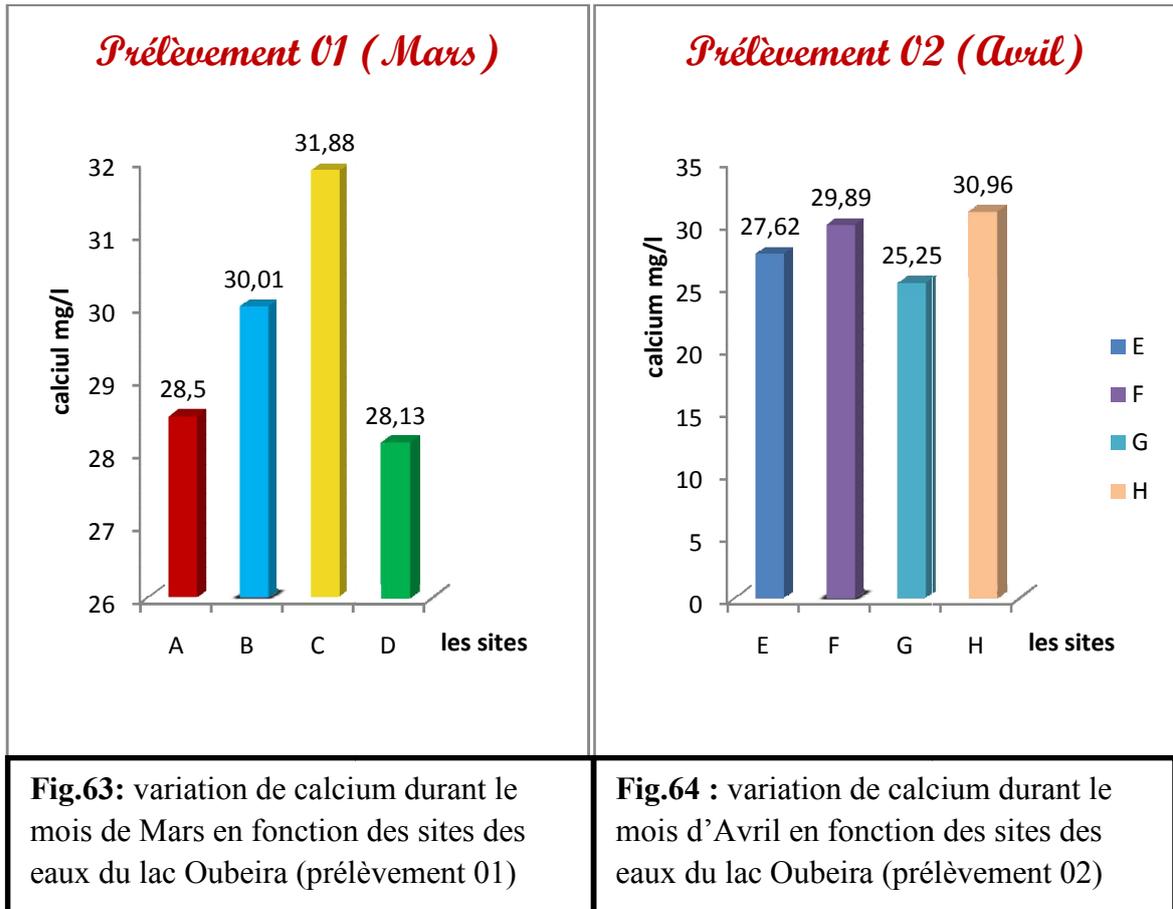


Le taux d'oxygène le plus élevé a été enregistré au niveau du site G (0.23mg/l) et le plus bas au niveau du site D (0.1mg/l), avec une moyenne de 0.17 mg/l qui traduit la présence de la matière organique qui permet le développement des plantes aquatiques et les algues dans les eaux du lac Oubeira. [35]

➤ **Matières organiques (MO)**

La matière organique variée d'un site à autre ; la quantité la plus élevée a été enregistré au niveau du site D(7.3mg/l) et la plus bas au niveau du site A (6.5) pour le prélèvement 01, et pour le prélèvement 02 la plus élevée au niveau du site H (7.7) et la plus bas a été enregistré au niveau du site E(6.7), ce qui explique les activités humaines et les matières susceptible d'être rencontrées dans les eaux qui sont dues à la décomposition d'origine animale ou végétale, élaborés sous l'influence des microorganismes. [34]

## ➤ Calcium

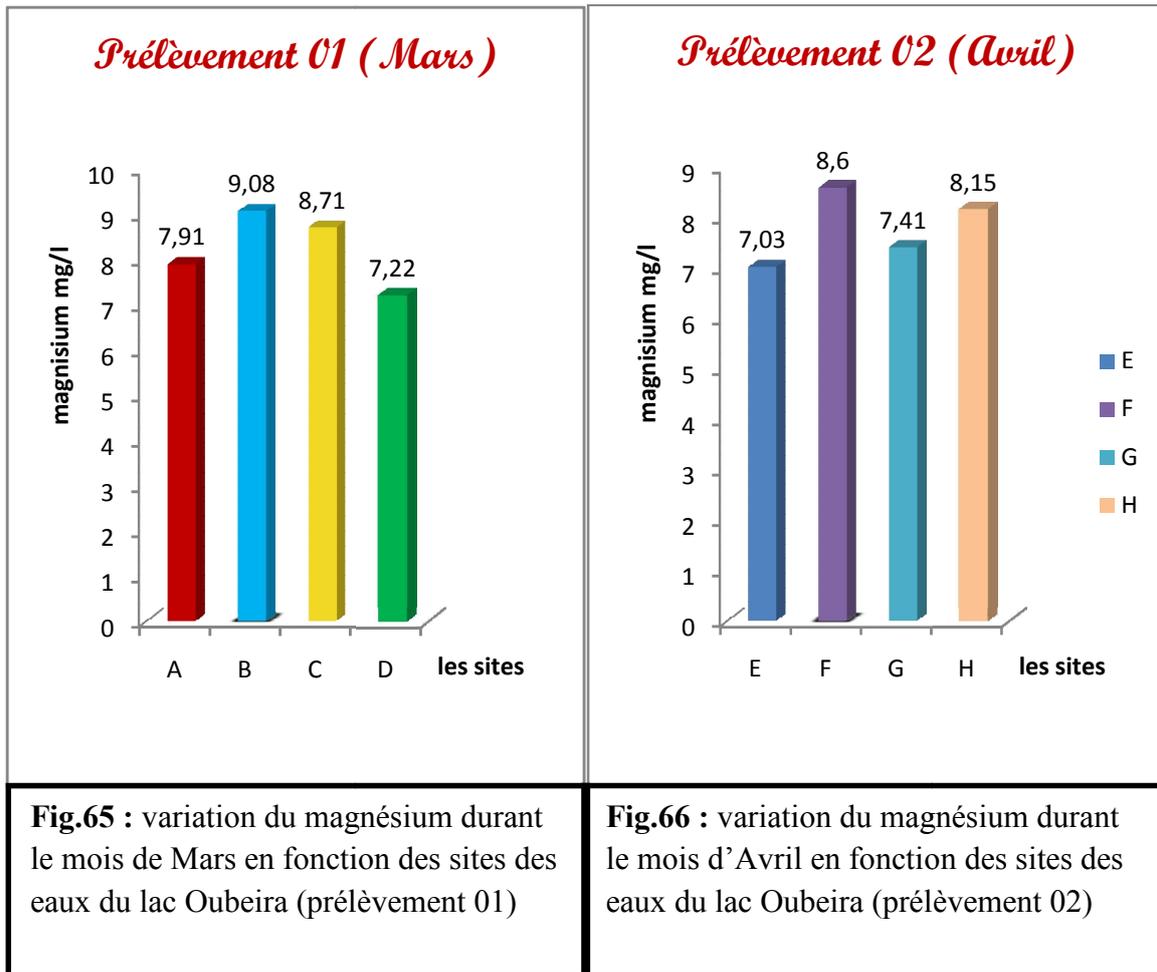


**Fig.63:** variation de calcium durant le mois de Mars en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 01)

**Fig.64 :** variation de calcium durant le mois d'Avril en fonction des sites des eaux du lac Oubeira (prélèvement 02)

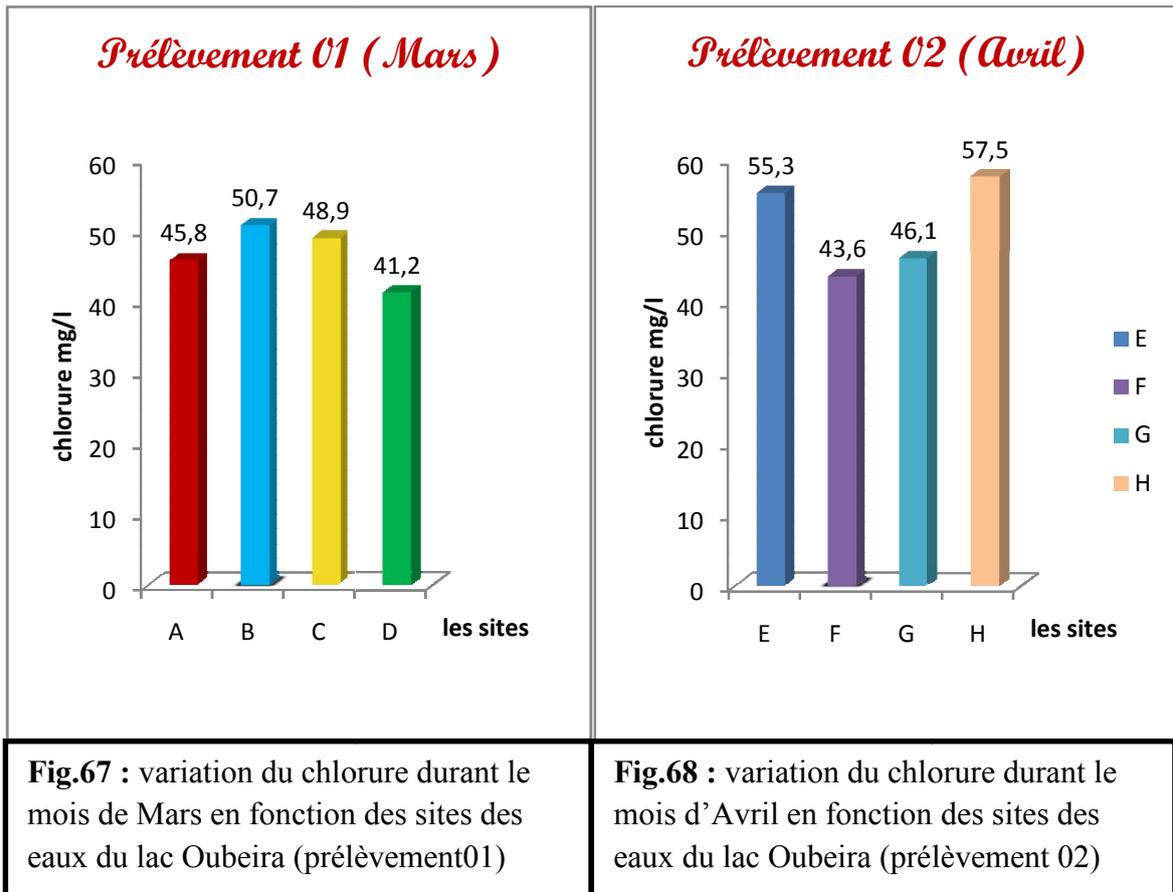
Les valeurs de calcium variée dans les huit sites des deux prélèvements; dont la plus élevé a été enregistré au niveau du site C(31.88mg/l)durant le mois de Mars et la plus bas au niveau du site G (25.25mg/l)durant le mois d'Avril , avec une moyenne de (29.03mg/l) ; ce qui explique leur influence sur la dureté de l'eau. [34]

## ➤ Magnésium



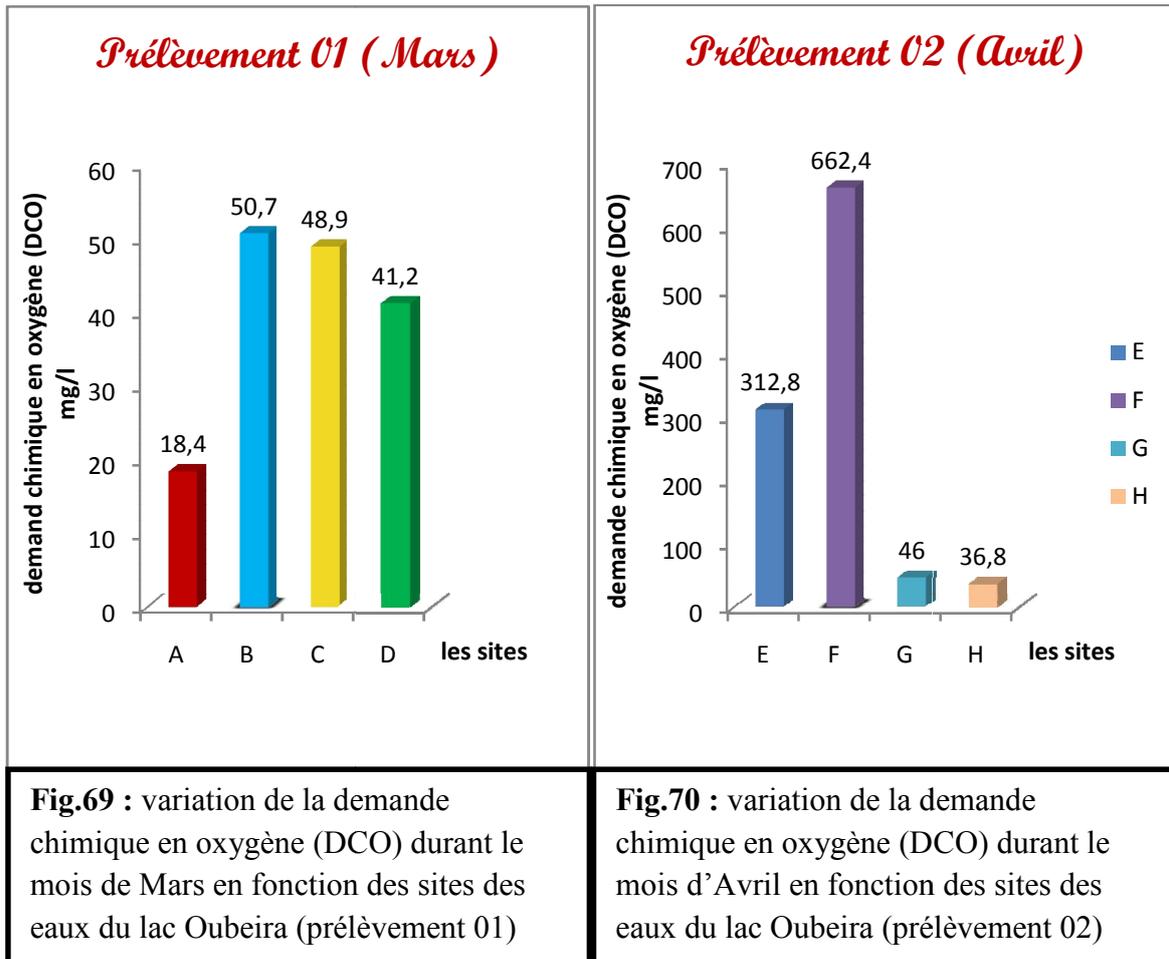
Les valeurs de magnésium variée dans les huit sites des deux prélèvements; dont la plus élevé a été enregistré au niveau du site 02 (9.08mg/l) et la plus bas au niveau du site 05 (7.03mg/l) avec une moyenne de (8.23mg/l),cette variation explique l'existence des roches sédimentaires rencontrées par les eaux lors de l'écoulement du Lac Oubeira. [34]

## ➤ Chlorure



Les valeurs de chlorure variée dans les huit sites des deux prélèvements; dont la plus élevée a été enregistrée au niveau du site H(57.5mg/l) et la plus basse au niveau du site D (41.2mg/l) avec une moyenne de (48.13mg/l). D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS) on remarque que ces valeurs sont élevées et dépassent les normes normales des eaux. [34]

➤ Demande chimique en oxygène (DCO)



Les sites présentent des valeurs variantes entre 18.4mg/l - 57.5mg/l avec une moyenne de 45.21mg/l ce qui explique la présence des composés azotés provenant des rejets industriels, leur décomposition par des bactéries nitrifiants. [35]

### Discussion générale

Lac Oubeira fait partie du complexe d'El Kala sont des zones humides se caractérisent par sa faune et flore diversifiées malheureusement sont touchés par une double pollution chimique par la présence de plusieurs types d'éléments toxiques leur origine les déchets industriels tels que la matière en suspension, et autre bactériologique par l'existence de plusieurs genres pathogènes responsables de maladies transmissibles graves.

D'après notre étude le lac Oubeira est subdivisé en 4 sites selon la situation géographique ou on remarque les points communs dans la forte concentration des sites :

**Site 1 :** présente une forte concentration de deux éléments conductivité et la turbidité ce qui explique la dégradation énorme de la matière organique qui influence directement sur la minéralisation.

**Site 2, 5 et 6 :** la concentration de la demande biochimique en oxygène est élevée ce qui traduit l'existence de plusieurs types de bactéries qui sont aérobies ou leur type respiratoire nécessite la présence d'oxygène tel que *E. coli* responsable de l'intoxication alimentaire et *Salmonella paratyphi* la fièvre paratyphoïde.

**Site 3, 4 et 8 :** une forte concentration de la matière organique traduit l'existence de plusieurs espèces fongiques telles que *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *penicillium notatum*, qui élaborent des enzymes de dégradation pour avoir leur développement.

Le lac Oubeira est une zone humide très importante en Algérie présente, avec l'ensemble du complexe lacustre du parc national d'El-kala, des valeurs écologiques et des richesses naturelles considérables à l'échelle mondiale.

L'objectif principal de notre travail est d'évaluer le risque de contamination des eaux du lac Oubeira à partir des analyses bactériologiques et physico-chimiques.

Les résultats ont révélés la présence d'une forte concentration de deux éléments conductivité et turbidité au niveau du site 1, une concentration élevée du magnésium site 2 chlorure, calcium au niveau du site 8 exprime un milieu favorable pour le développement d'un taux important de bactéries pathogènes tel que (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*) d'autre d'origine fécale par la présence des *E.coli*, et d'autres fongiques qui peuvent être toxiques (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus glaucus*, *pinicilium notatum* ).

À la lumière des résultats obtenus, on peut distinguer que l'eau du lac Oubeira est polluée. Donc la consommation des ces eaux capable de provoqué des grands problèmes sanitaires.

Pour terminer notre travaille on suggérant d'autre perspectives tel que :

-Utilisation des stations d'épuration.

-sensibiliser les gens pour l'utilisation des eaux non contaminé pour l'irrigation.

- [1] -Rodier .J. Legube. B., Marlet. N., et coll, (2009). L'analyse de l'eau. 9ème édition. Dunod. Paris. P 1579.
- [2]- Rejsek.F, (2002).Délarras, (2008). Analyse des eaux : technique et aspects réglementaires Scérène CRDP Aquitaine. 358p.
- [3] - MESSERER .Y. (1999). Etude morphométrique et hydrologique du complexe lacustre d'El Kala (cas du lac Mellah et du lac Oubeïra). Magister. (Université d'Annaba).
- [4] - Anonyme fiche descriptive sur les zones humides ramsar (2003)
- [5] - Light foot Nigel Francis. (2002). Analyses microbiologique des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité. Edition Tec et Doc. P : 87-134.
- [6] - Delarras. (2000). Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique. Gaetanmoriu éditeur. P : 117-136.
- [7] - Delarras, Camille. (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation, prélèvement, analyses. Edition Tec et Doc, Edition médicales nationales P : 65-102.
- [8] - Guiraud J. Pierre. (2003) Microbiologie alimentaire. RIADunod. P : 359-722.
- [9]- Light foot Nigel Francis. (2002). Analyses microbiologiques des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité. Edition Tec et Doc. P : 87-134.
- [10]- C.Ganet, G.Fessy, O.Rode, Api la référence mondial en identification, Edition Biomérieux
- [11] - Jean Rodier et coll. (2005). L'analyse de l'eau eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8eme édition. Dunod. P : 749-847.
- [12] - Arnaud Delahyr, Api Staph.
- [13] -Roux. M, (2003) TP de microbiologie : Analyse de l'eau.Novello Célia. (3).1-9
- [14] - Bourgeois et Leveau, 1980 (Bourgeois C.M. et Leveau .J. Y, (1980).Technique bactériologique. *Doin*.335p)
- [15] - Anonyme, qualité physicochimique et chimique d'eau de surface cadre générale (novembre 2005) p5

- [16] - P.hraven, All. Environnement, traduction de la 6eme edition americaine par marie-pascal colace, anne hancock, guylemperiere, chapitre, 22 la pollution d eau p551
- (17) Rodier J. (1996). - L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eau résiduaire, eaux de mère. Edition DUNOD, Paris. p23-1068
- [18] - DE VILLERSI, SQUILBIN M., (2005). -Qualité physicochimique et chimique des eaux de surface. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement. p16
- [19] - Lycée Val de Garonn TP de chimie : Alcalinité d'une eau année 2010-2011
- [20]- Rodier.J (1996). L'analyse d'eau : eaux naturelles, eaux résiduaire, eaux de mer. 8eme édition. Dunod. P : 749-847
- [21]-Zehaira. Boudjadi, et Nawel. djebbari, Mourad. Bensouilah, l'infection de l'anguille *Anguilla anguilla*.L, 1758 par le parasite *Anguillicolacrossus* Kuwahara, niimi et itagaki dans les zones humides de El kala. Université Badji Mokhtar annaba.
- [22]-Arrêté du 11 janvier (2007) relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique
- [23]-AROUYA.K, (2011), pollution des eaux impact des eaux usées sur la qualité des eaux de surface p25-29.
- [24] - Anonyme La « Guerre de l'eau » : nouveau moyen de pression économique pour demain? (2009) p2
- [25]-Prescott. Harley. , Klein. (2010). Microbiologie .2<sup>ème</sup> Edition .de boect. P : 1052
- [26] - Etude comparative entre le traitement des eaux usée par boue activée KarimanMerzougui (2011) p7
- [27] - L. R. P.BUTLER D.BRINK The determination of magnesium calcium, potasium, soduim, copper and iron in watter samples by atomic absorption spectrophotometer p 17-152)
- [28] - Article Commissariat général au développement durable . Service de l'observation et des statistiques Études & documents n°13 novembre (2009)
- [29] -Thèse de doctorat université bucares spécialité pathologie , mycologique, génétique et nutrition institut nationale polytechnique de Toulouse Cristina Tabuc (2007)

[30] - Amirouche N, bouguedoura N, hadj-arab H. botanique (licence science de la nature et de la vie) p30

[31]-<http://www.installationsclassees.developpement-durable.gouv.fr/Principaux-polluants.html> visité le 06/03/2015

[32]-<http://www.assemblee-nationale.fr/12/rap-off/i2327-t1.asp> visité le

[33]-<http://www.blog.saeed.com> visité le 23/03/2015

[34]-[http : www. futura-sciences.com/fr/definition/t/developpement-durable-2/d/demande-chimique –en-oxygene\\_6372](http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/developpement-durable-2/d/demande-chimique-en-oxygene_6372) visité le 25/03/2015

[35]-<http://bv.alloprof.qc.ca/science-et-technologie/la-terre-et-l%27espace/les-caracteristiques-generales-de-la-terre/l%27hydrosphere/la-contamination-de-l%27eau.aspx> visité le 02/04/2015

[36]-<http://www.ecotoxicologie.fr/classement.php> visité le 12/04/2015

[37]-<http://www.ajol.info/index/ijbcs/article/viewFile/88482/78094> visité le 16/04/2015

[38]- [http://www.arnobio2.com/techniques/20-e.pdf\(24/05/2011\)](http://www.arnobio2.com/techniques/20-e.pdf(24/05/2011)) visité le 20/04/2015

[39]

[http://www.agencessbsl.gouv.qc.ca/Telechargements/Sante\\_publicque\\_et\\_services/Sante\\_environnementale/colifecaux.pdf](http://www.agencessbsl.gouv.qc.ca/Telechargements/Sante_publicque_et_services/Sante_environnementale/colifecaux.pdf) visité le 07/04/2015

[40]-[http://www.troussedeslacs.org/pdf/fiche\\_oxygene.pdf](http://www.troussedeslacs.org/pdf/fiche_oxygene.pdf) visité le 02/05/2015

[41]- [http://nte-serveur.univ-lyon1.fr/hcl2004/CNR\\_staphylocoques/](http://nte-serveur.univ-lyon1.fr/hcl2004/CNR_staphylocoques/) visité le 02/05/2015

[42]-<http://www.labo>

[abioc.fr/abioc/base\\_documents/pdfs/Germes/Clostridium%20perfringens.pdf](http://abioc.fr/abioc/base_documents/pdfs/Germes/Clostridium%20perfringens.pdf) visité le 23/04/2015

[43]-<http://macherkimohamed.centerblog.net/12.html> visité 04/03/2015

[44] - <http://lucid-state.org/forum/archive/index.php/t-10680.html> visité le 02/04/2015

[45] -Thèse de doctorat université bucares spécialité pathologie , mycologique, génétique et nutrition institut nationale polytechnique de Toulouse Cristina Tabuc (2007)

[46]-<http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dico/d/medecine-bacterie-101/> visité le 18/03/2015

[47]-<http://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/viewFile/88482/78094> visité le 19/03/2015

[48]  
[http://supprem.unige.ch/bricks/unisi\\_b20\\_v1/ressources\\_et\\_guides/chapitres/lecture/pollution/Chap32.html](http://supprem.unige.ch/bricks/unisi_b20_v1/ressources_et_guides/chapitres/lecture/pollution/Chap32.html) visité le 08/02/2015

[49]-[http://www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests\\_microbiologie2.htm](http://www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm) visité le 22/05/2015

[50]-[larhyss.net/pdf/journal/12/2.ghazali\\_et\\_zaid.12.pdf](http://larhyss.net/pdf/journal/12/2.ghazali_et_zaid.12.pdf) visité le 27/05/2015

[51]- [dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/995/8/CHAPITRE04.pdf](http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/995/8/CHAPITRE04.pdf) visité le 27/05/2015

[52]- [www.eaureunion.fr/fileadmin/user\\_upload/Etudes/ETUDE\\_00726.PDF](http://www.eaureunion.fr/fileadmin/user_upload/Etudes/ETUDE_00726.PDF) visité le 30/05/2015



## Annexes

### Annexe I : préparation des Milieux de culture et réactifs

#### 1 - Milieu de culture :

➤ **bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre (BCPL)** : il permet de rechercher et de dénombrer les coliformes, par la fermentation du lactose et la production de gaz.

- **Simple concentration :**

Peptone .....	5 g/l.
Extrait de viande .....	3 g/l.
Lactose .....	5 g/l.
Pourpre de bromocrésol.....	0.025 g/l.
Eau distillée.....	1000 g/l.

pH final = 6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

➤ **Czapeck Simple :**

NaoH3 .....	2g.
K2HPO4 .....	1g.
kCl .....	0.5g.
MgSO4, 7H2O .....	0.5g
FeSO4, 7H2O .....	0.01g
ZnSO4, 7H2O .....	0.005g
CuSO4, 7H2O .....	0.01g
Saccharose .....	30g
Agar .....	20g
Eau distillé .....	1000ml

➤ **Czapeck Concentré**

NaOH3 .....	30g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20g
KCl .....	10g.
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O .....	10g.
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O .....	0.2g.
Saccharose .....	30g.
Agar .....	20g.
Eaudistillé .....	1000ml

➤ **Bouillon nitrate réductase**

Infusion Cœur-cervelle.....	25.0g
Nitrate se sodium.....	10.0g
Eau distillée.....	1L

➤ **Milieu TSI**

Agar.....	12g
Extrait de boeuf.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	20g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
NaCl.....	5g
Glucose.....	1g
Citrate ferrique.....	3g
Thiosulfate de sodium.....	3g
Rouge de phénol.....	0.025g
Eau distillée.....	1000ml.

## Annexe II :

### ❖ Tableau de lecture de la galerie miniaturisée api 20E

			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA/Immédiat</b>	
IND	Tryptophane	Production d'indole	jaune	Marron foncé
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<b>VP1 + VP2 / 10 mn</b>	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
NO <sub>3</sub> -NO <sub>2</sub>	Tube GLU	Production de NO <sub>2</sub>	<b>NIT 1 +NIT 2 / 2-3 mn</b>	
		Réduction au stade N <sub>2</sub>	jaune	Rouge

❖ **Tableau de lecture de la galerie miniaturisée api staph**

<b>0</b>	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-
<b>GLU</b>	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune
<b>FRU</b>	D-fructose	Acidification à partir du carbohydrate		
<b>MNE</b>	D-mannose			
<b>MAL</b>	Maltose			
<b>LAC</b>	Lactose			
<b>TRE</b>	D-tréhalose			
<b>MAN</b>	D-mannitol			
<b>XLT</b>	Xylitol			
<b>MEL</b>	D-melibiose			
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium			
			Incolore/ rose	Rouge
<b>PAL</b>	$\beta$ -naphtyl ac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A + ZYM B / 10 mn	
			Jaune	Violet
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl Méthyl-carbonyl	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			Incolore/rose	Violet / rose
<b>RAF</b>	Raffinose	Acidification à partir du carbohydrate	Rouge	Jaune
<b>XYL</b>	Xylose			
<b>SAC</b>	Saccharose			
<b>MDG</b>	$\alpha$ -méthyl-D- glucosamine			
<b>NAG</b>	N-acétyl- glucosamine			
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rou ge
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/viol et

**Table de Mac Grady**

<b>2tubes par dilution</b>		<b>3tubes par dilution</b>					
Nombre caractéristiques	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

**5 tubes par dilution**

Nombre caractéristiques	Nombre de cellule	Nombre caractéristiques	Nombre de cellules	Nombre caractéristiques	Nombre de cellule	Nombre caractéristiques	Nombre de cellule
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0

120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

### Annexe III :

**Tableau : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.**

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

**Tableau : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique.**

Conductivité électrique (µs/cm)	Qualité des eaux	Classe
CE<400	Normale	1A
400<CE<750	Bonne	1B
750<CE<1500	Passable	2
1500<CE<3000	Médiocre	3

### I. Les appareils utilisés :

- Agitateur (ISO 9002).
- Balance analytique (BP 2215 SARORIUS).
- Bain marie (FALC M38545).
- Dissecteur (GL).

- Dispositif de filtration sous vide ou sous pression.
- Etuve (INCUCCELL).
- Multi paramètre.
- Microscope optique (MOTIC SFC-18).
- Oxymétrie (YSI550).
- pHmètre (HANNA 209).
- Turbidimètre (TN-100).
- Plaque chauffant (CERAN ISO 9000).
- Chronomètre numérique (NOVO).
- Autoclave (SANO clan K1-7-3).

## **II. Les matériels utilisés :**

- Anse de platine.
- Béchers.
- Boîte des pétris.
- Burettes.
- Capsule en porcelaine.
- Cuvette de verre incolore de 50 nm.
- Erlen-Meyer au col large
- Flacons en verre de 250 ml.
- Glacière.
- Lames et lamelles.
- Membrane de filtration.
- Papier hygiénique.
- Pipettes graduées (1 ml, 10 ml, 15 ml).
- Pipette pasteurs.

## **III. Matériels et réactifs des paramètres physicochimiques :**

### **I-1 Matériels**

- Dispositif de filtration (pompe à vide ou sous pression).
- Disques filtrants en fibre de verre (filtres de *Wattman*).
- Etuve réglable à 105-110°C et 175-185°C.
- Dessiccateur

- Flacons en verre à bouchon rodé de 150 ou 250 ml.
- Enceinte thermo statée (étuve) à 20°C, plus ou moins 1°C.
- Matériel nécessaire pour le dosage de l'oxygène (oxymétrie).
- Barboteur.
- Appareil à reflux composé d'un ballon à fond plat de 250 ml à col rodé et d'un réfrigérant adaptable réservé exclusivement à la détermination de le DCO.
- Spectrophotomètre.
- Béchers.
- Papier filtre.
- Pipetes gradées.
- Fiole jaugée 200ml.
- Appareil à distiller par entrainement de la vapeur.
- Verrerie.
- Autoclave.

## **I-2 Réactifs**

- Solution de chromate de potassium à 10%.
- Solution de nitrate d'argent N/10.
- Solution d'acide sulfurique à 50%.
- Solution de permanganate de potassium N/80 (1 ml de la solution N/80 correspond à 0,1g d'oxygène).
- Solution d'acide oxalique.
- e N/80 à partir d'une solution de N/10 récemment titrée.
- Solution d'EDTA N/50.
- Noir urochrome T.
- Indicateur coloré d'urochrome T.
- Solution tampon : Ammoniaque à 34%.
- Indicateur coloré d'hydroxyde de sodium à 2N.
- Solution de phénolphtaléine dans l'alcool à 0.5%.

-Eau permutée exempte d'anhydrique carbonique libre (par ébullition de 15 min).

-L'eau distillée.

-Eau de dilution.

-Eau d'ensemencement.

-Solution de sulfate d'argent  $\text{AgSO}_4$ .

-Solution de féronie.

- Solution de fer 0.7 g
- Eau permutée q.s. 100ml
- 1,10-phénanthroline 1.5g

-Sel de mohr (sulfate de fer et d'ammonium).

-Sulfate mercurique cristallisé

-Solution de salicylate de sodium.

- Solution tartrate.

-Solution Zambelli.

-Anti-mousse (silicone).

-Réactif Nasser.

-Acide ascorbique à 5%.

-Chlorure de potassium.

-Solution de molybdate d'ammonium.

-Réactif de phosphate.

-Solution de minéralisation.

-Persulfate de potassium 3g.

## Résumé

Le lac Oubeira présente, avec l'ensemble du complexe lacustre du parc national d'El kala, des valeurs écologiques caractérisé par la présence des plusieurs espèces rares, et des richesses naturelles considérables a l'échelle mondiale.

Notre étude a été basée sur deux types d'analyses physico-chimiques, et microbiologiques. Les résultats montrent la présence d'une forte concentration de deux éléments chimique conductivité et la turbidité au niveau de site 01, une concentration élevée de la demande biochimique en oxygène au niveau des sites 2 et 7. Se qui traduit l'existence de plusieurs types des bactéries pathogènes tel que *E. coli* et *Salmonella paratyphi*. Et autre espèces fongique responsable à des maladies respiratoire et cutanées (*Aspergillus niger penicillium notatum*).

**Mots clés :** Lac Oubeira, analyse microbiologique, analyse bactériologique. Les paramètres physico-chimiques

analyses physico-chimiques

## Abstract

The lake Oubeira with l'ensemble Lake Complex National Park d'El kala, ecological characterized by the presence of several rare species, and considerable natural resources World al échelle.

Our study was based on tow types of physico-chemical, and analysis, microbiological. The results show the presence of a high concentration of two chemical elements conductivity and turbidity in site 1, a high concentration of the biochemical oxygen demand in the site 2 and 7. This reflects the existence of several types of pathogenic bacteria like *E. coli* and *Salmonella paratyphi*. And other fungal species responsible for respiratory and skin diseases (*Aspergillus niger, penicillium notatum*).

**Keywords:** Lake Oubeira, analysis bacteriological, Analysis microbiological, analysis physico-chemical.

## المخلص

تعتبر بحيرة اوبيرة احدى بحيرات الحظيرة الوطنية للقاله تتميز بقيمة بيئية و ثروة طبيعية و ذلك لوجود العديد من الانواع النادرة.

واستنادا على التحاليل الفيزيوكيميائية، البكتيريولوجية و الميكروبيولوجية أظهرت النتائج وجود نسبة عالية من العنصرين الكيمايين الموصلية والعكارة على مستوى الموقع 1 ، تركيز عالي من الأوكسجين الحيوي الممتص في الموقع 2 و 7. الذي يعكس وجود عدة أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض مثل *E. coli* . *Salmonella paratyphi* والأنواع الفطرية الأخرى المسؤولة عن أمراض الجهاز التنفسي والجلد (*Aspergillus niger , penicillium notatum*).

**الكلمات المفتاحية:** بحيرة اوبيرة ، التحاليل البكتيريولوجية، التحاليل الميكروبيولوجية، التحاليل الفيزيو كيميائية.