

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 D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement : Microbiologie de l'environnement

Thème

---

**Contribution à l'étude physico-chimique et bactériologique de l'eau des  
zones humides urbaines de la wilaya d'Annaba : Cas du marais de  
Boussedra**

---

Présenté par : OUGHIDNI Selma  
SEBTI Bouchra

Devant le jury composé de :

Président	: M <sup>me</sup> TORCHE Asma	M.C.B	Université de Guelma
Examineur	: Mr ATOUSSI Sadek	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur	: Mr HOUHAMDI Moussa	Pr.	Université de Guelma
Co-encadreur	: M <sup>me</sup> BOUDRAA Wahiba	Doctorante	Université de Guelma

Juin 2015



## Remerciements

*Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu le tout puissant de nos avoir guidés durant toutes ces années et nous a permis de réaliser ce travail en nous donnant la force, la patience et la volonté.*

*Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à monsieur professeur HOUHAMDJ Moussa qui a été à l'origine de ce travail, nous a donné l'honneur d'encadrement, pour son aide, ses conseils et son soutien pour la réalisation de ce travail*

*Merci pour votre détente et votre modestie qui ont rendu le travail très facile.*

*Ainsi, nos sincères remerciements à la co-encadreur de mémoire BOUDRAA. W qui nous a donné la chance d'effectuer ce travail dans d'excellentes. Merci d'avoir toujours pris le temps de discuter et d'avoir apporté votre regard à chaque étape de ce travail. Merci pour votre gentillesse, votre soutien, vos encouragements, merci pour les relectures et les inoubliables moments de joie.*

*Nous remercions sincèrement tous les membres de jury ; M<sup>me</sup> TORCHE.A de nous avoir fait l'honneur de présider le jury et évaluer ce modeste travail, Mr ATOUSSI.S d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont à tous les enseignants et les responsables de laboratoire du Département de Biologie de l'Université de Guelma.*

*Merci à toutes les personnes qui  
Nos ont aidé de près ou de loin dans la réalisation  
de ce mémoire.*

*A tous nous disons : Mille fois merci.*



## *Sommaire*

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des siges et d'abréviations**

**Introduction Générale.....1**

### **Chapitre I : Etats des zones humides urbaines**

I.1 Définition d'une zone humide .....	4
I.2 Les différents types de zones humides .....	4
I.2.1 Les zones humides en Méditerranée .....	4
I.2.2 Les zones humides en Annaba .....	5
I.3 Fonction des zones humides.....	6
I.4 Les principaux problèmes de l'environnement.....	6
I.4.1 Les menaces sur la biodiversité.....	7
I.4.1.1 Le taux d'accroissement et les activités humaines .....	7
I.4.1.2 La pollution .....	8
I.4.1.3 L'introduction de nouvelles espèces .....	8
I.4.2 La pollution des eaux .....	8
I.4.2.1 La pollution domestique et urbaine.....	9
I.4.2.2 La pollution d'origine agricole .....	9
I.4.2.3 L'eutrophisation.....	9
I.4.2.4 La pollution d'origine naturelle.....	10
I.4.2.5 La pollution d'origine industrielle.....	10
I.4.3 Différents types de pollution dans la wilaya d'Annaba .....	10
I.5 Impacte des activités humaines sur la qualité de l'eau.....	11
I.6 Importance de l'eau .....	12
I.6.1 Quantité des eaux .....	12
I.6.2 Qualité des eaux .....	12
I.6.2.1 Que veut –on dire par Qualité de l'eau ?.....	12
I.6.2.2 La qualité des cours d'eau.....	13
a. Les paramètres physico-chimiques .....	13
b. Les paramètres biologiques .....	13

## Chapitre II: Présentation de zone d'étude

II. 1 Localisation et présentation de la zone d'étude : le marais de Boussedra.....	14
II.1.1 Situation géographique .....	14
II.1.2 Donnés géologiques.....	15
II.1.3 Réseaux hydrographique d'Annaba .....	16
II.1.3.1 Régime hydrique de Boussedra .....	18
II.1.4 Données Climatologique.....	18
II.1.4.1 La température .....	18
II.1.4.2 Précipitations .....	18
➤ Humidité .....	19
➤ Les vents .....	19
II.1.4.3. Synthèse climatique .....	19
II.1.5 Faune et flore .....	21
II.1.5.1 La flore .....	21
II.1.5.2 Faune .....	21
II.1.6 Fonctions de la zone humide.....	22
II.1.6.1 Fonctions hydrologiques.....	22
II.1.6.2 Fonctions biologiques .....	22
II.1.6.3 Fonctions socio-économiques.....	22

## Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1 Échantillonnage .....	23
III.1.1 Matériel d'échantillonnage.....	23
a. L'analyse bactériologique .....	23
b. L'analyse Physico-chimique.....	23
III.1.2 Mode de prélèvement .....	23
III.1.3Enregistrement et étiquetage des échantillons.....	24
III.1.4Transport et conservation de l'échantillon avant l'analyse.....	24
III.2 Nature et période de prélèvement.....	25
III.3 Caractéristiques des points de prélèvement.....	26
III.4 Méthodes d'analyses physicochimiques .....	26

III.4.1 Mesures <i>in situ</i> .....	26
III.4.1.1 La couleur apparente .....	27
III.4.1.2 La température .....	27
III.4.1.3 Le pH .....	28
III.4.1.4 La conductivité électrique .....	28
III.4.1.5 L'oxygène dissous.....	29
III.4.2 Mesures au laboratoire.....	30
III.4.2.1 Détermination des matières en suspension (MES) .....	30
III.4.2.2 La demande chimique en oxygène (DCO) .....	30
III.5 Analyses bactériologiques .....	31
III.5.2 Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C (germes totaux) ....	31
III.5.3 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale .....	33
III.5.3.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux .....	34
III.5.4 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux .....	37
III.5.5 Recherche et dénombrement des spores des anaérobies sulfto-réducteurs (ASR)...	38
III.6 Recherche des germes pathogènes .....	41
A. Recherche des Salmonelles .....	41
B. Recherche des Shigelles .....	42
C. Recherche des Staphylocoques .....	45
D. Recherche de <i>Pseudomonas</i> .....	47
E. Recherche de <i>Vibrio</i> .....	48
III. 7 Identification.....	50
III.7.1 Examen macroscopique des caractères cultureux .....	50
III.7.2 Examen microscopique.....	51
III.7.3 Examens liés aux caractères biochimiques.....	52
III.7.3.1 L'API 20 E .....	52
III.7.3.2 API 20 NE.....	52

## Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1 Les paramètres physicochimiques mesurés <i>in situ</i> .....	53
IV.1.1 La couleur apparente .....	53
IV.1.2 La température de l'eau .....	53
IV.1.3 Le pH .....	54
VI.1.4 La conductivité électrique .....	54
VI.1.5 Matières en suspension (MES) .....	55
IV.1.6 Evolution de DCO .....	56
IV.2 Les analyses microbiologiques .....	57
IV.2.1 Recherche et dénombrement des germes totaux .....	57
IV.2.2 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale .....	58
IV.2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux.....	58
IV.2.2.2 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux .....	61
IV.2.3 Recherche et dénombrement des spores des bactéries (ASR) .....	62
IV.2.4 Identification des colonies bactériennes .....	63
IV.2.4.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram.....	64
IV.2.4.2 Résultats d'identification biochimique .....	66
IV.2.4.3 Identification par la galerie biochimique classique .....	68
IV.2.4.4 Identification par les API systèmes .....	70
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	<b>72</b>

### Références bibliographiques

Annexes

Résumé

## *Liste des tableaux*

<b>N° de tableau</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>N° de page</b>
<b>01</b>	Moyenne des données météorologiques d'Annaba (1991-2012)	<b>19</b>
<b>02</b>	Présentation des sites et période de prélèvement.	<b>25</b>
<b>03</b>	Caractéristiques des stations de prélèvements	<b>26</b>
<b>04</b>	Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.	<b>27</b>
<b>05</b>	Classification des eaux d'après leur pH.	<b>28</b>
<b>06</b>	Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique.	<b>29</b>
<b>07</b>	Classifications des eaux d'après leur conductivité.	<b>29</b>
<b>08</b>	Caractères d'identification biochimique de <i>Shigella</i> .	<b>43</b>
<b>09</b>	Caractères biochimiques différentiels des différentes souches de <i>Shigella</i> .	<b>44</b>
<b>10</b>	Les principaux caractères discriminants permettant le diagnostic d'espèce de <i>Staphylococcus</i> .	<b>46</b>
<b>11</b>	Dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR/20 ml).	<b>62</b>
<b>12</b>	Aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées dans le marais Bousedra.	<b>64</b>
<b>13</b>	Résultats du profil biochimique des <i>Staphylococcus</i> isolés.	<b>66</b>
<b>14</b>	Résultats du profil biochimique des <i>Bacillus</i> isolés.	<b>67</b>
<b>15</b>	Résultats du profil biochimique des <i>Micrococcus</i> isolés.	<b>68</b>
<b>16</b>	Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.	<b>69</b>
<b>17</b>	Les espèces identifiées par l'API20E et l'API20NE	<b>70</b>



## *Liste des figures*

<b>N° de figure</b>	<b>Titre de figure</b>	<b>N° de page</b>
<b>01</b>	Le marché mondial 2005, en chiffres d'affaire, des pesticides par région et par catégorie de produits.	<b>09</b>
<b>02</b>	Localisation géographique du marais Boussedra (EL-Bouni –Annaba).	<b>14</b>
<b>03</b>	Vue satellitaire du marais Boussedra (Google Earth, 2015).	<b>15</b>
<b>04</b>	Coté Nord du marais Boussedra (Photo prise par SEBTI Bouchra le 01.04.2015).	<b>15</b>
<b>05</b>	Coté Sud du marais Boussedra (Photos prise par BOUDRAA Wahiba le 23.04.2013).	<b>15</b>
<b>06</b>	Situation géographique et esquisse géologique du territoire de la wilaya d'Annaba II.3 Données hydrologiques.	<b>16</b>
<b>07</b>	Réseaux hydrographique de la zone d'étude.	<b>17</b>
<b>08</b>	Situation de la station météorologique de la wilaya d'Annaba dans le climagramme d'Emberger.	<b>20</b>
<b>09</b>	Diagramme Pluvio-thermique de la région d'Annaba (1990-2013	<b>20</b>
<b>10</b>	Prélèvement de l'échantillon en Station 01 (Photo prise par OUGHIDNI Selma).	<b>24</b>
<b>11</b>	Prélèvement de l'échantillon en Station 02 (Photo prise par SEBTI Bouchra).	<b>24</b>
<b>12</b>	Recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à 37°C et 22°C dans l'eau (Rodier, 2009).	<b>33</b>
<b>13</b>	Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux ( <i>E.coli</i> ) dans les eaux.	<b>36</b>
<b>14</b>	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux.	<b>38</b>
<b>15</b>	Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito- réducteurs.	<b>40</b>
<b>16</b>	Protocole opératoire de la recherche de <i>Salmonella</i> dans les eaux.	<b>42</b>
<b>17</b>	Protocole de recherche de <i>Shigella</i> dans les eaux.	<b>45</b>
<b>18</b>	Protocole de recherche de <i>Staphylococcus</i> dans les eaux.	<b>47</b>

<b>19</b>	Protocole de recherche de <i>Pseudomonas</i> dans les eaux.	<b>49</b>
<b>20</b>	Recherche et identification de <i>Vibrio</i> dans les eaux.	<b>51</b>
<b>21</b>	Variations spatio-temporelles de la température de l'eau.	<b>53</b>
<b>22</b>	Variations spatio-temporelles du pH de l'eau de marais Boussedra.	<b>54</b>
<b>23</b>	Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau de marais Boussedra.	<b>55</b>
<b>24</b>	Variations des MES en mg/l de l'eau de marais Boussedra.	<b>55</b>
<b>25</b>	Variations de DCO en de l'eau de marais Boussedra.	<b>56</b>
<b>26</b>	Estimation de nombre des germes totaux à 22°C et à 37°C.	<b>57</b>
<b>27</b>	Dénombrement des coliformes totaux dans la station 01 et 02 par la méthode de NPP (Mars 2015).	<b>58</b>
<b>28</b>	Estimation des coliformes totaux/ml dans l'eau du marais Boussedra (février -Mars – Avril 2015).	<b>59</b>
<b>29</b>	Test de Mac Kenzie positif	<b>60</b>
<b>30</b>	Estimation des coliformes fécaux/ml dans l'eau de marais Boussedra (Février -Mars - Avril 2015).	<b>60</b>
<b>31</b>	Dénombrement des streptocoques fécaux dans la station 01 et 02 par la méthode de NPP (Avril 2015).	<b>61</b>
<b>32</b>	Estimations des streptocoques fécaux/ml (Février -Mars – Avril 2015).	<b>61</b>
<b>33</b>	Absence des ASR dans le prélèvement 01.	<b>62</b>
<b>34</b>	Dénombrement des ASR dans le prélèvement 02.	<b>62</b>
<b>35</b>	Dénombrement des ASR dans le prélèvement 03.	<b>62</b>
<b>36</b>	Observation microscopique des formes sporulantes (entourées par un cercle rouge) et végétatives des bactéries ASR (Objectif×100).	<b>63</b>
<b>37</b>	Aspect des colonies sur (A) gélose Hektoën et (B) gélose SS et (C) gélose Mac Conkey.	<b>65</b>
<b>38</b>	Aspect des colonies sur (D) gélose cétrimide et (E) gélose GNAB.	<b>65</b>
<b>39</b>	Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 01).	<b>66</b>

<b>40</b>	Cocci à Gram positif en amas (Objectif ×100).	<b>66</b>
<b>41</b>	Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 02).	<b>66</b>
<b>42</b>	Cocci à Gram positif en amas (Grossissement ×100).	<b>66</b>
<b>43</b>	Test de staphylocoagulase positif (à gauche) et négatif (à droite).	<b>67</b>
<b>44</b>	Aspect des colonies sur gélose Chapman.	<b>67</b>
<b>45</b>	Bacilles à Gram positif (Objectif ×100).	<b>67</b>
<b>46</b>	Aspect des colonies sur gélose VF.	<b>67</b>
<b>47</b>	Spores incolores (Objectif ×100).	<b>67</b>
<b>48</b>	Aspect des colonies sur gélose Chapman.	<b>68</b>
<b>49</b>	Cocci à Gram positif en amas (Objectif ×100).	<b>68</b>
<b>50</b>	Résultat de galeries biochimique classique ( <i>Vibrio alginolyticus</i> ).	<b>69</b>
<b>51</b>	Résultat de galerie biochimique classique ( <i>Edarsiella hoshinae</i> ).	<b>69</b>
<b>52</b>	Résultat de galerie biochimique classique ( <i>Proteus vulgaris</i> groupe 1).	<b>70</b>
<b>53</b>	Résultat de galerie biochimique classique ( <i>Citrobacter koseri</i> )	<b>70</b>
<b>54</b>	Résultat de l'Api 20 E ( <i>Salmonella spp</i> )	<b>71</b>
<b>55</b>	Résultat de l'Api 20 E ( <i>Serratia odorifera</i> )	<b>71</b>
<b>56</b>	Résultat de l'Api NE ( <i>Pseudomonas luteola</i> )	<b>71</b>
<b>57</b>	Résultat de l'Api NE ( <i>Aeromonas hydrophila /caviae</i> )	<b>71</b>

## *Liste des signes et d'abréviations*

$\Sigma c$  : est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

**µm** : Micromètre

**µl**: microlitre

**µm** : Micromètre

**µs/cm**: micro simens par centimètre.

**ADE** : Algérienne des eaux

**ADH**: Arginine Dihydrolase

**ASR**: Anaérobies sulfito-réducteurs

**BCPL**: Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol

**BGN** : bacilles Gram négatifs

$C_{fe}$  : C'est la concentration exprimée en mol/l de la solution de sel de Mohr déterminée par étalonnage.

**CE** : Conductivité électrique

**CF**: Coliforme fécaux

**CIT** : Citrate

**cm** : centimètre

**CT**: Coliformes totaux

**d** : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

**DCO** : demande chimique en oxygène

**E** : Est

**E**: Volume d'essai pris en ml.

**E. coli** : *Escherichia coli*

**EPA** : Eau Peptonée Alcaline

**Eva Litsky** : Bouillon à l'éthyle violet et azide de sodium

**F.A.O**: Food and Agriculture Organization of the United Nations

**FeS** : Sulfate de fer

**FMAT** : Flore mésophile aérobie totale

**Fig** : Figure

**J.O.R.A** : Journal Officiel de la République Algérienne

**h**: heure

**ha** : hectare

**H<sub>2</sub>S** : Hydrogène sulfuré

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique

**IND**: Indole

**GEL** : Gélatinase

**GLU** : Glucose

**GNAB** : Gélose Nutritive Alcaline de Billé

**GPS**: Global Positioning System

**K<sub>2</sub>C<sub>r</sub>O<sub>7</sub>**: dichromate de potassium

**Km** : Kilomètre

**Km<sup>2</sup>**: kilomètre carré.

**LDC** : Lysine Décarboxylase

**m**: mètre

**m<sup>3</sup>** : Mètre cube

**m<sup>3</sup>/j** : Mètre cube par jour

**M=** Température des maxima du mois le plus chaud (°K).

**m=** Température des minima du mois le plus froid (°K).

**Man** : Mannitol

**Max**: maximum

**MES** : matières en suspension

**Min**: minimum

**mg/l** : Milligramme par litre

**ml** : Millilitre

**mm**: millimètre

**mn** : Minute

**Mob** : Mobilité

**Moy**: moyenne

**mV** : millivolt

**N** : Nord

**Na Cl** : Le chlorure de sodium

**Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>** : sulfite de sodium

**NPP** : Nombre le plus probable.

**O<sub>2</sub>**: Dioxygène.

**ODC** : Ornithine Décarboxylase.

**OMS** : Organisation Mondial de la Santé.

**ONA** : Office Nationale d'Assainissement

**ONEMA** : L'Office national de l'eau et des milieux aquatiques

**ONPG**: Ortho-Nitrophénol-B-D-Galactosidase.

**p**: prélèvement

**P** : Précipitation annuelle moyenne (mm).

**p1** : poids des membranes avant filtration.

**p2** : poids des membranes après filtration.

**pH** : Potentiel d'Hydrogène.

**PME/PMI** : Petites et Moyennes Entreprises / Petites et Moyennes Industries (PMI)

**Q<sub>2</sub>** : Quotient pluviométrique d'Emberger

**RM**: Rouge de Méthyle

**RN**: Route nationale

**Rothe** : Bouillon à l'azide de sodium

**S**: Station

**S/C**: Simple concentration

**SF** : Streptocoque fécaux.

**SFB** : Bouillon au sélénite de Leifson

**sp** : Espèce

**S.O.W.A** : Site Officiel de la Wilaya d'Annaba.

**SS** : *Salmonella-Shigella*

**STEP** : Station d'épuration des eaux usées

**T**: température.

**t** : temps.

**Tab** : Tableau

**TDA**: Tryptophane Décarboxylase

**TGEA** : Tryptone – Glucose – Extrait de levure – Agar.

**TSI** : Triple Sugar Iron

**UFC**: Unité formant colonie.

**URE** : Urée

**V<sub>e</sub>**: Volume du sel de Mohr nécessaire pour le virage de couleur de l'échantillon.

**V<sub>t</sub>**: Volume de sel de Mohr nécessaire pour le virage de couleur de l'échantillon témoin.

**VF** : Viande Foi.

**VP** : Voges de Proskauer.

**W.A** : Wilaya d'Annaba

### **Introduction**

Les zones humides sont des sites de transition entre les milieux terrestres et les milieux aquatiques (Allout, 2013). Elles sont parmi les milieux naturels les plus productifs du Monde et constituent des milieux de vie remarquables pour leur biodiversité. De nombreuses espèces végétales et animales y sont inféodées. Elles abritent, en effet, près de 40% de la biodiversité mondiale (Aberkane, 2013).

L'importance des zones humides ne tient pas à leur superficie globale, car elles ne couvrent que 6% des terres émergées soient environ 1,5% de la planète, mais à leur localisation dans le paysage, à leur structure et à l'ensemble des processus qui s'y manifestent de façon particulière (Allout, 2013).

Les zones humides méditerranéennes représentent un havre exceptionnel en termes de site de reproduction, d'accès à la nourriture et de site étape pour environ deux millions d'oiseaux migrateurs et cent cinquante espèces, sont parmi les écosystèmes les plus fertiles de la planète. Elles hébergent de très nombreux habitats d'espèces végétales et animales dont les spécificités et l'intérêt sont encore sous-estimés et mal connus. Cette richesse du potentiel naturel et du patrimoine écologique a attiré l'activité humaine depuis la préhistoire, conduisant à un aménagement de ces espaces qui, poussé à l'extrême, conduit à la disparition ou à la stérilisation de ces espaces (Bonnet et *al*, 2005).

La production du milieu naturel conserve la bonne qualité des eaux contre toute pollution urbaine ou industrielle. Le besoin est urgent d'une approche intégrée et plus appropriée de la gestion, des bassins versants et des eaux à des fins de conservation des zones humides. Il faut prendre dès maintenant les mesures qui s'imposent pour freiner le déclin de ces écosystèmes actuellement exploitées à des niveaux insoutenables (Bonnet et *al*, 2005).

Malheureusement, Plus de la moitié des zones humides du bassin méditerranéen ont disparu au cours du siècle passé. La plupart des zones humides encore existantes subissent des pressions intenses, en particulier relatives à la gestion quantitative et qualitative de l'eau (Aberkane, 2013).

L'Algérie de par sa situation géographique renferme un potentiel de zones humides très diversifié. Les plus connues sont sous-jacentes au littoral long de plus de 1000km , tels les lacs, les lagunes ,les marais, les sebkhas (Metallaoui et Houhamdi,2008), qui font partie des ressources les plus précieuses sur le plan de la diversité biologique et de la productivité naturelle, elles jouent un rôle important dans les processus vitaux entretenant des cycles hydrologiques et accueillant une flore importante, des poissons et des oiseaux migrateurs (Metallaoui et Houhamdi,2010) .

Le recensement systématique des zones humides de la wilaya d'Annaba a permis de retenir des sites humides d'importance pour les oiseaux d'eau en plus du lac Fetzara .Certains de ces milieux sont situés à proximité de zones urbaines et subissent de ce fait, des actions anthropiques qui risquent de les détruire complètement tel que le marécage du marais Boussedra (Allout, 2013).

Le marais n'est pas protégé. Depuis 2003 elle est utilisée comme décharge, perdant 30% de sa superficie jusqu'à 2011 (Samraoui et *al*, 2012) et donnant progressivement la place à des lotissements. Cette zone humide est un exemple typique de fragment des zones humides méditerranéennes (Battisti *et al*, 2008, Paracuellos 2008). Elle est un vestige d'un ancien grand complexe de zones humides autour de la ville d'Annaba et est désormais intégrée dans un paysage urbain.

Dans le cadre de ce travail nous avons essayé d'étudier :

- la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau du marais Boussedra ; dont l'objectif de l'analyse physico-chimique est la détermination des paramètres de caractérisation des eaux qui constitue un bon moyen pour donner l'image de la qualité de ces eaux . Ainsi que, le but de l'analyses bactériologiques est de rechercher les microorganismes qui sont susceptible d'être pathogènes (Salmonelles, Shigelles, Staphylocoques...) et ceux qui sont indicateurs de contamination fécales (Coliformes et Streptocoques fécaux).
- Ensuite de faire le point sur le degré de la dégradation causée par la forte pression de l'anthropisation.

Nous avons structuré notre démarche en quatre chapitres interdépendants :

Le premier et le second purement théorique rassemblement d'une part l'état des zones humides urbaines, et d'autre part une présentation de la région d'étude pour donner un aperçu générale comprenant une description de cadre physique avec les données climatiques. Le troisième chapitre est consacré aux matériel et méthodes employées pour la réalisation de ce travail. Le quatrième, mentionne les résultats obtenus au cours de notre étude pratique, ensuite détaillés et discutés. Ses quatre chapitres sont suivis d'une conclusion qui clôture ce mémoire.

## I.1 Définition d'une zone humide

Selon le premier article de la convention de Ramsar « les zones humides sont des étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou 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 marine dont la profondeur ne dépasse pas six mètres. ».

Selon l'article 2 de la loi française sur l'eau « on entend par zone humide les terrains, exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire ; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année » (Mokrani ,2011).

## I.2 Les différents types de zones humides

### I.2.1 Les zones humides en Méditerranée

Les zones humides méditerranéennes regroupent une grande variété d'habitats naturels : deltas des fleuves, lacs et marais (eau douce, saumâtre ou salée), rivières permanentes ou oueds, forêts inondables des bordures de fleuves, ou bien salines et lacs de barrage (Mokrani ,2011).

- **Les deltas:**

C'est à l'embouchure des principaux fleuves que l'on trouve le plus fréquemment des zones humides côtières. Un delta naturel typique regroupe donc toute une gamme de zones humides dont la salinité augmente généralement au fur et à mesure que l'on s'approche de la mer. L'absence de marées en Méditerranée est particulièrement propice à la formation de deltas (Mokrani ,2011).

- **Les marais temporaires :**

Le marais est généralement une étendue d'eau de faible extension, pérenne ou non, de petite taille (habituellement < 10ha) et peu profondes caractérisées par des alternances de phases sèches et inondées et par fonctionnement hydrique très autonome .Son alimentation provient du ruissellement ou de la remontée du plafond de la nappe phréatique, l'eau y est généralement stagnante, ou sa circulation est très lente (Mokrani ,2011).

- **Les lagunes côtières :**

Les sédiments charriés par un cours d'eau se déposent normalement à quelques centaines de mètres au large, lorsque les courants marins ont réduit la vitesse d'écoulement du fleuve. Les courants modèlent ensuite les dépôts de sable en créant souvent des cordons littoraux parallèles à la côte, derrière lesquels se forment les lagunes. Celles-ci sont

généralement reliées à la mer par un chenal et peuvent également être alimentée par les cours d'eau. L'extension des cordons littoraux peut provoquer la fermeture de certaines lagunes dont l'eau s'adoucit (Mokrani ,2011).

- **Les lacs d'eau douce :**

Ils se forment soit à l'intérieur des terres, soit par adoucissement d'une lagune marine isolée de la mer et alimentée par des cours d'eau (Mokrani ,2011).

- **Les marais d'eau douce :**

Des centaines de marais d'eau douce qui bordaient autre fois la Méditerranée, très peu subsistent aujourd'hui et leur régime d'inondation est presque toujours contrôlé par l'homme, du moins en partie. Ils englobent divers types de milieux, allant des roselières qui entourent les lacs aux prairies humides pâturées dans les deltas ou en bordure du lit majeur des fleuves (Mokrani ,2011).

### **I.2.2 Les zones humides en Annaba**

Annaba est une ville côtière d'Algérie, subit les mêmes problèmes environnementaux que connaît le reste du littoral Algérien.

Le recensement systématique des zones humides de la wilaya d'Annaba a permis de retenir des sites humides d'importance pour les oiseaux d'eau en plus du lac Fetzara. Ces milieux sont le plus souvent des marécages, des marais, des gueltas, des estuaires. On retient également la présence d'une île au large de Chétaïbi.

Certains de ces milieux sont situés à proximité de zones urbaines et subissent de ce fait, des actions anthropiques qui risquent de les détruire complètement tel que les marécages de Sidi Achour et le marécage de Boussedra (Allout, 2013).

- **Lac Fetzara**

Le lac Fetzara (36° 43' et 36° 50' N 7°24' et 7°39' E) s'allonge sur 17 km d'est en ouest de la ville d'Annaba à l'extrême est de l'Algérie et sur 13 km dans sa partie la plus large (Allout, 2013)

- **Sidi Achour:**

Ce marais qui est menacé à court terme de disparition (urbanisation accrue) s'est révélé être un site écologique important (Allout, 2013).

- **Boukhadra**

Un site anthropien (pollution importante), facile d'accès (Allout, 2013).

- **Salines**

Ce site grâce à la diversité de milieux qu'il recèle (bassins, canal et oued Boukhamira) compense la forte salinité de ses eaux. Ce site mérite d'être classé comme réserve naturelle car il joue un rôle important comme site d'hivernage pour les oiseaux migrateurs (Allout ,2013).

- **Boussedra**

Fortement anthropien, ce site est également menacé de disparition malgré une importance ornithologique certaine (Allout ,2013).

### **I.3 Fonction des zones humides**

Les zones humides remplissent de nombreuses fonctions utiles aux équilibres naturels et aux activités humaines :

- **Écrêtement des crues et soutien d'étéage :**

Les zones humides atténuent et décalent le pic de crue en ralentissant et en stockant les eaux. Elles déstockent ensuite progressivement les eaux permettant ainsi la recharge des nappes et le soutien d'étéage [1].

- **Épuration naturelle :**

Les zones humides jouent le rôle de filtres qui retiennent et transforment les polluants organiques (dénitrification) ainsi que les métaux lourds dans certains cas, et stabilisent les sédiments. Elles contribuent ainsi à l'atteinte du bon état écologique des eaux [1].

- **Réservoir de biodiversité :**

De part l'interface milieu terrestre / milieu aquatique qu'elles forment, les zones humides constituent des habitats de choix pour de nombreuses espèces animales et végétales [1].

- **Valeurs touristiques, culturelles, patrimoniales et éducatives :**

Les zones humides sont le support de nombreux loisirs (chasse, pêche, randonnée...) et offrent une valeur paysagère contribuant à l'attractivité du territoire. La richesse en biodiversité des zones humides en fait des lieux privilégiés pour l'éducation et la sensibilisation à l'environnement du public [1].

### **I.4 Les principaux problèmes de l'environnement**

On constate depuis les dernières décennies une baisse continue de la qualité de l'environnement. Ainsi, les problèmes constatés sont très divers à savoir la pollution des eaux, de l'atmosphère et du sol qui mettent en danger la vie des humains ainsi que celle des plantes

et des animaux (Lehmann, 1997), donc de nombreux taxons sont menacés par la dégradation accélérée de l'environnement et la destruction des habitats (Kabala, 1994)

#### **I.4.1 Les menaces sur la biodiversité :**

Le terme Biodiversité (diversité biologique), désigne tout simplement la variété des espèces vivantes qui peuplent la biosphère. Pris au sens le plus simple, la biodiversité se mesure par le nombre total d'espèces vivantes (plantes, animaux, champignons, micro-organismes), que renferme l'ensemble des écosystèmes terrestres et aquatiques, se rencontrant actuellement sur la planète : les scientifiques l'appellent la richesse totale (François, 1993).

Les changements climatiques ; la dégradation des habitats et l'exploitation directe sont des menaces pour la biodiversité (Deceuninck et al, 2006).

Le concept de biodiversité est apparu durant les années 70 lorsque les écologistes et les conversationnistes prirent conscience que la disparition des espèces et des milieux s'accéléraient et était la conséquence de la croissance démographique et de la destruction de nombreux milieux parmi les plus riches en ressources biologiques (Dajoz, 1996).

La diminution de la biodiversité entraîne une réduction de la quantité d'énergie disponible pour le reste de la chaîne alimentaire, menaçant ainsi la santé de l'ensemble de l'écosystème. (Hector, 1999).

Parmi les principales menaces sur la biodiversité on peut distinguer :

##### **I.4.1.1 Le taux d'accroissement et les activités humaines**

Les pressions sur l'environnement sont, en grande partie, le fait de la population en général, en raison de divers problèmes socio-économiques :

- Un accroissement de la population plus rapide que la croissance économique, ce qui provoque une certaine tendance à la surexploitation des ressources naturelles.
- Une mauvaise répartition spatiale de la population crée un entassement d'individus dans des zones urbaines ayant ainsi des densités énormes; ce qui amène un certain nombre de problèmes environnementaux, comme l'insalubrité, la dégradation de la qualité des eaux et des sols, les différents types de pollution, le manque d'hygiène et d'assainissement.
- Le faible niveau de vie de la majeure partie de la population favorise aussi la surexploitation et la dégradation qualitative et quantitative des ressources naturelles.

#### I.4.1.2 La pollution

- **La pollution biologique :** La pollution biologique se traduit par une forte contamination bactériologique, et de graves affections pathogènes, elle soulève dans bien des cas de redoutables problèmes d'hygiène (Ramade, 1982).
- **La pollution chimique :** Résulte de la libération de divers composés tels que les nitrates, les phosphates et autres sels utilisés en agriculture. Les invertébrés et les vertébrés dulçaquicoles et marins sont victimes des innombrables substances chimiques rejetées dans les eaux par l'industrie (Ramade, 1982).
- **La pollution organique :** L'eutrophisation est dominante, nous sommes passés d'un écosystème globalement hétérotrophe, à un système globalement autotrophe et eutrophie (Augelier, 2000).
- **La pollution thermique :** Le rejet de la chaleur dans l'environnement constitue de nos jours une forme de pollution physique du milieu naturel susceptible de provoquer de véritables bouleversements biocénétiques car elle agit sur un facteur écologique primordial : la température du milieu (Ramade, 1982).

L'augmentation de la température de l'eau réduit la teneur en oxygène et augmente la vitesse de réactivité chimique (Heinrich et *al*, 1997).

#### I.4.1.3 L'introduction de nouvelles espèces

Il est toujours dangereux d'introduire des espèces nouvelles dans un milieu où elles ne vivent pas normalement, car l'absence de leurs prédateurs naturels permet une pullulation extraordinaire.

La menace que font les espèces exotiques est :

- Altération de l'habitat
- Concurrence.
- Maladies et parasites (Arrignon, 1991).
- Hybridation.
- Homogénéisation des écosystèmes.

#### I.4.2 La pollution des eaux

Le problème de la pollution des eaux représente sans aucun doute un des aspects les plus inquiétants de la dégradation du milieu naturel par la civilisation contemporaine (Ramade, 1982).

### I.4.2.1 La pollution domestique et urbaine

Chaque algérien utilise en moyenne 25 litres d'eau par jour (rapport annuel ADE 2006), dont la quasi-totalité est ensuite rejetée. Les eaux ménagères, qui représentent les deux tiers du total des eaux usées domestiques, contiennent, notamment, des graisses, des savons et détergents, des matières en suspension et des matières dissoutes organiques ou minérales.

A cela il faut ajouter les eaux usées rejetées (effluents) par les installations collectives, telles que les hôpitaux, les écoles, les commerces, les hôtels et restaurants, etc. (Slatni ,2013).

### I.4.2.2 La pollution d'origine agricole

L'agriculture constitue la première cause des pollutions diffuses des ressources en eau.

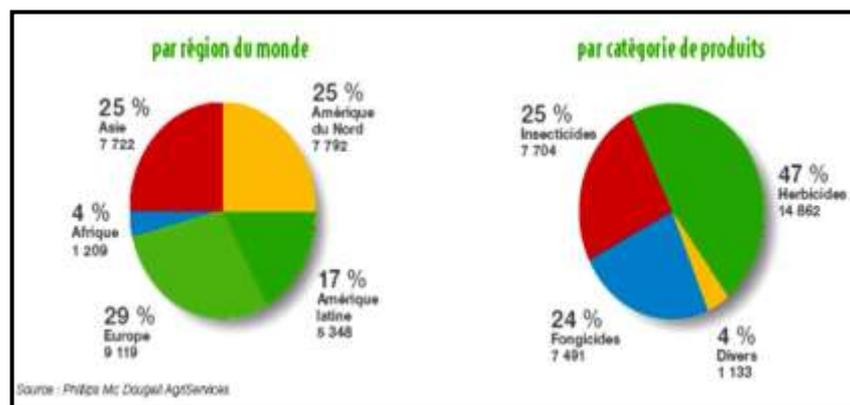
- **Les fertilisants**

La pollution des eaux par les fertilisants agricoles (nitrate et phosphate) a été l'objet des premiers travaux de recherche sur la dégradation de la qualité des eaux de surface et souterraines dans les années 70 (Slatni ,2013).

- **Les pesticides**

Parmi les pesticides, on distingue : les insecticides et acaricides, les herbicides, les fongicides et tout un ensemble de molécules destinées à des usages particuliers.

Vu les perspectives offertes en terme de gain de productivité, la consommation agricole des pesticide sa véritablement explosé dans les années 60, (Figure 01).



**Figure 01:** Le marché mondial 2005, en chiffres d'affaire, des pesticides par région et par catégorie de produits (Slatni ,2013).

### I.4.2.3 L'eutrophisation

Du grec eu-trofein [bien nourrir], des rivières a pour origine leur surconcentration en nitrates et en phosphates, deux fertilisants qui aident à la prolifération et à la croissance des

végétaux aquatiques et en particulier des algues qui envahissent tout l'espace aquatique. A la fin de leur cycle, ces végétaux meurent produisant de la matière organique dont la décomposition nécessite beaucoup d'oxygène. S'il n'y a plus assez d'oxygène dissous, (cela peut arriver si la température de l'eau s'élève et en ce cas sa capacité à contenir de l'oxygène dissous chute), poissons et invertébrés meurent par asphyxie. Une trop grande abondance de matières organiques entraîne une fermentation en anaérobiose qui dégage de l'hydrogène sulfuré (bulle) à l'odeur nauséabonde.

Les principales phases de l'eutrophisation des eaux peuvent être schématisées comme suit :

- Pollution croissante
- Prolifération des algues
- Décomposition anaérobie
- Dégradation extrême du milieu avec une simplification des espèces présentes (Slatni, 2013)

#### **I.4.2.4 La pollution d'origine naturelle**

On entend par pollution d'origine naturelle toute pollution modifiant de manière indésirable, les différentes propriétés de l'eau, ceci de façon naturelle et non pas humaine. On divise les polluants en quatre catégories : agents physiques, agents chimiques organiques, agents chimiques inorganiques et agents biologiques (Allali, 2004).

#### **I.4.2.5 La pollution d'origine industrielle**

Si la pollution domestique des ressources est relativement constante, les rejets industriels sont, au contraire, caractérisés par leur très grande diversité, suivant l'utilisation qui est faite de l'eau au cours des procédés industriels.

Parmi les industries considérées habituellement comme rejetant des matières particulièrement polluantes pour l'eau, on citera, notamment, les industries agro-alimentaires, papèteries, la chimie, les traitements de surface et surtout la sidérurgie, où cette dernière régénère une pollution liquide solide et atmosphérique (Allali, 2004).

### **I.4.3 Différents types de pollution dans la wilaya d'Annaba**

Qui dit population, dit rejets domestiques, eaux usées et pour l'évacuation de ces derniers la Wilaya d'Annaba dispose de 31 stations de relevage d'eaux usées et pluviales réparties comme suit :

- 14 stations dans la ville d'Annaba
- 11 stations à El- Bouni
- 4 stations à El-Hadjar
- 1 station à Chetaibi
- Et 1 station à Oued El Aneb. (DHWA, 2008; Hidouci, 2009).

Environ 110000 m<sup>3</sup>/j d'eaux usées collectées selon une enquête réalisée en 2006 par le ministère des ressources en eaux. Tous ces rejets finissent soit directement à la mer soit ils passent par un Oued avant de s'y déverser sans aucun traitement.

Au vu du potentiel industriel diversifié dont elle dispose, la wilaya d'Annaba abrite un important pôle industriel avec :

- le complexe sidérurgique d'El-Hadjar : Arcelor mittal.
- le complexe phosphatier de la Seybouse : Asmidal.
- le complexe métallurgique de l'Alleligue : Ferroviaal.
- usine d'assemblage d'ordinateur portable : Zala.
- près de 260 PME/PMI dans les domaines de la sous-traitance et de l'agro-alimentaire (S.O.W.A, 2008).

Ces zones industrielles occupent près de 400 ha à proximité de la mer, ou d'Oueds qui servent de réceptacles à leurs déchets et effluent sans traitement ni épuration quelconque (DHWA, 2008).

### **I.5 Impacte des activités humaines sur la qualité de l'eau**

Les activités humaines sont à l'origine de la régression des milieux humides. L'urbanisation, le développement d'infrastructures et d'autres aménagements lourds se traduisent par la disparition de nombreux milieux humides. Certaines activités ont des effets plus progressifs ou plus complexes :

- Perturbation de l'alimentation en eau des milieux à cause des équipements fluviaux.
- Remblaiement (dépôts divers, aménagements).
- Drainage à finalité agricole (ou pour la salubrité et l'aménagement).
- Mitage (ou morcellement) du milieu (ruptures de corridors, diminution de la diversité génétique et biologique – espèces, habitats-, ...).
- Enfoncement de la nappe suite à l'incision des cours d'eau, gravières.
- Introduction et expansion d'espèces exotiques envahissantes.

Bien d'autres menaces pèsent sur les milieux humides, parfois sans que l'on en perçoive toute la portée, comme la pollution des eaux ou le réchauffement climatique (ONEMA, L'Office national de l'eau et des milieux aquatiques).

## **I.6 Importance de l'eau**

### **I.6.1 Quantité des eaux**

L'explication majeure qu'en donnent les scientifiques est qu'en dehors du satellite naturel de Jupiter appelé Europe, la terre est la seule à être couverte aux trois quarts par de l'eau. (Annie et Beaux, 2005).

L'hydrosphère représente plus de 70% de la surface terrestre et se divise en deux domaines : marin et continental, possédant chacun des peuplements spécifiques, une dynamique propre et des paramètres physiques, chimiques et biologiques (Ayada, 2003).

En Algérie les ressources en eau prélevées en 2000 sont estimées à 6 milliards de m<sup>3</sup>, dont 800 millions revient à l'industrie (FAO, 2005), soit 13%. Pourtant la région méditerranéenne ne dispose que de 3% des ressources en eau du monde, alors qu'elle rassemble 7,3% de l'humanité. D'autre part, on considère qu'environ 60% de la population mondiale pauvre en eau, se concentre dans les seuls pays méditerranéens du Sud et du Proche-Orient.

Selon les estimations de (Margat, 2004), la demande en eau pour le secteur industriel s'élève à 3 milliards de m<sup>3</sup> en 2025 alors que la ressource étant déjà très limitée à 6 milliards de m<sup>3</sup>.

### **I.6.2 Qualité des eaux**

#### **I.6.2.1 Que veut –on dire par Qualité de l'eau ?**

On détermine la Qualité d l'eau d'après sa concentration de composés chimiques et de particules minérales et organiques, La qualité d l'eau dans les cours d'eau et les lacs varie avec la saison et l'endroit, même en l'absence de pollution. Aucun paramètre ne permet de déterminer à lui seul la qualité de l'eau. Ainsi, on peut se servir d'eau potable pour l'irrigation ne respecte pas nécessairement les normes applicables à l'eau potable (Allali, 2004).

**I.6.2.2 La qualité des cours d'eau**

Les paramètres pris en compte pour qualité des cours d'eau sont :

**a. Les paramètres physico-chimiques :**

Température, salinité, oxygène dissous, matières en suspension, matières oxydables (demande chimique en oxygène, demande biochimique en oxygène, carbone organique dissous...) formes de l'azote (organique, ammonium, nitrites, nitrates) et du phosphore (phosphore total, orthophosphates), anions et cations majeurs dits naturels, éléments toxiques minéraux (métaux) et organiques (Allali, 2004).

**b. Les paramètres biologiques ;**

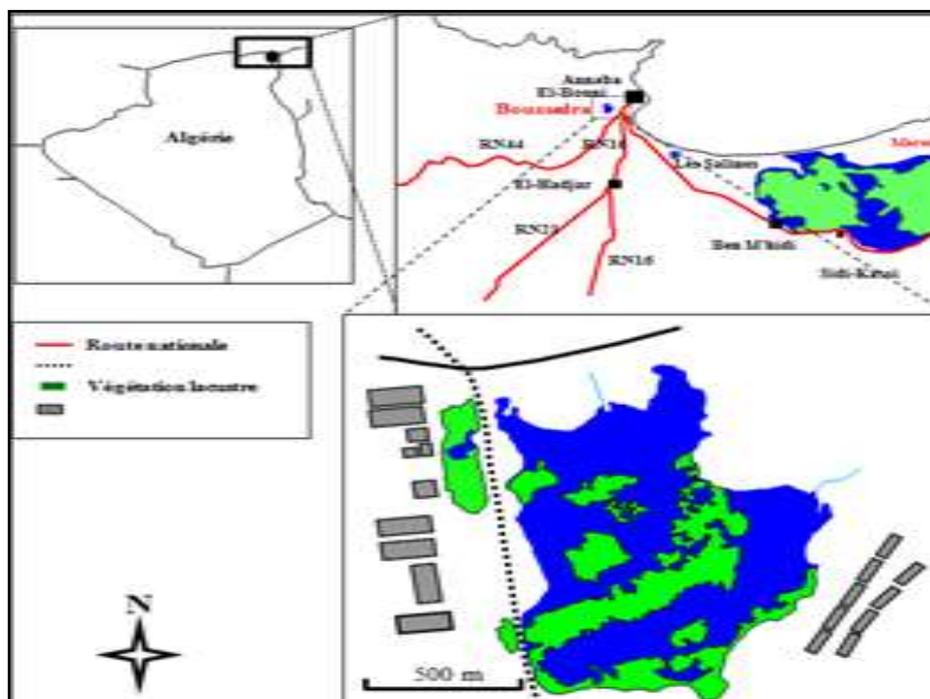
Indices biologiques de pollution basés sur les invertébrés benthiques. Aujourd'hui, les rivières de mauvaise qualité sur tout leur cours sont rares ; certaines comportent des tronçons très dégradé, toutefois en diminution (Allali, 2004).

## II. Localisation et présentation de la zone d'étude : le marais de Boussedra

### II.1.1 Situation géographique

Le marais de Boussedra ( $36^{\circ}50'45''$  N,  $7^{\circ}43'47''$  E) fait partie des zones humides de la Numidie occidentale. Cette région est située à 600 km de la capitale Alger, ouverte sur le littoral méditerranéen sur 80 Km. Elle s'étend sur une superficie d'environ 55 ha (en fonction de la pluviométrie), La profondeur du marais est de 2 m au maximum pendant la période de pluie et 1,5 m au maximum en période sèche, la surface d'eau libre aussi dépend de la saison (Figure 02) (Chettibi, 2013).

Cette zone humide est un exemple typique de fragment des zones humides méditerranéennes (Battisti *et al*, 2008, Paracuellos, 2008). Elle est un vestige d'un ancien grand complexe de zones humides autour de la ville d'Annaba et est désormais intégrée dans un paysage urbain. Elle est située dans une agglomération urbaine et est limitée sur toute sa partie Est par les bidonvilles. La rive Sud est limitée par des usines d'industries agroalimentaire et traversée par un chemin de fer. Sur ses limites Nord et Ouest les agglomérations urbaines sont un peu plus loin (quelques dizaines de mètres) (Figure 03).



**Figure 02** : Localisation géographique du marais de Boussedra (EL-Bouni –Annaba) (Chettibi, 2013).



**Figure 03 :** Vue satellitaire du marais de Boussedra (Google, Earth, 2015)



**Figure 04 :** Coté Nord du marais de Boussedra  
(Photo prise par SEBTI Bouchra le  
01.04.2015)



**Figure 05 :** Coté Sud du marais de  
Boussedra (Photos prise par BOUDRAA  
Wahiba le 23.04.2013)

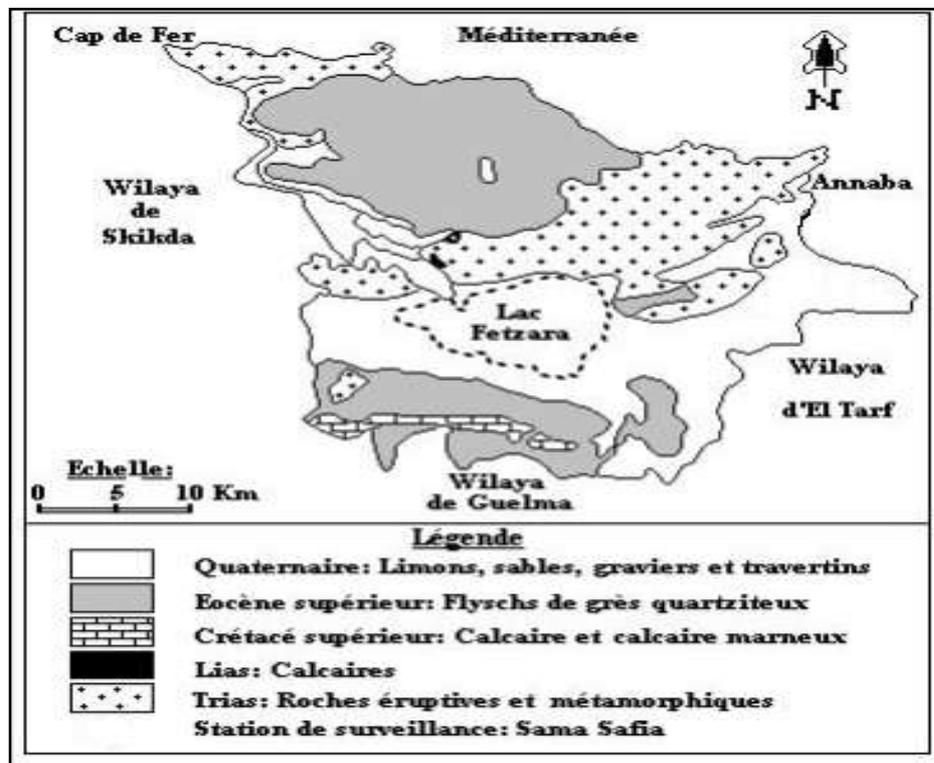
### II.1.2 Données géologiques

La région d'Annaba a fait l'objet de plusieurs études géologiques. Ces études montrent l'existence de deux types de terrains, l'un sédimentaire et l'autre métamorphique. Les formations du système aquifère sont constituées de sédiments moins Pliocènes et Quaternaires formant le remplissage des fosses d'effondrement de Ben Ahmed et Ben M'Hidi. Il s'agit d'une alternance d'argile sableuse, de sable, de graviers et de travertins, où l'on distingue sept réservoirs d'importance inégale dont les principaux sont la nappe superficielle et celle des graviers (Figure 06).

La première est contenue dans des formations sablo argileuses incluant des lentilles de sables. Des argiles grises compactes en constituent le substratum. Ces lentilles sont plus fréquentes à proximité de l'oued Seybouse, et à la périphérie des affleurements des grès

numidiens. La nappe phréatique est globalement libre, sauf en quelques points où elle est captive sous des niveaux d'argiles.

L'épaisseur de cette nappe est variable, elle peut atteindre 18 m. La nappe des graviers présente de bonnes qualités hydrauliques. L'épaisseur des graviers et galets est très variable, elle passe en effet de quelques mètres en bordure ouest du système, à près de 25 m selon l'axe de la fosse de Ben Ahmed, orientée Sud Nord, puis elle diminue à moins de 10 m sur l'élévation de Daroussa. Elle croît de nouveau à 80 voir 90 m selon l'axe de la fosse de Ben M'Hidi d'orientation sud-ouest – nord-est. Entre la butte de Boukhadra et El-Khou (Abrekane ,2013).



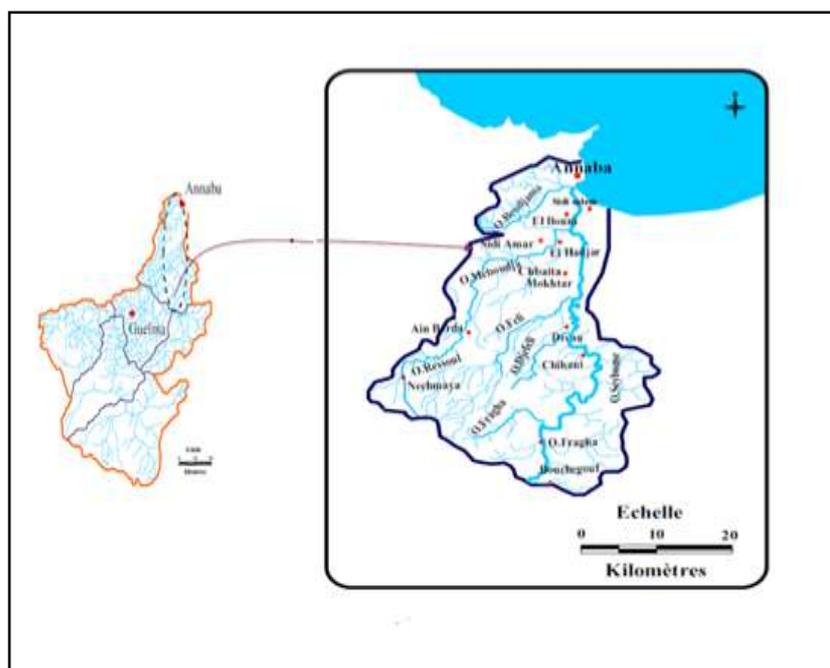
**Figure 06 :** Situation géographique et esquisse géologique du territoire de la wilaya d'Annaba (Chaffai et Mourdi, 2011).

### II.1.3 Réseaux hydrographique d'Annaba

La partie montagneuse, constituée par une ligne de crête longue et relativement rectiligne selon une direction Sud Ouest, Nord Est, caractérisée par des versants raides constitués généralement de roches dures est sillonnée par un important réseau hydrographique dense et ramifié (chaabets, " cht" , Bellareau, "cht". Aouech ") à écoulement torrentiel temporaire.

Ces chaabets convergent vers l'aval pour former des oueds dans les eaux atteignant difficilement la mer à l'Est et au Nord Ouest en raison de la faible pente de la plaine et de la barrière dunaire littorale, causant parfois des inondations importantes.

La zone étudiée appartient au sous bassin versant de l'oued Boudjemàa. Ce sous bassin forme la terminaison Est du massif de l'Edough et est limité par la ligne des crêtes de Bouzizi, Séraïdi, Col des Chacals au Nord et au Nord Ouest, de Bellileita au Sud et au Sud- Ouest et de Bouhamra à l'Est. Il forme actuellement un réseau hydrographique indépendant après la déviation de l'embouchure de l'oued Seybouse en 1970 dont il faisait partie. L'oued Boudjemàa est le collecteur principal de ce sous bassin. Il reçoit à la hauteur de l'agglomération de Bouhamra les eaux du canal de Kef N'Sour (collecteur de l'oued Bouhdid, Sidi Harb et Forcha) avant de rejoindre la mer entre la cité Seybouse et le complexe industriel « ASMIDAL ». Avant sa déviation cet oued passait au pied du massif de Kef N'Sour puis sous la butte de la basilique Saint Augustin pour se jeter en mer. Le réseau hydrographique se compose au Sud Ouest par les sous bassins des oueds Forcha, Sidi Harb et Bouhdid qui constituent en aval un cours d'eau unique qui se branche sur l'oued Boudjemàa par le biais du canal de déviation de Kef N'Sour. Le collecteur principal de ces oueds connu sous le nom de oued Dheb coule à présent dans le sens Nord, vers la mer a l'Est, après la déviation qui consistait à le raccorder à l'Oued Boudjemàa à travers les collines de Kef N'Sour et la R.N. N° 44 (Boulakoud, 2009).



**Figure 07 :** Réseaux hydrographique de la zone d'étude (Boulakoud, 2009).

### **II.1.3.1 Régime hydrique de Bousedra**

Bousedra est une dépression prédisposée à retenir les eaux d'origine pluviale, où la profondeur de l'eau peut atteindre 2 m en hiver grâce aux quantités importantes de pluies que 70 reçoit la région, et les eaux usées issues des usines de production agroalimentaire et des lotissements situés autour. La sortie d'eau se fait principalement par évapotranspiration, ainsi que par le pompage des eaux pour l'irrigation. La submersion était permanente pour 70% du plan d'eau, le reste qui représente les bords et quelques parcelles au centre où la profondeur n'excède pas 0.5m s'assèchent vers la fin du mois de juillet et s'émergent encore au début de la saison d'hivernage (Aberkane, 2013).

### **II.1.4 Données Climatologique**

Le climat est un facteur déterminant de premier ordre pour une approche du milieu ; c'est un ensemble de phénomènes météorologiques qui sont principalement la température, les précipitations et les vents.

Ce climat se place en amont de toute étude relative au fonctionnement des écosystèmes écologiques (Allout, 2013).

Les données climatiques du marais Bousedra sont fournies pour les 21 dernières années (1991-2012)

#### **II.1.4.1 La température**

La température est un facteur très important, dans l'étude du climat de la région. Le climat d'Annaba est doux, pluvieux en hiver, chaud et subhumide en été avec une température moyenne annuelle de 17°C, une température maximale de 30°C en août et une température minimale de 7°C en janvier et en février (Tableau01).

#### **II.1.4.2 Précipitations**

Les précipitations sont abondantes, la pluviométrie annuelle est de 630 mm. En hiver les précipitations sont importantes avec un maximum de 100 mm en janvier et en décembre et sont rares en été avec 0mm en juillet (Tableau 01).

**Tableau 01** : Moyenne des données météorologiques d'Annaba (1991-2012)  
(Station météorologique d'Annaba, 2012) (Chettibi ,2014).

	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Juin	Jui	Août	Sep	Oct	Nov	Déc	Année
<b>Tmin(C°)</b>	7	7	8	10	13	16	19	20	18	15	11	8	12
<b>Tmoy(C°)</b>	11	12	13	15	18	21	24	25	23	20	15	12	17
<b>Tmax(C°)</b>	15	16	17	19	22	26	29	30	28	24	20	16	22
<b>P (min)</b>	100	70	70	40	30	10	0	10	30	70	60	10	630

### ➤ Humidité

L'humidité est relativement constante au cours de l'année, ce qui constitue un facteur de compensation pendant la saison sèche qui dure près de 4 mois. Les vents notamment maritimes contribuent au maintien d'un taux d'humidité élevé.

Grâce à l'humidité atmosphérique élevée, la région d'Annaba constitue un biotope idéal pour un grand nombre d'espèces végétales, c'est ce qui explique la grande richesse floristique qui caractérise cette région (Lahlah, 2011).

### ➤ Les vents

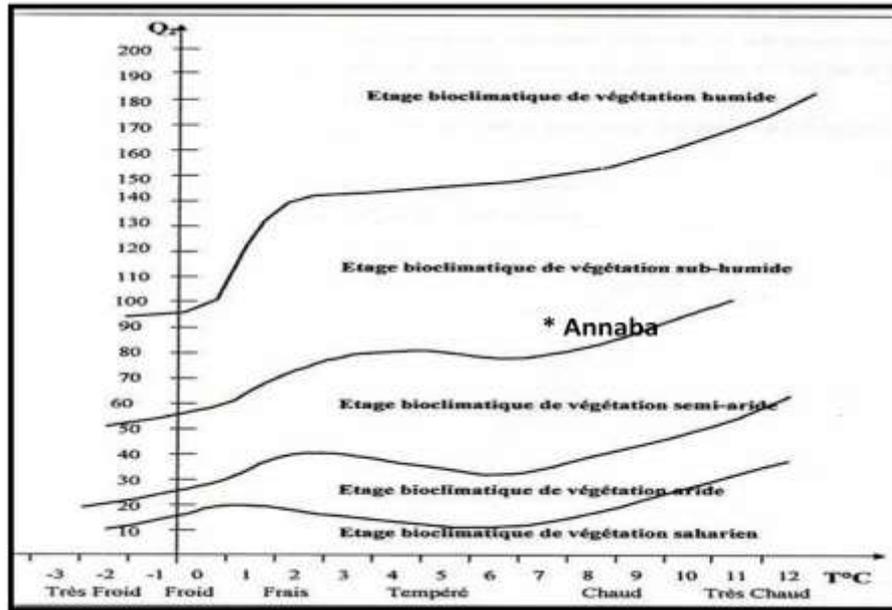
Les vents les plus fréquents soufflent du secteur Nord-Ouest suivant une direction Nord-Ouest Sud-Est avec une moyenne annuelle de 2.4 m/s et les moins fréquents sont ceux du Sud-Est et du Sud-Ouest avec une moyenne annuelle de 2 m/s la valeur la plus élevée de ce paramètre est enregistrée au mois de décembre et la plus faible au mois de février (Lahlah, 2011).

## II.1.4.3. Synthèse climatique

### ❖ L'indice d'EMBERGER

Le  $Q_2$  pour la période de 1991-2012 est de 93,95. Le quotient d'Emberger (1952) situe Annaba dans l'étage bioclimatique sub-humide tempéré (Figure 08) (Chettibi, 2014).

$$Q_2 = \frac{1000 \cdot P}{\left[ \frac{M+m}{2} \right] (M-m)}$$

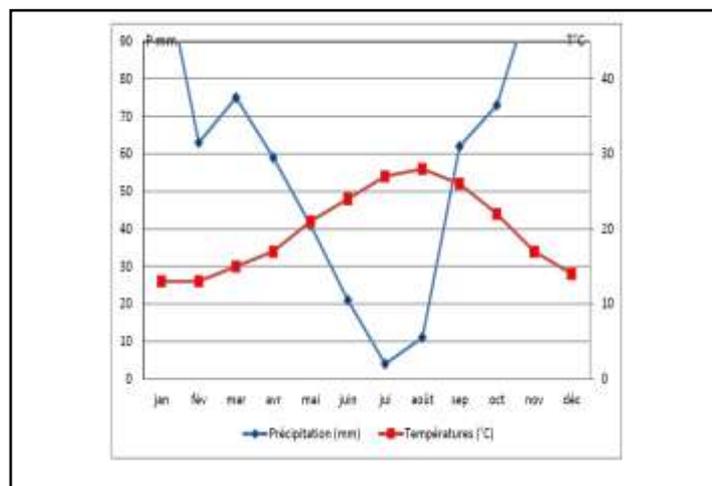


**Figure 08 :** Situation de la station météorologique de la wilaya d'Annaba dans le climogramme d'Emberger (Chettibi, 2014).

Le quotient d'Emberger (1952) situe Annaba dans l'étage bioclimatique sub- humide tempéré (Emberger, 1955)

❖ **Diagramme pluviothermique de GAUSSEN**

Le diagramme pluviothermique de Gausсен (Figure 09) pour la période 1991-2012 montre que l'année est répartie en une saison sèche allant de mi-avril à mi-septembre et une saison humide le reste de l'année (Chettibi ,2014).



**Figure 09:** Diagramme Pluvio-thermique de la région d'Annaba (1990-2013) (Chettibi ,2014).

## II.1.5 Flore et faune

Il existe plusieurs espèces qui dépendent des zones humides au moins pendant une partie de leur vie. Elles constituent l'une et les autres la biodiversité de ces écosystèmes riches en biomasse.

### II.1.5.1 La flore

La biodiversité du marais de Bousedra se caractérise par une très grande richesse floristique, car elle est dominée par les espèces suivantes : *Scirpus maritimus* et *Lesser Bulrush*, *Typha angustifolia*, *Phragmite australis*, *Scirpus lacustris*. Dans la partie sud de la marre on trouve une large bande de *Tamarix gallica*, qui est utilisé comme site de la nidification pour une colonie mixte de hérons (environ 500 nids, de Héron garde-boeuf, Héron chevelu, Aigrette gazette et Héron bihoreau) (Samraoui et Samaraoui, 2008, Samraoui *et al*, 2012).

### II.1.5.2 Faune

#### ❖ Invertébrés

Ce sont des groupes relativement diversifiés au sein desquels les espèces sont généralement identifiables sur le terrain. Leur bonne connaissance permet la définition d'enjeux locaux de conservation. De plus, ils comprennent une grande partie des espèces concernées par des statuts réglementaires. Il s'agit des papillons de jour (lépidoptères rhopalocères), des sauterelles, criquets et grillons (orthoptères) et des libellules et des demoiselles (odonates).

#### ❖ Amphibiens

Notre présence durant la période d'étude permis de nous observer les têtards. les lézards, grenouilles, les tortues.

#### ❖ Reptiles

Comme pour les amphibiens, les gîtes utilisés spécifiquement par les reptiles (pierres plates, souches, buissons, tôles abandonnées...).

#### ❖ Oiseaux

L'observation des oiseaux d'eau du marais de Bousedra ont permis d'inventorier les espèces nicheuses et migratrices en halte et/ou de passage sur la zone d'étude. Lors de ces deux passages, tel que les Anatidés, les Ardéidées, les Ralidées, les Charadreiides ,les Ecurvirostridés ,les Ciconidés ,les Threskiornithires ,les Hoenicoptéridés ,les Podicipedidés

les Ibis falcinelle , les Spatule blanche, les Alidés ,les Récurvirostridés , les Laridés, Les Sternidés, les Pandionidés , les Chlidonias a verre.

#### ❖ **Mammifères**

Les mammifères ont été recherchées sous la forme d'indices de présence : empreintes, crottes, restes de repas ..., nous avons observé les bovins et les ovins.

### **II.1.6 Fonctions de la zone humide**

#### **II.1.6.1 Fonctions hydrologiques**

Elle joue un rôle essentiel dans la régulation et la filtration des eaux usées déversé directement dans son bassin et contribue au ralentissement du ruissellement pluvial. En effet, les eaux de crues sont canalisées vers le bassin de la zone humide ce qui évite l'inondation des agglomérations adjacentes (Aberkane, 2013).

#### **II.1.6.2 Fonctions biologiques**

La zone humide répond aux critères de classification de Ramsar. Elle suscite un intérêt pédagogique et scientifique particulier, notamment pour les institutions éducatives des wilayas limitrophes.

Elle représente un lieu de remise et de gagnage pour plusieurs oiseaux d'eau (Tamisier et Dehorter, 1999). Sa végétation joue un rôle primordial en offrant un habitat précieux pour la faune terrestre et semi-aquatique d'où son importance pour le maintien de la biodiversité. De même, les groupements de plantes aquatiques denses abritent une entomofaune abondante et diversifiée, qui y trouve nourriture et abri. Cette biomasse animale offre des proies en abondance aux oiseaux d'eau et aux poissons. Les groupements des plantes aquatiques émergentes sont des aires de reproductions de prédilection pour les oiseaux d'eau, les amphibiens, les reptiles et éventuellement les poissons (Aberkane, 2013).

#### **II.1.6.3 Fonctions socio-économiques**

Le marais de Bousedra est une partie prenante d'une vaste région agricole de la région d'El-Bouni. Les potentialités hydriques favorisent le pompage des eaux pour le refroidissement des grands instruments et des machines des usines avoisinants, ainsi que pour l'irrigation des terres agricoles. Les deux plans d'eau du marais servent de lieu d'abreuvement pour le cheptel ovin et bovin. Elle constitue un laboratoire à ciel ouvert pour les écologistes, microbiologistes, botanistes et erpétologies (Aberkane, 2013).

Les ressources en eaux de surface et souterraines sont l'une des richesses capitales du pays. L'eau reste une ressource limitée et vulnérable qui est indispensable à la vie, au développement et à l'environnement. Sa protection et sa bonne gestion sont donc une nécessité.

### III.1 Échantillonnage

Un examen microbiologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes (Rodier et al, 2005).

#### III.1.1 Matériel d'échantillonnage

##### a. L'analyse bactériologique

Les prélèvements destinés à l'analyse microbiologiques ont été réalisés dans des flacons en verre de 250ml munis d'un bouchon à vis métallique.

Avant l'usage, ces flacons doivent être soigneusement lavés, puis rincés avec une eau déminéralisée car il ne doit rester aucune trace d'un éventuel détergent ou antiseptique.

La manipulation est la même pour les bouchons. Par la suite les flacons sont séchés à l'abri de l'air puis bouchés (Rejsek, 2002; Merzoug, 2009; Boucherit, 2009).

La verrerie lavée est ensuite stérilisée soit à :

- La chaleur sèche (four Pasteur) à une température comprise entre 170 et 175°C, pendant une heure.
- La chaleur humide (autoclave) en le maintenant à une température de 121°C, pendant 20 minutes.

Les flacons d'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement. Une fois l'échantillon est prélevé, les flacons doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse (Merzoug, 2009; Rodier, 2009).

##### b. L'analyse Physico-chimique

Pour les prélèvements destinés à l'analyse physico-chimiques, ils sont réalisés dans des flacons propres en plastiques (Boucherit, 2009).

#### III.1.2 Mode de prélèvement:

L'échantillonnage n'est pas simplement une procédure de prélèvement d'une petite portion pour l'analyser. Il vise à fournir une information sur les caractéristiques microbiennes et physico-chimiques de cette eau prélevée. Une étude précise sur les courants, les marais, les

volumes, les types et les emplacements des rejets ainsi que sur les vents dominants aideront à déterminer les lieux d'échantillonnage.

Les lieux de prélèvement d'échantillons sont généralement choisis aux endroits où la profondeur de l'eau se situe entre 1 et 1.5m. Le flacon peut être plongé dans l'eau. Le haut vers le bas sous la surface de l'eau et puis retourné de telle sorte à le remplir à la profondeur voulue (généralement 30cm) (Aouissi *et al*, 2007).

Le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, il convient de laisser un petit vide d'air, permettant un mélange correct en secouant le flacon (Lightfoot, 2002; Chaouch, 2007) (Figure 10,11).



**Figure 10** : Prélèvement de l'échantillon en Station 01 (Photo prise par OUGHIDNI Selma)



**Figure 11** : Prélèvement de l'échantillon en Station 02 (Photo prise par SEBTI Bouchra)

### III.1.3 Enregistrement et étiquetage des échantillons

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et indétectables. Dans ces derniers, on doit noter avec précision; la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales, pour éviter toute confusion (Lightfoot, 2002).

### III.1.4 Transport et conservation de l'échantillon avant l'analyse

Pendant le transport, il faut éviter surtout la destruction de l'échantillon, ou, inversement la surcroissance de micro-organismes à l'intérieur de l'échantillon. Ceci peut être

obtenu en mettant l'échantillon à l'abri de la lumière visible ainsi que dans des températures ambiantes.

Habituellement, cette protection est obtenue grâce à l'utilisation d'une glacière contenant des poches de glace. On conserve généralement les échantillons à une température inférieure ou égale à +4C° (Raymond, 1977; Mayat, 1994).

### III.2 Nature et période de prélèvement

Pour contribuer à l'étude de l'évolution de la qualité bactériologique et physicochimique des eaux du Marais de Boussedra. Le travail est réalisé sur une période de trois mois (Février, Mars et Avril 2015), avec un prélèvement de deux stations (S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub>) par mois (Tableau 02).

**Tableau 02 :** Présentation des sites et période de prélèvement.

Nature de prélèvement	Stations	Date et temps de prélèvement		Types des analyses effectuées
Eau	Station 01	Prélèvement 1	21/02/2015 à 11 :01h	Mesures in situ
		Prélèvement 2	15 /03/2015 à 07:23 h	Analyses Physico-chimique
		Prélèvement 3	01/04/2015 à 10:55 h	
	Station 02	Prélèvement 1	21/02/2015 à 11 :45h	Analyses bactériologiques
		Prélèvement 2	15 /03/2015 à 08:45 h	
		Prélèvement 3	01/04/2015 à 11:44 h	

La totalité de nos analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie du département de biologie de l'université du 08 mai 1945 de Guelma.

Les analyses physico-chimiques, ont été réalisées dans le laboratoire de chimie de la station de traitement des eaux potables d'oued Seybouse ONA.

## III.3 Caractéristiques des points de prélèvement

Tableau 03 : Caractéristiques des stations de prélèvements

	Stations de prélèvement	Coordonnées GPS (Google Earth 2015)			Caractéristiques
		X	Y	Z	
Marais de Bousedra Coté Nord	S1	36° 50' 55.01'' N	7° 43' 40.60'' E	276	 <p>Près des rejets d'un égout urbains à une distance de 3mètres vers le marais et une profondeur d'eau de 60cm.</p>
	S2	36° 50' 47.29'' N	7° 43' 49.24'' E	428	 <p>Près des rejets urbains à une distance de 50 mètres du S1. La profondeur de l'eau est de 80 cm.</p>

**X, Y** : Coordonnées GPS      **Z** : L'Altitude

## III.4 Méthodes d'analyses physicochimiques

III.4.1 Mesures *in situ*

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place en plongeant directement le multiparamètre dans l'eau. La température, pH, conductivité électrique, O<sub>2</sub> dissous, salinité ont été mesurés à l'aide d'un multiparamètre de type WTW Multi (1970i).

### III.4.1.1 La couleur apparente

Une eau pure observée sous une lumière transmise sur une profondeur de plusieurs mètres émet une couleur bleu clair car les longueurs d'onde courtes sont peu absorbées alors que les grandes longueurs d'onde (rouges) sont absorbées très rapidement. La couleur des eaux de surface est due, généralement, à des substances colorées d'origine variées; (substance humiques, algues, substance minérales et rejets) (Rejsek, 2002).

- La substances humique ou fulviques provenant de la décomposition de la matière végétale.
- Algues pouvant donner une coloration variable en fonction pigments qu'elles contiennent.
- Substances minérales en particulier le fer et le manganèse dont les formes précipitées sot colorées.
- Rejet industriel, par exemple de teinturerie pouvant aussi colorés l'eau (Rejsek, 2002).

### III.4.1.2 La température

Elle joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique et dans la détermination de pH. D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et de leur origine (Leclerc, 1996).

La mesure de la température est effectuer sur le terrain, on utilise souvent dans ce but un thermomètre ou un multi paramètres. La lecture est faite après une immersion de 10 minutes (Rodier. 1996; Boukrouma, 2008) (Tableau 04)

**Tableau 04 :** Grille d'appréciation de la qualité de l'eau superficielle en fonction de la température (Monod ,1989).

Température	Qualité
< 20°C	Normale
20°C-22°C	Bonne
2 2°C-25°C	Moyenne
25°C-30°C	Médiocre
> 30°C	Mauvaise

### III.4.1.3 Le pH

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés et varie habituellement entre 7,2 et 7, 6. les eaux très calcaires ont un pH élevé et celles provenant de terrains pauvres en calcaire ou siliceux ont un pH faible, de l'ordre de 7 et parfois un peu inférieur (Tableau 05). En pratique, les eaux ayant un pH supérieur à 8 ou inférieur à 6 sont rare mais on peut rencontrer des pH plus élevées dans des situations d'eutrophisation d'eau stagnante (Rejsek, 2002).

**Tableau 05** : Classification des eaux d'après leur pH (Hakmi, (2002), Agrigon, (2000)).

pH	Nature de l'eau
pH<5	Acidité forte : présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
pH=7	PH neutre
7 < pH < 8	Neutralité approchée : majorité des eaux de surface
5,5 < pH < 8	Majorité des eaux souterraines
pH>8	Alcalinité forte, évaporation intense

### III.4.1.4 La conductivité électrique

La conductivité électrique d'une eau est le résultat de sa concentration en sels dissous son élévation entraîne souvent des pH hors norme, une salinité élevée, lorsqu'elle est due à l'excès d'ion de calcium (Dardar, 2010).

D'autre part, elle est la propriété que possède une eau de favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. La température et la viscosité influent également sur la conductivité car la mobilité des ions augmente avec l'augmentation de la température et diminue avec celle de la viscosité (Tableau 06) (Rejsek, 2002). L'unité de conductivité est le siemens par mètre et elle est l'inverse de la résistivité électrique (Rodier et al, 2005).

Pour la mesure de la conductivité, plonger la sonde dans le milieu à analyser, remuer avec soin et légèrement la sonde et attendre que la lecture se stabilise. Après utilisation, rincer les sondes à l'eau déminéralisée (Agrigon, 2000).

**Tableau 06** : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique (Merzoug, 2009).

Conductivité électrique ( $\mu\text{s/cm}$ )	Qualité des eaux
<b>CE &lt; 400</b>	Bonne
<b>400 &lt; CE &lt; 750</b>	Bonne
<b>750 &lt; CE &lt; 1500</b>	Passable
<b>1500 &lt; CE &lt; 3000</b>	Médiocre

**Tableau 07** : Classifications des eaux d'après leur conductivité (Agrigon, 2000; Hakmi, 2002).

X ( $\mu\text{s/cm}$ )	Types d'eaux
<b>0.005</b>	Eau déminéralisée
<b>10 &lt; X &lt; 80</b>	Eau de pluie
<b>30 &lt; X &lt; 100</b>	Eau peu minéralisée, domaine granitique
<b>300 &lt; X &lt; 500</b>	Eau moyennement minéralisée, domaine des roches carbonatées (karst)
<b>500 &lt; X &lt; 1000</b>	Eau très minéralisée
<b>1000 &lt; X &lt; 3000</b>	Eau très minéralisée, saumâtre ou saline
<b>X &gt; 3000</b>	Eau de mer

#### III.4.1.5 L'oxygène dissous

L'oxygène dissous est un paramètre très important pour les analyse des eaux, il est depuis très longtemps mesuré par des méthodes chimique, actuellement les sondes sont équipées d'électrode a oxygène. Il est exprimé en  $\text{mg l}^{-1}$ .

Comme c'est le cas pour tous les gaz atmosphériques, la solubilité, ou la saturation, de l'oxygène varie avec la température, la pression et la salinité (Amino, 1983 ; Loup, 1974).

### III.4.2 Mesures au laboratoire

#### III.4.2.1 Détermination des matières en suspension (MES)

##### ❖ Principe

L'eau est filtrée et le poids des matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle (Rodier, 1996).

##### ❖ Mode opératoire

- Mettre les membranes filtrantes dans une étuve à 105 °C pendant 20 minutes.
- Laisser refroidir dans le dessiccateur.
- Ensuite les peser soit (p1).
- Placer les membranes dans la rampe à filtration et faire passer 200 ml d'eau à analyser à travers.
- Rendre les membranes à l'étuve (105°C) afin de les sécher pendant 20 mn.
- Laisser les refroidir au dessiccateur puis les peser une 2<sup>ème</sup> fois (p2).

##### ❖ Lecture

Le résultat est exprimé par la formule suivante :

$$MES (mg/l) = (p_1 - p_2) \times 5 \times 1000$$

#### III.4.2.2 La demande chimique en oxygène (DCO)

##### ❖ Principe

La détermination de la demande chimique en oxygène comprend deux étapes : la première sert à l'oxydation chimique des matières organiques contenues dans l'eau par un excès de dichromate de potassium ( $K_2C_2O_7$ ), et la deuxième au dosage de l'excès de dichromate de potassium par le sel de Mohr après refroidissement (Rejsek, 2002).

##### ❖ Mode opératoire

Dans les tubes de DCO, on met :

- 10 ml d'eau à analyser.
- 5 ml de ( $K_2C_2O_7$ ).
- 3 à 4 granules régulateurs d'ébullition puis homogénéisé.
- 15 ml d' $AgSO_4$ .

- Agiter soigneusement le tube.
- La demande chimique en oxygène DCO est exprimée en mg/l est donnée par la formule suivante.

$$DCO = - 8COO C_{fe} ( V_t - V_e ) / E$$

### III.5 Analyses bactériologiques

Le principe général des techniques des analyses microbiologiques des eaux consiste à ensemencer une quantité connue d'eau à analyser sur un milieu de culture adapté, solide ou liquide. On suppose que, pendant l'incubation, chaque microorganisme présent se développe pour donner soit une colonie visible sur un milieu solide, soit des changements d'apparence dans un milieu liquide essentiellement un trouble de celui-ci (Rejsek, 2002). Le choix des méthodes d'examen microbiologique des eaux dépendra de la nature de L'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitées (Rodier et *al*, 2005).

Avant chaque prise d'essai, l'échantillon doit être homogénéisé soigneusement par agitation du flacon. Il est procédé dans un premier temps au dénombrement des microorganismes revivifiables, puis aux autres dénombrements (Rejsek, 2002).

L'étude de la variation de la population bactérienne globale, le dénombrement et la recherche des bactéries d'origine fécale et la recherche des bactéries pathogènes sont les grandes lignes des analyses bactériologiques des eaux (Guiraud, 1998).

#### III.5.1 Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C (germes totaux)

Microorganismes revivifiables nommés également mésophiles aérobies, Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 24h à 37°C). Ce dénombrement est souvent considéré comme accessoire par rapport aux autres dénombrements réalisés dans le contrôle bactériologique des eaux (Rodier, 2009).

#### ❖ Mode opératoire

A partir de l'eau à analyser et des dilutions décimales  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ , porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boites de Pétrie vides, numérotées et préparées à cet usage. Compléter ensuite chacune des boites avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à 45 °C

$\pm 1$  °C. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes. Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sans faire de bulles et sans mouiller les bords de la boîte. Laisser solidifier les boîtes sur la paillasse (Figure12) (Lebres, 2002 ; Rodier, 2009).

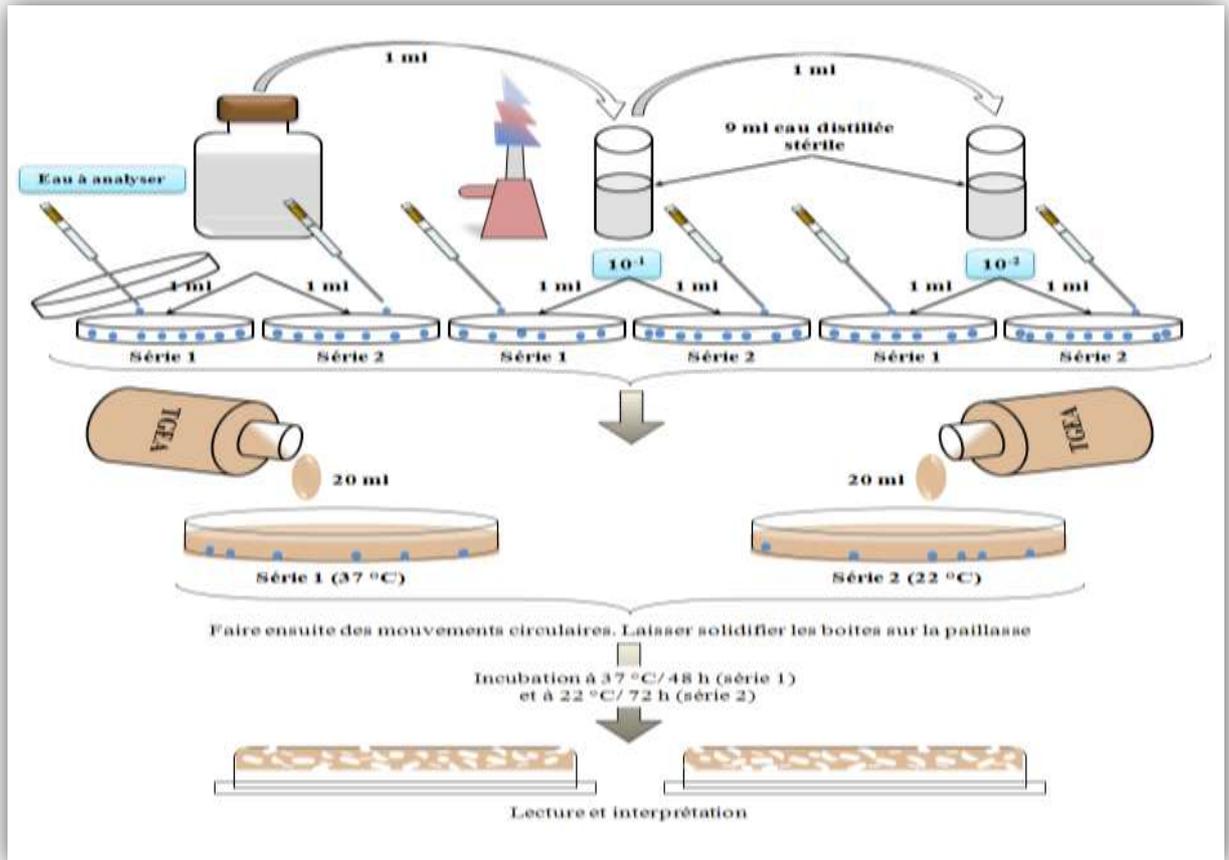
Les boîtes seront incubées couvercles en bas à  $37$  °C  $\pm 0,5$  °C pendant  $24 \pm 1$  °C heures. Examiner les boîtes dès que possible après la période d'incubation, sinon les conserver à  $4$  °C pendant 48 heures au maximum. Les germes revivifiables se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse, ne dénombrer que les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies (Rodier, 1996).

❖ **Interprétation :**

Calculer la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à  $37$ °C  $\pm 2$  °C en tenant que la moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante (Rodier, 1996; Lebres, 2002).

$$N = \frac{\sum c}{1.1 \times d}$$

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule. Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à  $37$  °C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par  $10^x$  où x est la puissance appropriée de 10. Exprimer les résultats en UFC/ml (Rodier, 2009).



**Figure 12 :** Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à 22°C et à 37°C dans les eaux.

### III.5.2 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

Les indicateurs de contamination fécale permettent d'apprécier, avec plus ou moins de sûreté ou de précocité, le risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des microorganismes pathogènes. On peut distinguer deux groupes de bactéries indicatrices de contamination fécale : les indicateurs spécifiques et les indicateurs non spécifiques (Rodier, 2009).

Les indicateurs spécifiques sont des espèces que l'on rencontre exclusivement dans les matières fécales : les streptocoques fécaux et les coliformes fécaux ou thermotolérants présents en concentration importante dans les selles des mammifères. Les indicateurs non spécifiques qui sont essentiellement les coliformes totaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs, peuvent se retrouver dans les matières fécales mais également vivre et se multiplier dans les milieux naturels (Rejsek, 2002).

### III.5.2.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux

Les coliformes sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatif, non sporulés, ne possédant pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37 °C (Camille, 2003).

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44 °C et de produire du gaz dans les 24 h à 44,5 °C (Roux, 2003).

L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli*, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés. (Prescott et al, 2003).

La recherche et le dénombrement des coliformes et l'identification d'*E. coli* ont été effectués par la méthode de nombre le plus probable (NPP) appelée aussi la colimétrie (Figure 13) (Délarras, 2007).

#### ❖ Mode opératoire :

##### a. Test présomptif :

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques.

- ✓ Nous prenons les tubes de BCPL (bouillon lactose au pourpre de bromocrésol, simple concentration) munis d'une cloche de Durham.
- ✓ Prélever 1ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et la porter dans le premier tube de la série contenant 10 ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-1}$ .
- ✓ Nous prélevons 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 10ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-2}$ .
- ✓ Transférer 1ml de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube contenant 10ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-3}$ .

- ✓ Refera la technique pour 2 autres tubes de BCPL afin d'obtenir 5 tubes de BCPL, et refaire pour 2 autres séries.

❖ **Lecture :**

Après incubation seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois:

- ✓ Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10<sup>ème</sup> de la hauteur de la cloche).
- ✓ Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

On retient le nombre caractéristique constitue par les trois chiffres écrit dans l'ordre des dilutions croissantes en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs.

Ce nombre caractéristique obtenu correspond d'après la table de Mac Grady (Tableau 04) (Annexe) au nombre de bactéries présentes (NPP) dans le prélèvement correspondant à la plus faible dilution prise en compte. Le calcul de concentration cellulaire dans la suspension initiale se fait en tenant compte les dilutions effectuées (Rodier, 2009).

**b. Test confirmatif (test de Mac Kenzie)**

Le test confirmatif est basé sur la recherche de coliformes thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

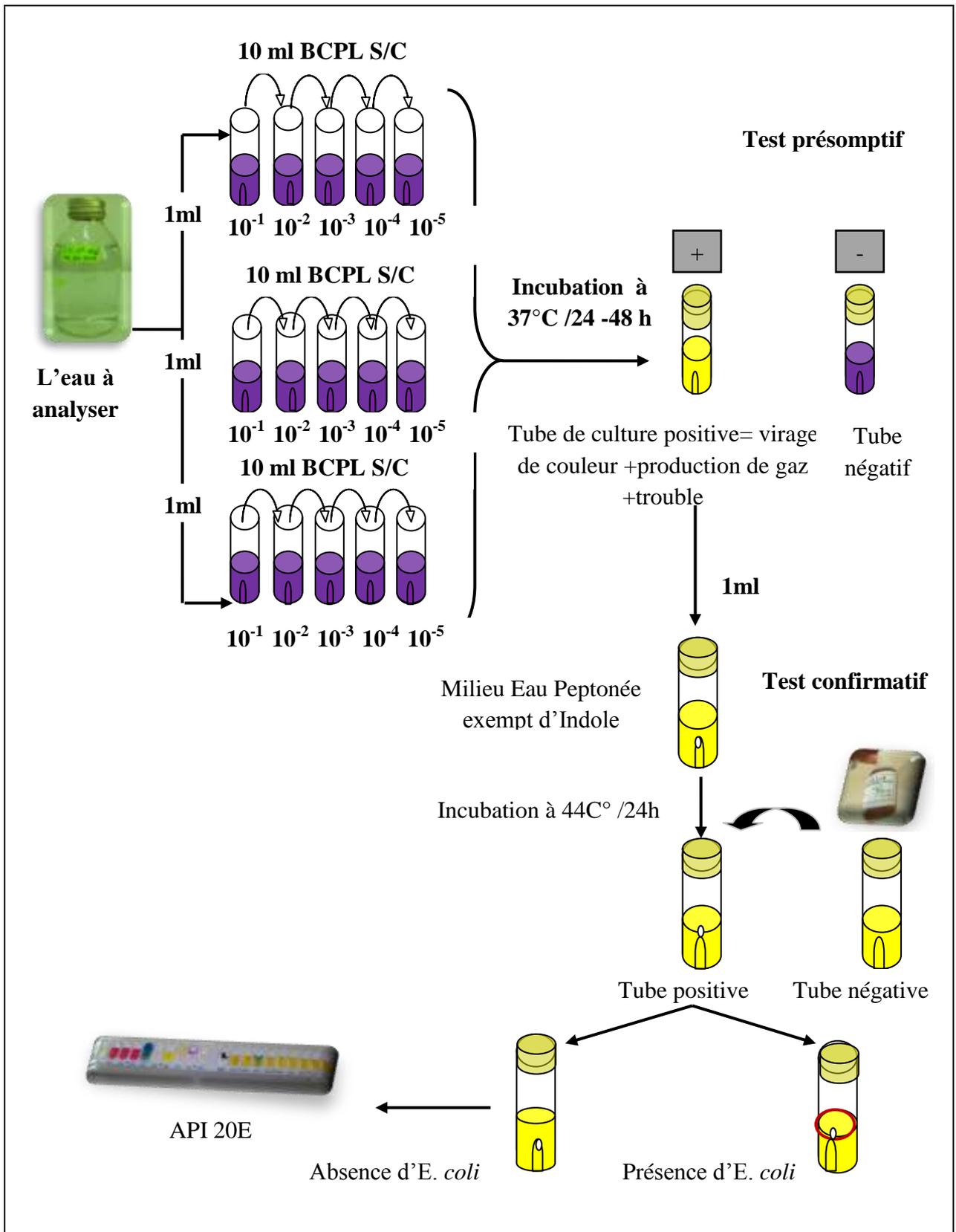
Repiquer chaque tube de BCPL trouvé positif avec une anse bouclée ou une pipette Pasteur dans le BCPL de confirmation. Comme milieu de confirmation, on a utilisé dans le premier prélèvement : le milieu eau peptonée exempte d'indole et pour le deuxième prélèvement : le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

Chasser l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 44 °C pendant 24 h.

❖ **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant :

- ✓ Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.



**Figure 13:** Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux (*E. coli*) dans les eaux.

### III.5.2.2 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Cette méthode consiste à la recherche des streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe D ; se présentent sous forme de cocci à Gram (+), formant quand ils sont cultivés en milieu liquide des diplocoques et/ou des chainettes, de catalase (-), immobile, anaérobie facultative, non sporulant et possédant de l'antigène de groupe D. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose et sont anaérobies - aéro-télorants (Engelkirk, 2008).

#### a. Test présomptif

##### ❖ Mode opératoire

La recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives (Figure 14) (Rejsek, 2002)

- ✓ A partir de l'eau à analyser, après homogénéisation ; porter aseptiquement 1ml dans un tube contenant 10 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution  $10^{-1}$ .
- ✓ Prélèvement 1ml de tube précédent  $10^{-1}$  et mettre dans le second tube Rothe pour avoir la dilution  $10^{-2}$ .
- ✓ Répéter la technique pour 2 autres tubes de Rothe afin d'obtenir 5 tubes, et refaire pour les deux autres séries.

##### ❖ Lecture

Après incubation, considérer comme positifs les tubes pour lesquels on observe un trouble dû à une croissance microbienne. Ces tubes doivent absolument faire l'objet d'un repiquage sur milieu Eva Litsky dans le but de confirmation des streptocoques du groupe D.

#### b. Test confirmatif

Les tubes de Rothe trouvés positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une pipette pasteur ou une ose bouclée dans tube contenant le milieu Eva Litsky. Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  ; pendant 24 heures.

##### ❖ Lecture

Sur le milieu de Eva Litsky, la présence de streptocoque du groupe D se caractérise par l'apparition d'un trouble dû au développement bactérien, avec ou sans dépôt violet. La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP de Mac Grady.

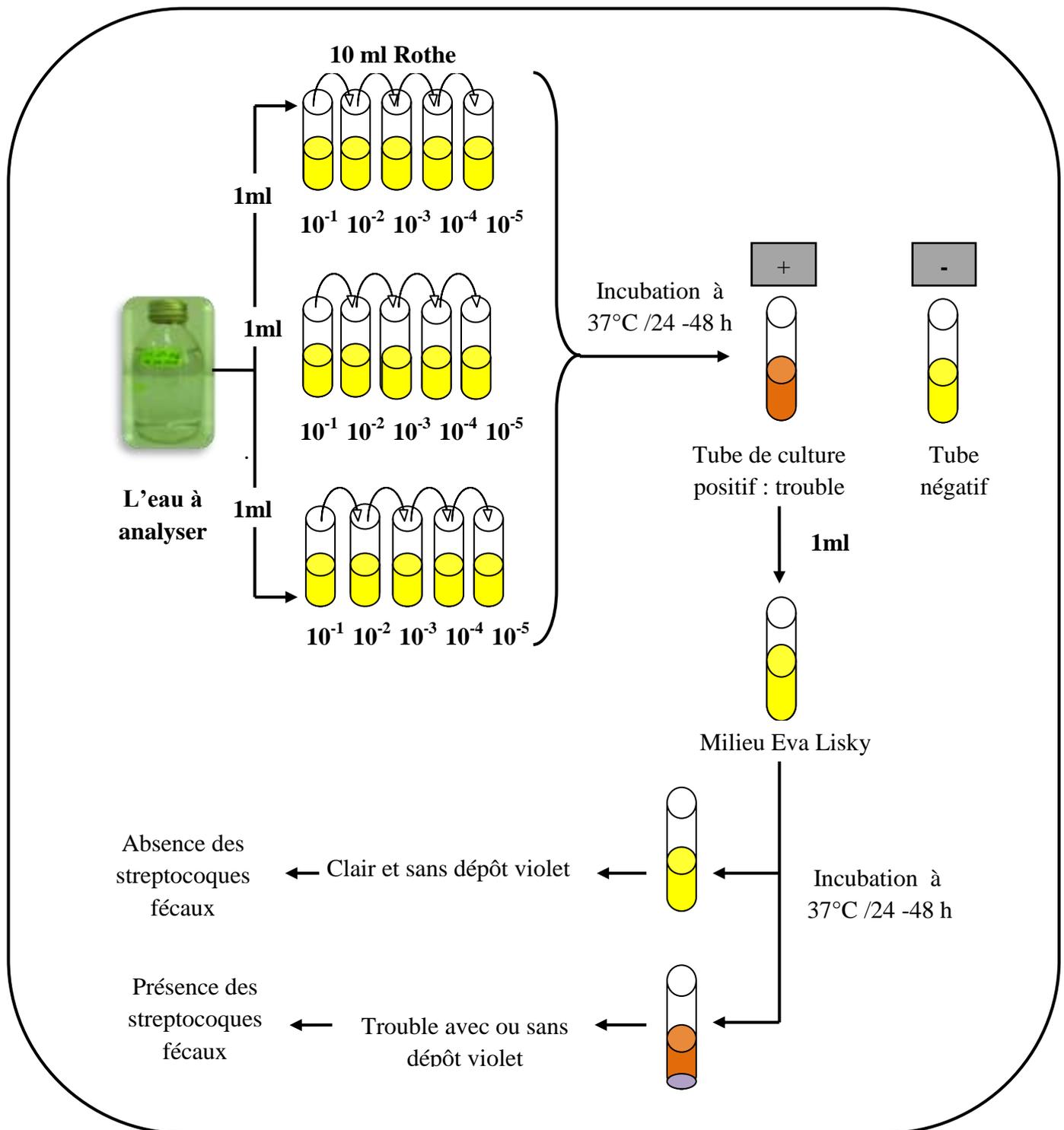


Figure 14 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux.

### III.5.3 Recherche et dénombrement des spores des anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)

Les bactéries anaérobies sulfito-réducteurs se présentent sous forme de bacilles Gram positif, ils sont anaérobies strictes, capables de sporuler et résistent longtemps dans l'environnement ; se développent à une température de  $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$  en 24 à 48 heures sur une

gélose viande foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de  $\text{Fe}^{+2}$  donne  $\text{FeS}$  (sulfure de fer) de couleur noire) (Lebres, 2002).

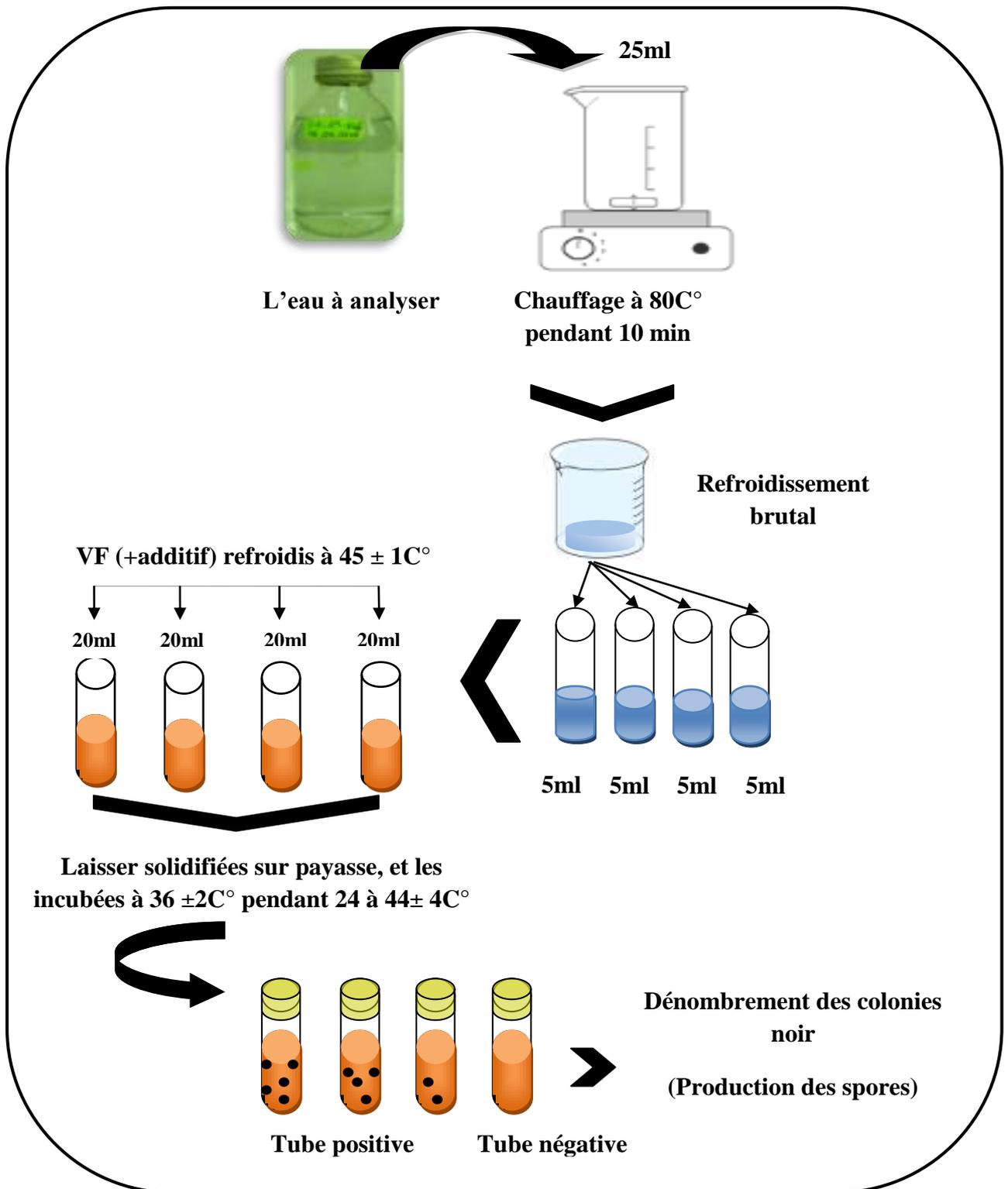
#### ❖ Mode opératoire

La recherche et le dénombrement des spores des ASR dans l'eau se fait par la méthode d'incorporation en gélose en tubes profonds (Figure15) (Rodier. 2009).

- ✓ Après l'avoir homogénéiser soigneusement, prendre environ 25 ml d'eau à analyser dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de  $80\text{ }^\circ\text{C}$  pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- ✓ Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet.
- ✓ Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- ✓ Ajouter dans chacun d'eux environ 20 ml de gélose viande foie, fondue puis refroidie à  $45 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ , additionnée de 1 ml de la solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de la solution d'alun de fer.
- ✓ Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air.
- ✓ Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à  $37\text{ }^\circ\text{C}$  pendant 24 à 48 heures.

#### ❖ Lecture et interprétation

Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir. Il est indispensable de procéder à une lecture après 24 heures : en présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible après 48 heures. Par contre, s'il y a une faible quantité de colonies à la première lecture, et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes. Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, ayant poussé en masse et rapporter le nombre total des colonies dans les quatre tubes à 20 ml d'eau à analyser.



**Figure 15 :** Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réducteurs

### III.6 Recherche des germes pathogènes

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'homme dans tous les types d'eaux. Celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains, soit étant autochtones et pouvant s'adapter à l'homme : *Campylobacter jejuni*, *Legionella pneumophila*, leptospires, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Shigella*, staphylocoques pathogènes, *Vibrio*, *Yersinia enterocolitica* (Rodier, 2009).

Le travail d'ensemencement des microorganismes se pratique sur une paillasse conforme à la réglementation autour de la flamme d'un bec Bunsen. L'ensemencement par stries sur boîtes de Pétrie est pratiqué le plus souvent dans un but d'isolement. L'inoculum est prélevé directement à partir de l'eau à analyser est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface (méthode des quadrants). Un isolement est effectué à l'aide d'une anse de platine ou une pipette Pasteur à usage unique stérile (Denis et al, 2007).

#### III.6.1 Recherche des Salmonelles

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatifs (BGN), anaérobies facultatives, mobiles pour la plupart avec des flagelles péritriches, ne fermentant pas le lactose, mais fermentant le glucose avec production de gaz et de H<sub>2</sub>S (Labres et al, 2008).

##### ❖ Mode opératoire

###### ➤ Premier enrichissement

Introduire 1 ml de l'échantillon d'eau dans 10 ml de Sélénite Cystéine (SFB), puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures (Figure16).

###### ➤ Deuxième enrichissement et isolement

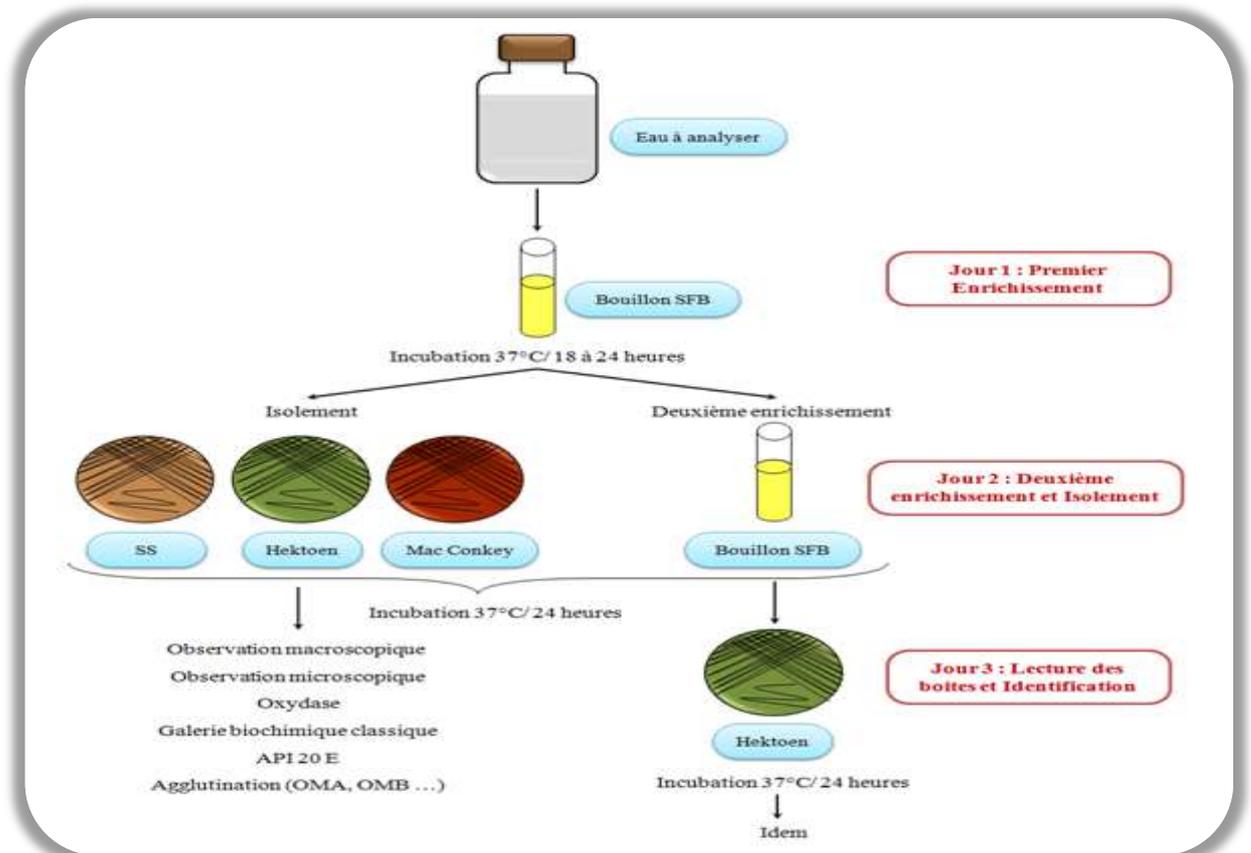
- ✓ un deuxième enrichissement sur milieu SFB en tubes à raison de 1 ml.
- ✓ un isolement sur les géloses Hektoen, SS et Mac Conkey.

###### ➤ Lecture des boîtes et identification

- ✓ D'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un isolement.
- ✓ D'autre part, les boîtes des géloses Hektoen SS et Mac Conkey subira une lecture.

### ➤ Identification morphologique et biochimique

- ✓ Etat frais et coloration de Gram (bacilles Gram négatifs).
- ✓ Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C pendant 24 h, qui va être identifié soit par :
  - \* la galerie biochimique classique (ONPG, Oxydase, LDC, ODC, ADH, Urée, TDA, VP, RM...).
  - \* la galerie biochimique, API 20 E.



**Figure 16** : Protocole opératoire de la recherche de *Salmonella* dans les eaux.

### III.6.2. Recherche des Shigelles

Les Shigelles sont des Enterobacteriaceae, rencontrées exclusivement chez l'homme, elles ne font partie d'aucune flore commensale chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif, éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que peu de temps. Classiquement elles sont divisées en 4 espèces sur la base des caractères biochimiques et antigéniques : *S. dysenteriae* subdivisée en 16 sérotypes,

*S. flexneri* en 6 sérotypes, *S. boydii* en 20 sérotypes, et *S. sonnei* (un seul sérotype) (Lebres, 2002).

#### ❖ Culture

Il n'existe pratiquement pas un milieu d'enrichissement adapté à *Shigella*. Pour chercher du *Shigella*, à partir de l'échantillon mère on prélève 0,1 ml et on l'étale sur la surface des géloses Hektoen, SS et Mac Conkey par la méthode des quatre quadrants. L'incubation se fait à 35 – 37 °C pendant 18 - 24 heures (Figure 17).

#### ❖ Identification

Les *Shigelles* sont caractérisées par de nombreuses réactions négatives :

- ✓ Etat frais
- ✓ Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs) ;
- ✓ Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37 °C, 24 h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H<sub>2</sub>S)
- ✓ Ensemencement : \* Soit d'une galerie biochimique classique (ONPG, Oxydase, LDC, ODC, ADH, Urée, TDA, VP, RM ...),  
\* Ou d'une galerie biochimique API 20 E.

**Tableau 08** : Caractères d'identification biochimique de *Shigella*. (Sayad, 2008)

Milieu	Tests	<i>Shigella</i>
<b>TSI</b>	Glucose	+
	Lactose	-
	Saccharose	-
	H <sub>2</sub> S	-
	Gaz	-
<b>Mannitol – mobilité</b>	Mobilité	-
<b>Urée – indole</b>	Uréase	-
	TDA	-
<b>Citrate de Simmons</b>	Citrate	-

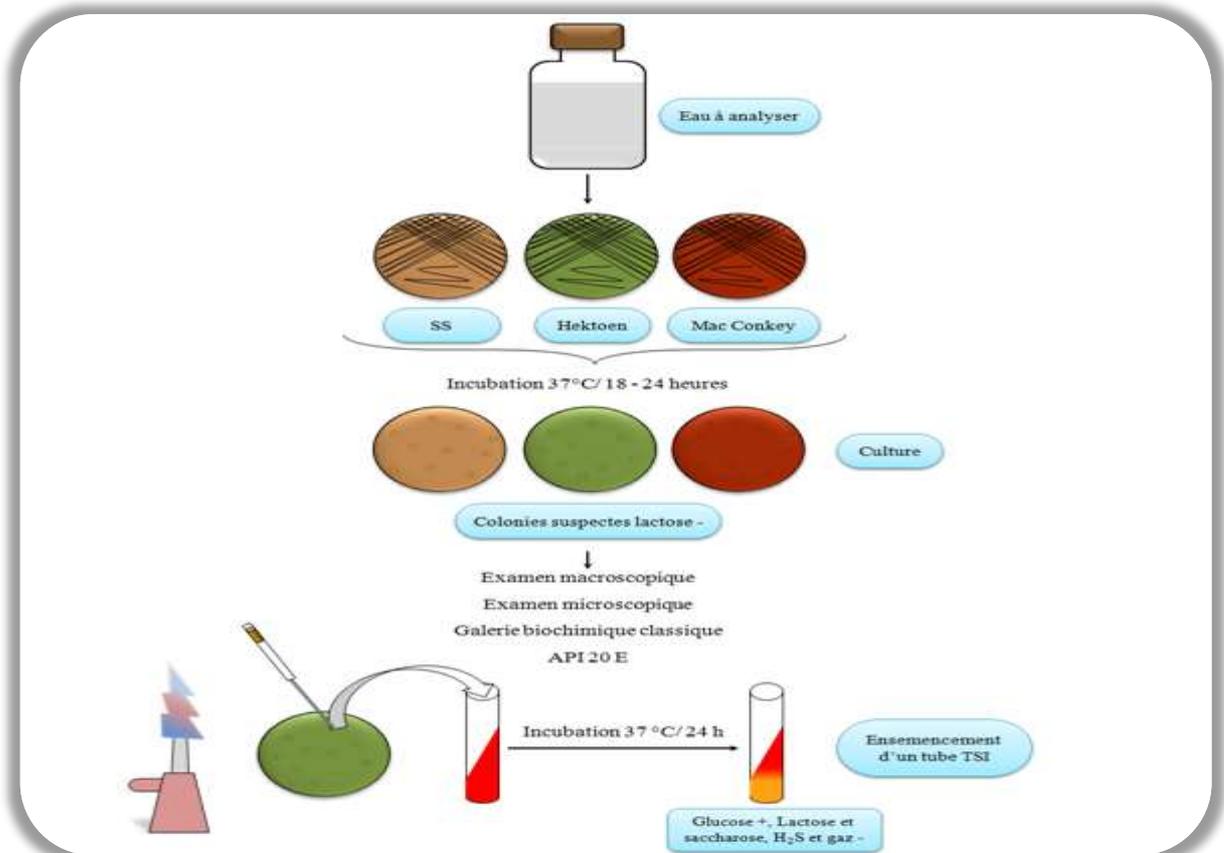
Le tableau donne les caractères différentiels entre les différentes espèces appartenant au genre du *Shigella*.

**Tableau 09 :** Caractères biochimiques différentiels des différentes souches de *Shigella* (Aouissi, 2009 ; Carbonnelle et al, 1989).

	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
<b>Mannitol</b>	-	(+)	+	+
<b>ODC</b>	-	-	(-)	+
<b>ONPG</b>	(+)	-	(-)	d
<b>Indole</b>	d	d	d	-
<b>Gaz en glucose</b>	-	- ou d	- ou d	-
<b>Dulcitol</b>	(+)	(-)	(-)	-
<b>Xylose</b>	d	(-)	d	-
<b>Rhamnose</b>	d	d	(-)	+

(-) négatif pour la majorité des souches.

(+) positif pour la majorité des souches.



**Figure 17 :** Protocole de recherche de *Shigella* dans les eaux.

### III.6.3 Recherche des Staphylocoques

Le nom commun « *Staphylococcus* » qui dérive du grec « staphylé », grappe de raisin, et « kokkos », grain), a été proposé par Ogston en 1883 pour désigner des coques regroupés en amas irréguliers sous forme de grappes de raisin responsables d'infections suppurées chez l'homme. Les espèces de genre *Staphylococcus* peuvent être classées en fonction de leur capacité à coaguler le plasma de lapin. Ce sont des cocci à Gram positif, ils sont immobiles, non sporulés, et aérobies ou anaérobies facultatifs. (Parmi les espèces retrouvées chez l'homme, trois occupent une place privilégiée : *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus* (Federighi, 2005).

#### ❖ Culture :

Pour les produits polymicrobiens, on a recours à des milieux sélectifs tels que le milieu de Chapman qui est un milieu gélosé hypersalé (7,5 % de Na Cl) et contient du mannitol. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures (Figure18) (Denis et al, 2007).

#### ❖ Identification :

Les colonies sont alors entourées d'un halo jaune puisqu'elles fermentent le mannitol tout comme parfois *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* et *S. cohnii*.

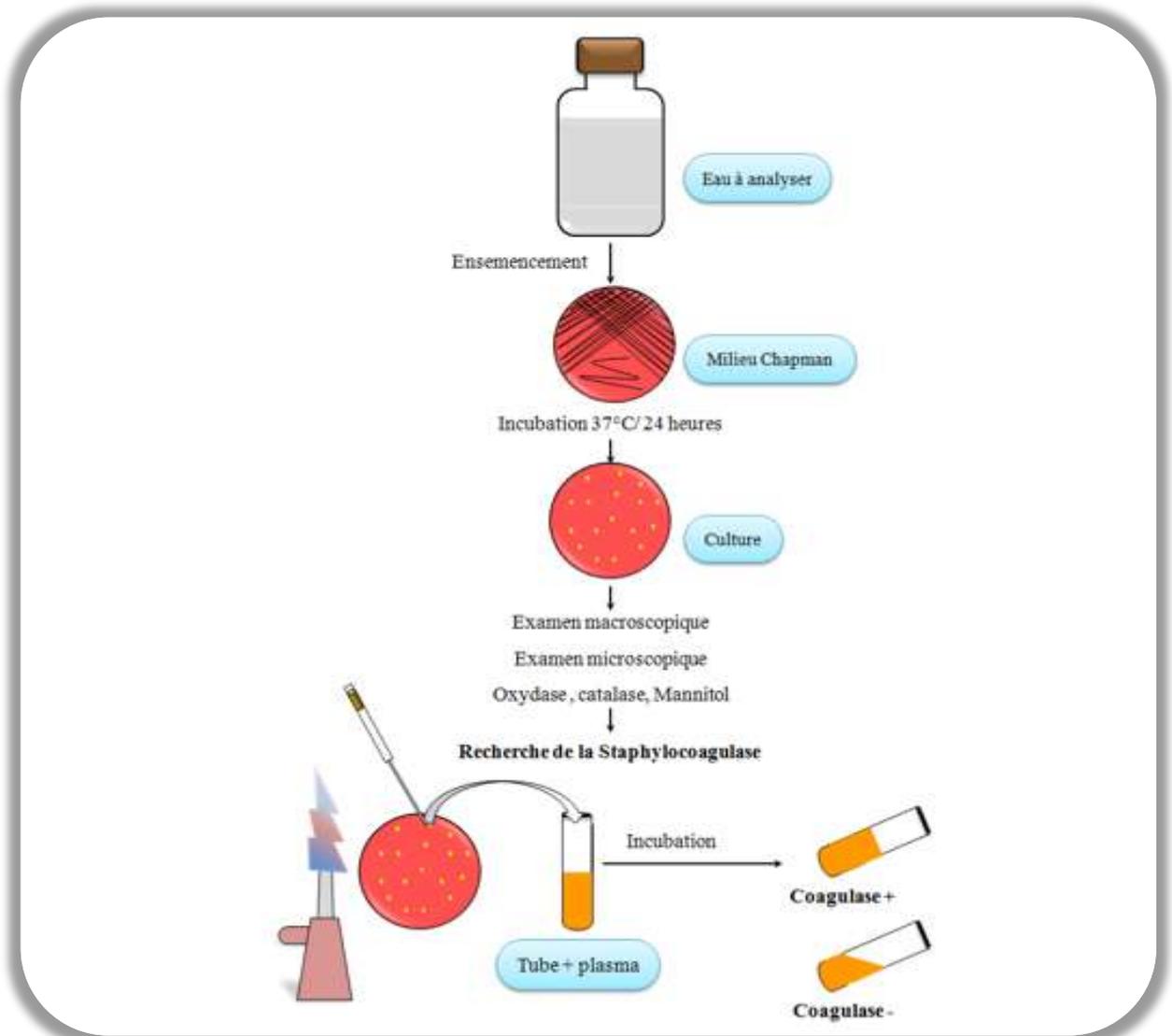
Les souches de *Staphylococcus aureus* sont de taille importante et élaborent leurs propre pigment; elles apparaissent en jaune, surmontant une zone jaune par la suite de la fermentation du mannitol. L'identification des staphylocoques nécessite la mise en œuvre de réactions spéciales au genre (Rodier, 1996):

- Etat frais et coloration de Gram
- Test à la catalase
- Oxydase
- Mannitol
- Recherche de la coagulase libre

**Tableau 10 :** Les principaux caractères discriminants permettant le diagnostic d'espèce de *Staphylococcus* (Grosjean et al, 2009 ; Sayad, 2008 ; Denis et al, 2007)

	<i>S. aureus</i>	<i>S. Intermedis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>
<b>Catalase</b>	+	+	+	+
<b>Coagulase</b>	+	+	-	-
<b>Mannitol</b>	+	-	+	-
<b>Résistance à la Novobiocine (5 µg)</b>	S	S	R	S

V : 11 à 89 % des souches positives, S : Sensible, R : Résistante



**Figure 18:** Protocole de recherche de *Staphylococcus* dans les eaux.

### III.6 .4 Recherche de *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles Gram négatif, droits et fins, aux extrémités arrondies, mobiles (à ciliature polaire), aérobies stricts, oxydase positive et se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. *P. aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) est mésophile tandis que la majorité des espèces sont psychrotrophes. La bactérie est très répandue dans l'eau et les milieux humides. Elle peut aussi coloniser l'homme (Nauciel et *al*, 2005).

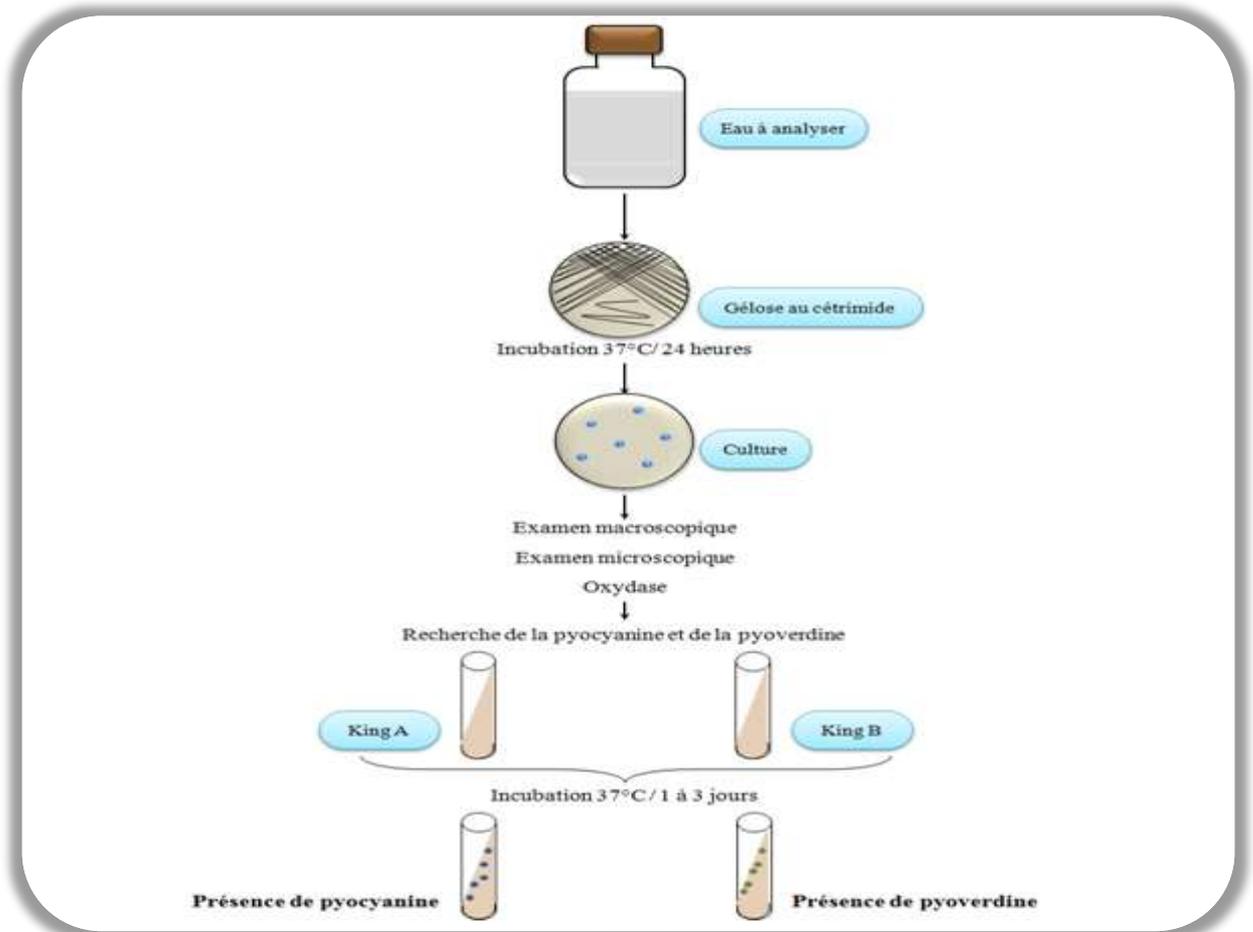
#### ❖ Culture :

*P. aeruginosa* cultive facilement sur milieux ordinaires en développant une odeur de seringa (fleur de la famille des Philadelphacées encore appelée « jasmin des poètes »). La température optimale de croissance est de 30 °C. A partir de prélèvement polymicrobiens, il est nécessaire d'avoir recours à un milieu sélectif contenant du Cétrimide. L'incubation se fait à 37 °C pendant 48 heures (Figure 19) (Denis et *al*, 2007).

#### ❖ Identification :

Considérer comme colonie caractéristique toute colonie présentant une fluorescence. Du fait de la sélectivité du milieu Cétrimide, on peut suspecter les colonies présentes d'être *Pseudomonas*. Dans tous les cas, il faudra réaliser une identification de l'espèce:

- Coloration de Gram.
- Examen directe entre lame et lamelle (état frais), il permet d'observer la mobilité des germes
- Oxydase
- Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de (*Pseudomonas aeruginosa*) responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.
- Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent (*P. fluorescens*) est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B.



**Figure 19** : Protocole de recherche de *Pseudomonas* dans les eaux.

### III.6.5 Recherche de *Vibrio*

Le genre *Vibrio* fait partie de la famille des *Vibrionaceae*. Les espèces de *Vibrio* qui sont le plus souvent à l'origine de phénomènes pathologiques chez l'homme sont: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*. Leur température de croissance va de 18 à 40 °C et la zone de pH permettant leur culture va de 6 à 9 (Cohen et Karib, 2007).

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, assez court, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8  $\mu\text{m}$  et une longueur comprise entre 1,4 et 2,6  $\mu\text{m}$ , très mobiles grâce à une ciliature polaire, le plus souvent monotriche. Ils sont aéroanaérobies facultatifs et possédant une oxydase et fermentant le glucose sans production de gaz ni d' $\text{H}_2\text{S}$  (Harvey et al, 2007).

**❖ Mode opératoire****➤ Premier enrichissement**

Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu eau peptonée alcaline (EPA) réparti à raison 7 ml en tubes. On ajoute aseptiquement 1ml d'eau à analyser, ce dernier sera par la suite incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures (Figure 20) (Lebres, 2002).

**➤ Deuxième enrichissement et isolement**

Ce flacon fera l'objet :

- ✓ D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu EPA en tubes à raison de 1 ml
- ✓ D'autre part, d'un isolement sur gélose GNAB. L'incubation se fait donc à 37 °C pendant 24 heures.

**❖ Lecture des boîtes et identification**

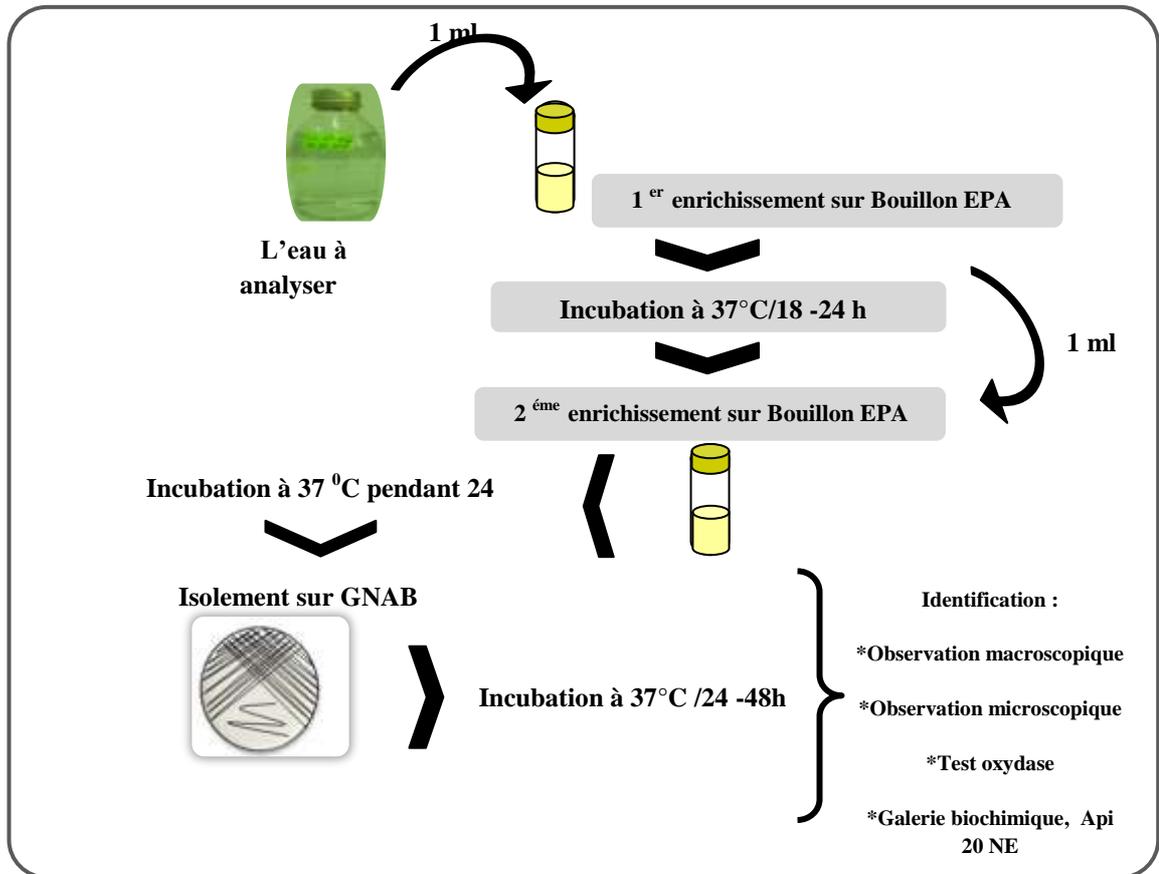
- ✓ D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB (Lebres, 2002)
- ✓ D'autre part, les boîtes de gélose GNAB subiront une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques.

**❖ Identification morphologique et biochimique**

Sur GNAB, les colonies sont rondes, plates, bord réguliers, surface lisse brillantes, translucides sous forme de goutte de rosée.

Une identification morphologique et biochimique basée essentiellement sur :

- ✓ Etat frais et coloration de Gram
- ✓ Oxydase (+)
- ✓ Ensemencement d'une galerie API 20 NE.



**Figure 20:** Recherche et identification de *Vibrio* dans les eaux.

### III. 7 Identification

#### III.7.1 Examen macroscopique des caractères cultureux

Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques (Singleton, 1999). L'aspect des colonies dépend du milieu et de l'incubation (Temps et température). Observer à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire les colonies développées sur les milieux gélosés et noter les caractéristiques suivantes :

- ❖ La taille : colonies petites (< 1 mm), moyennes (1,5 à 3 mm), grosses (> 3 mm)
- ❖ La forme : Bombée, plate, ombiliquée, surélevée
- ❖ Le contour : à bords circulaire, irrégulières et parfois envahissantes, déchiquetées et parfois envahissantes
- ❖ Elévation de la colonie : convexe, légèrement convexe, plate
- ❖ L'opacité : opaque, translucide, transparente

❖ Pigmentation (Délarras, 2007)

Pour l'examen macroscopique des champignons, on note surtout :

- La vitesse de pousse : rapide, lente ou très lente.
- La taille : colonies petites, étendues, envahissantes.
- L'aspect des colonies : les champignons levuriformes donnent des colonies lisses, glabres, humides, d'aspect brillant ou mat, parfois rugueuses. A l'opposé, les filamenteux ont une texture différente : duveteuse, laineuse, cotonneuse, veloutée, poudreuse ou granuleuse.
- Le relief des colonies : plates, plissées, cérébriformes ...
- La couleur recto verso : colonie blanche, noire, crème ou colorée (verte, brune, orangée, grise, violettes ...).
- Pigment : présence, absence, diffusible ou non (Chabasse et *al*, 2002).

### III.7.2 Examen microscopique

L'examen microscopique peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais) ou bien après coloration de l'échantillon ou encore après réaction d'immunofluorescence (Denis et *al*, 2007)

❖ **L'examen direct (Etat frais)**

Une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne sans fixation préalable par la chaleur ou l'alcool (Denis et *al*, 2007). Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupements, leur abondance et leur mobilité (Delarras, 2007 ; Delarras et Trébaol, 2003)

L'examen direct proprement dit se réalise en déposant, sur la lame une goutte du liquide ou de la suspension microbienne à examiner. Cette goutte est recouverte d'une lamelle. Observer au microscope optique à (l'objectif × 40) (Carbonnelle et *al*, 1988)

❖ **Coloration de Gram**

Les techniques les plus communément utilisées au laboratoire de bactériologie médicale font appel à des colorations. La préparation est fixée sur une lame puis colorée (bactéries tuées et colorées) (Denis et *al*, 2007)

- A l'aide d'une boucle d'inoculation (ou pipette Pasteur), on dépose une goutte d'eau sur une lame propre, puis on ajoute à cette eau une colonie.

- On étale cette suspension sur une surface d'un ou deux centimètres carrés et on laisse sécher, ce qui donne un frottis. Le frottis est ensuite fixé par des passages rapides dans la flamme d'un bec Bunsen (Singleton, 2005)

La coloration de Gram est considérée comme une référence en bactériologie, elle distingue les bactéries à Gram positifs et Gram négatifs. (Murray et al, 2009 ; Denis et al, 2007). Elle est réalisée comme suit :

- Recouvrir la lame de violet de gentiane : 1 minute
- Recouvrir de lugol : 1.30 minute
- La lame est tenue inclinée et décolorer à l'alcool pendant 10 secondes
- Recouvrir la lame de fuchsine diluée, 30 secondes à 1 minute. Laver à l'eau
- Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur
- Recouvrir le frottis coloré par l'huile à l'immersion et observer au microscope optique à (l'objectif  $\times 100$ ) (Denis et al, 2007)

Les bactéries à Gram positifs doivent apparaitre colorées en violet et les bactéries à Gram négatifs en rose (Denis et al, 2007).

### III.7.3 Examens liés aux caractères biochimiques

#### III.7.3.1 API 20 E

Destiné pour la famille des Enterobactériacées la galerie API 20E compte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification (Annexes 1).

#### III.7.3.2 API 20 NE

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification (Annexes 1).

## IV.1 Les paramètres physicochimiques mesurés *in situ*

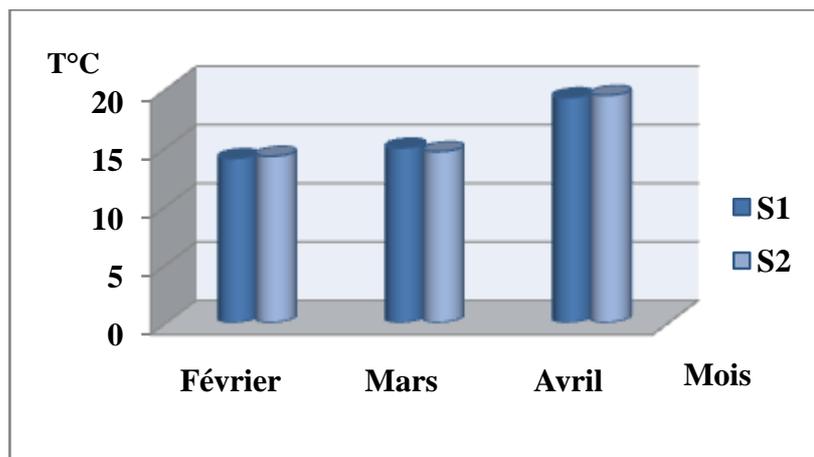
### IV.1.1 La couleur apparente

La coloration de l'eau peut être causée par la présence de minéraux naturels (le fer et le manganèse), Les algues, les protozoaires, les produits de la décomposition des végétaux de même que les composés organiques et inorganiques provenant d'effluents industriels et des eaux de ruissellement des terres agricoles peuvent aussi teinter l'eau (Rejsek, 2002).

Durant notre période d'étude nous avons constaté que la couleur l'eau analysée est claire au mois de Février et trouble au mois de Mars peut être à cause d'élévation des rejets urbains qui se trouvent en voisinage avec le marais de Boussedra avec une couleur claire au mois d'Avril 2015, ces eaux présentent mauvaises odeurs et mauvais gout.

### IV.1.2 La température de l'eau

La température varie d'un prélèvement à un autre selon le la position, le climat et l'heure de prélèvement (Idaoui, 2012).



**Figure 21 :** Variations spatio-temporelles de la température de l'eau du marais de Boussedra

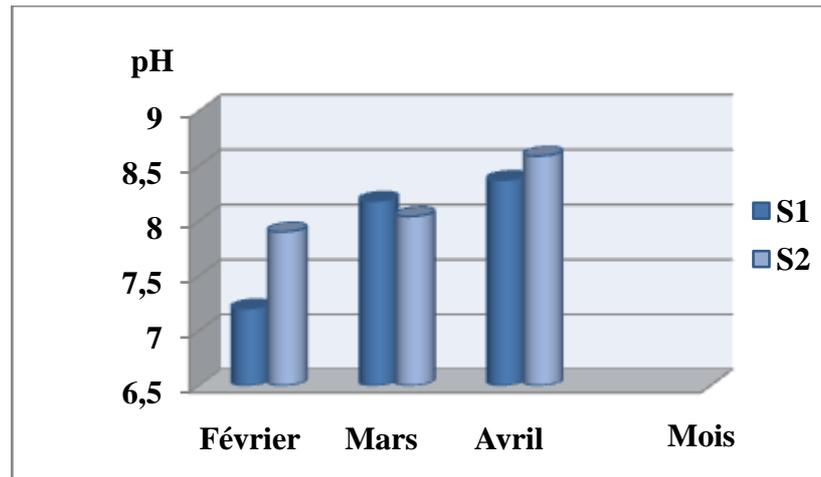
D'après les résultats (Figure 21), la température minimale de l'eau de marais Boussedra est 14°C enregistrée dans le mois de Février au niveau de la station (S1) tandis que la valeur maximale est 19.6°C notée pendant le mois de Mars au niveau la station (S2).

La température moyenne mesurer *in situ* de l'eau est 17°C, une température où les germes peuvent se multiplie et influencent la qualité de l'eau du marais.

Selon la grille d'appréciation de la qualité générale de l'eau (Masson, 1988), l'eau à analysé est de la qualité normale.

### IV.1.3 Le pH

Le pH des écosystèmes aquatiques est utilisé comme paramètre substitut pour représenter les relations complexes entre la chimie de l'eau et les effets biologiques. Il donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité d'une eau. De point de vue sanitaire, un pH élevé peut provoquer un problème de corrosion alors qu'un pH faible peut modifier le goût de l'eau (Boudraa, 2011).



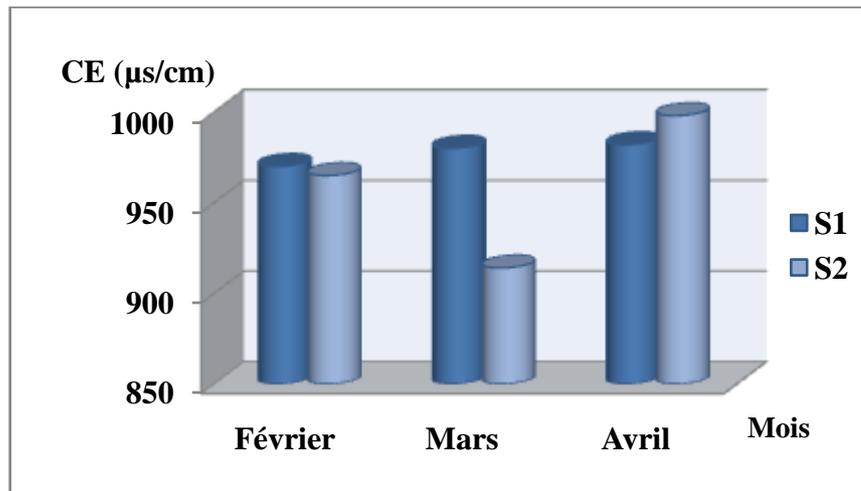
**Figure 22 :** Variations spatio-temporelles du pH de l'eau du marais Boussedra.

Toutes les stations ont des valeurs qui oscillent autour de la neutralité ; entre 7.2 la valeur minimale notée au niveau de la station (S1) au mois de Février, et pour la station (S2) a enregistré une valeur maximale de 8.59 pendant le mois d'Avril.

La grille d'appréciation (Masson, 1988) de la qualité de l'eau, nous permet de conclure que l'eau est de bonne qualité.

### IV.1.4 La conductivité électrique

D'une manière générale, la diminution de la conductivité électrique pendant les périodes pluviales peut être attribuée à un phénomène de dilution, Cependant, ce paramètre croît progressivement avec l'évaporation de l'eau au cours de la période estivale (Mehennaoui, 1998).



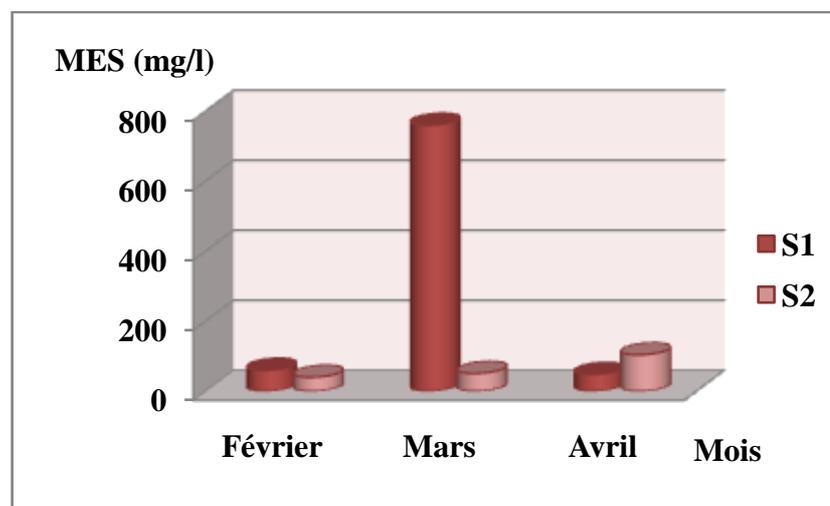
**Figure 23 :** Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau du marais Bousedra.

D'après nos résultats, la valeur la plus faible est de 914  $\mu\text{s}/\text{cm}$  enregistrée au niveau de la station (S2) au mois de Mars, la plus élevée est enregistrée au niveau de la station (S2) avec une valeur de 998  $\mu\text{s}/\text{cm}$  au mois d'Avril.

L'eau du marais de Bousedra est de qualité passable et le type de l'eau est très minéralisé.

#### VI.1.5 Matières en suspension (MES)

Toutes les eaux superficielles contiennent des Matières en suspension et des teneurs de quelques mg/l ne posent pas de problèmes majeurs. Leurs teneurs et leurs compositions minérales et organiques sont très variables (Mebarki, 1982).



**Figure 24 :** Variations des MES en mg/l de l'eau du marais Bousedra.

D'après le graphe représenté dans la figure 24, les valeurs des MES varient de manière régulière dans toutes les stations. Elles sont importantes durant la saison pluvieuse.

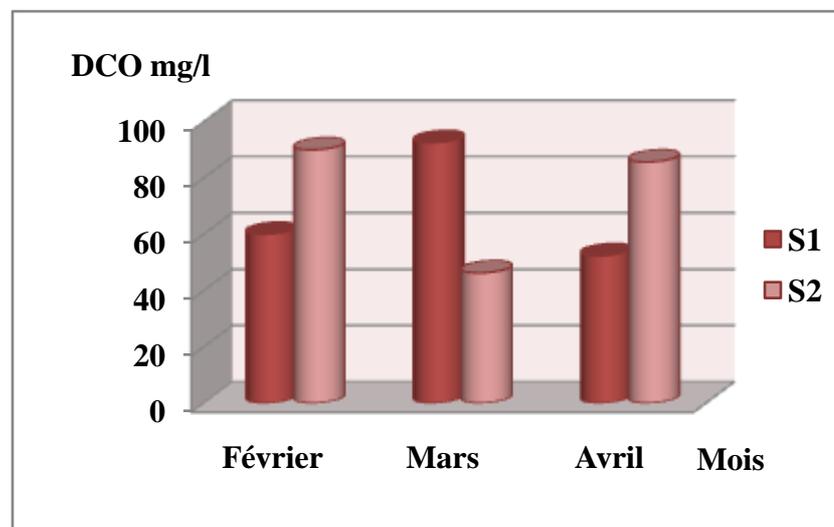
Le taux de la matière en suspension varie de 300 mg/l durant le mois d'Avril au niveau de la station (S2) et 760 mg/l durant le mois de Mars au niveau de la première station (S1).

Ces résultats dépassent la valeur admissible par la norme de rejet de l'OMS (30 mg/l) et à celle du Journal Officiel de la République Algérienne limitée à 40mg/l (J.O.R.A, 2006).

#### IV.1.6 Evolution de DCO

La demande chimique en oxygène, ou DCO, est l'un des paramètres de la qualité d'une eau. Elle représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder toute la matière organique contenue dans une eau.

Cette valeur est obtenue en faisant réagir des échantillons d'eau avec un oxydant puissant (le bichromate de potassium) et s'exprime en milligramme d'oxygène par litre d'eau (5).



**Figure 25 :** Variations de DCO en de l'eau du marais Boussedra.

D'après le graphique figuré ci-dessus (figure 25) les valeurs enregistrées montrent une variation durant les trois mois d'étude Février, Mars et Avril 2015. La valeur minimale de la DCO est de 46,28 mg/L au niveau de la deuxième station (S2) au mois de Mars.

La valeur maximale est représenté un pic de 92,56 mg/L au niveau de station (S2) .La présence de ce paramètre chimique confirme la présence des sels minéraux et les composés organiques dans l'eau du Marais Boussedra.

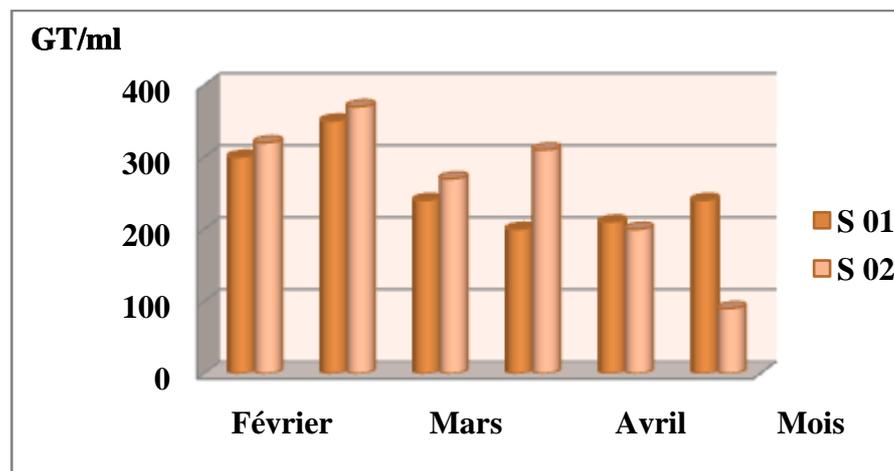
## IV.2 Les analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques des eaux du Marais Bousedra ont montrées une grande variation des concentrations des microorganismes.

### IV.2.1 Recherche et dénombrement des germes totaux

Bien que la présence de bactéries revivifiables en grande quantité n'ait aucune valeur indicative, leur dénombrement doit être régulièrement effectué car une évolution importante, peut être représentative d'un apport contaminant (matière organique par exemple). (Bouchaala, 2010).

Les analyses effectuées nous révèlent que le nombre des germes totaux est très élevé et fluctue d'un mois à un autre et même d'une station à une autre.



**Figure 26:** Estimation de nombre des germes totaux à 22°C et à 37°C.

Pour le dénombrement des germes totaux à 22 °C, la valeur la plus élevée est enregistrée dans la station 02 pendant le mois de Février avec  $3.2 \times 10^2$  UFC/ml. La valeur minimale est de  $2 \times 10^2$  UFC/ml dénombrée dans la station 02 pendant le mois de Février (Figure 26)

Pour le dénombrement des germes totaux à 37 °C, la valeur la plus élevée est enregistrée toujours dans la station 02 pendant le mois de Février avec  $3.7 \times 10^2$  UFC/ml. La valeur minimale est de  $2 \times 10^2$  UFC/ml dénombrée dans la station 01 pendant le mois de Mars (Figure 26).

Ceci, peut être le résultat du phénomène de dilution survenu après les chutes de pluie (qui était instable cette année durant le mois de Mars), et de la température de l'eau.

Les bactéries revivifiables ne sont pas forcément d'origine fécale mais ont également une origine humaine, animale ou tellurique.

Permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture c.à.d. teneur moyenne en bactéries d'une ressource.

Leur présence en faible nombre est témoin d'une désinfection et d'un bon état du système de distribution (6).

#### **IV.2.2 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale**

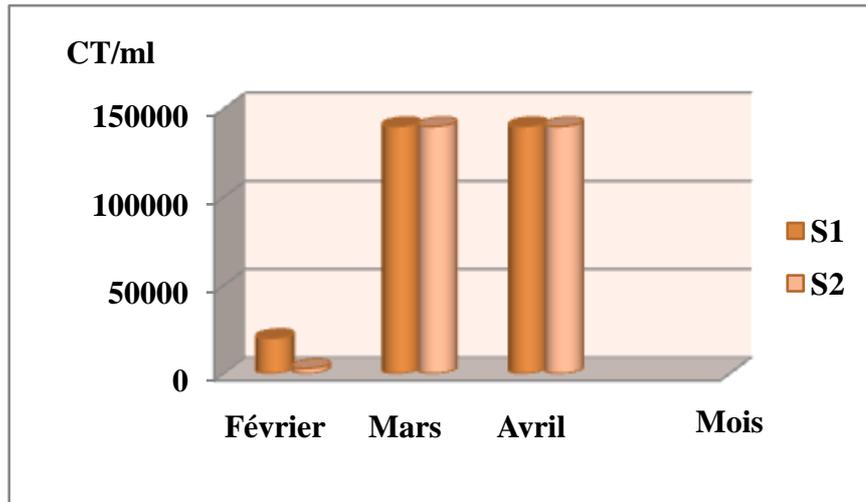
Flore indicatrice de contaminations bactériologiques de l'eau certaines familles de bactéries recherchées dans l'eau sont indicatrices d'une contamination ou d'une désinfection inefficace (6).

##### **IV.2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux**

- **Coliformes totaux :**



**Figure 27 :** Dénombrement des coliformes totaux dans la station 01 et 02 par la méthode de NPP (Mars 2015).



**Figure 28 :** Estimation des coliformes totaux/ml dans l'eau du marais Bousseadra (Février -Mars – Avril 2015).

D'après le graphique, on observe que la valeur maximale est de  $14 \times 10^5$  CT/ml dans la station 01 et 02 pendant le mois de Mars et Avril, tandis que la valeur minimale est enregistrée dans la station 02 pendant le mois de Février, elle est de  $3 \times 10^3$  CT/ml.

Le graphique des coliformes totaux montre la présence des germes durant les trois mois de notre étude, avec des taux plus élevés dans les deux stations durant les mois de Mars et Avril 2015.

Ceci est sans doute dû à sa présence près des agglomérations et des activités humaines et son voisinage avec l'égout de la commune, leur présence au niveau de ces stations indique une contamination d'origine organique.

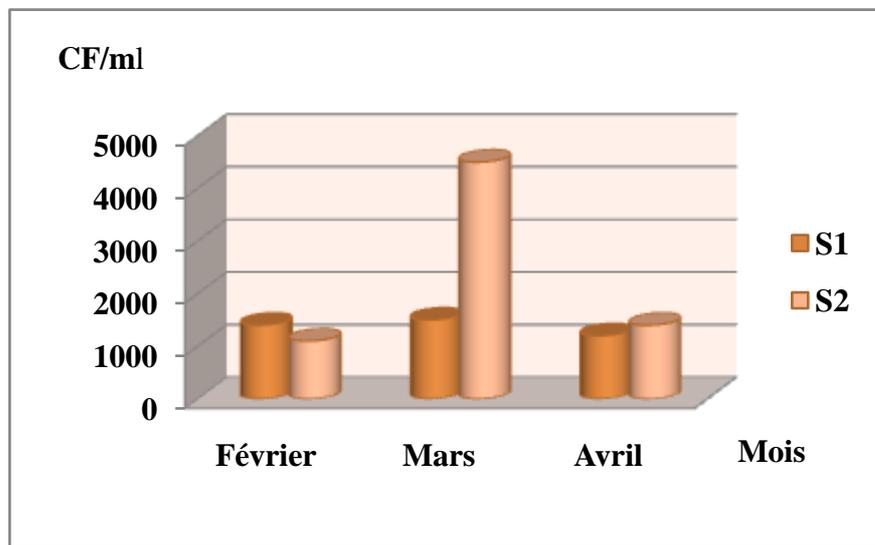
- **Coliformes fécaux**

La présence de bactéries coliformes dans un milieu signifie forcément une contamination fécale (Camille, 2003), elle reste la seule approche opérationnelle de contrôle de la qualité microbiologique des eaux.

Thermotolérants : l'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe est *Escherichia Coli*, qui représente 80 à 90% des coliformes thermotolérants détectés (6).



**Figure 29:** Test de Mac Kenzie positif



**Figure 30 :** Estimation des coliformes fécaux/ml dans l'eau de marais Boussedra (Février - Mars - Avril 2015).

D'après le graphique d'évaluation du nombre des coliformes fécaux, on observe que la valeur maximale est de  $4.5 \times 10^3$  CF/ml notée dans la station 02 pendant le mois de Mars, tandis que la valeur minimale est enregistrée dans la station 02 pendant le mois de Février, elle est de  $1.1 \times 10^3$  CF/ml.

Le graphique des coliformes fécaux montre clairement que seule la deuxième station est enregistrée des taux plus élevés par rapport aux autres stations.

Les eaux usées domestiques contiennent des concentrations très importantes en microorganismes d'origine fécale ce qui est le cas de nos stations.

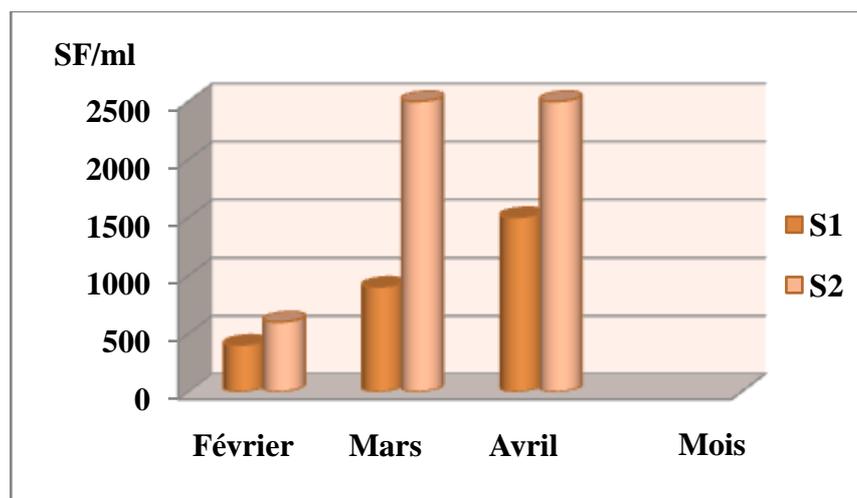
Globalement toutes les valeurs obtenues sont supérieures aux normes décrites par Brisou et Dennis 1980, d'après nos résultats on peut classer la qualité de l'eau de Bousedra comme mauvaise.

#### IV.2.2.2 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

D'après l'OMS, les streptocoques fécaux sont en grande partie d'origine humaine. Certaines bactéries de ce groupe proviennent également de fèces animales, ou se rencontrent même sur les végétaux. Ils sont néanmoins considérés comme indicateurs d'une pollution fécale, et leur principal intérêt réside dans le fait qu'ils soient résistants. Le nombre de streptocoques fécaux est directement lié à la quantité de matière fécale se trouvant dans l'eau.



**Figure 31** : Dénombrement des streptocoques fécaux dans la station 01 et 02 par la méthode de NPP (Avril 2015).



**Figure 32** : Estimations des streptocoques fécaux/ml (Février -Mars – Avril 2015).

Le graphique des streptocoques D nous montre que la station 02 est cependant le point qui renferme le nombre le plus élevé et cela depuis le début de l'étude avec une valeur maximale de  $2.5 \times 10^3$  SF/ml pendant le mois de Mars et Avril, tandis que la valeur minimale est enregistrée dans la station 01 pendant le mois de Février et elle est de  $0.4 \times 10^3$  SF/ml. (Figure 32), ce que signifie une contamination récente au niveau de ces stations. Selon Normes de salubrité pour les eaux de baignade, concernant les Streptocoques fécaux, donc les valeurs obtenues sont supérieures à 200 la qualité de l'eau est dangereuse.

**IV.2.3 Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)**

Les résultats de dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs sont résumés dans le tableau et les figures ci-dessous.

**Tableau 11** : Dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR/20 ml).

Station / Période	S1	S2
Février	Absence	Absence
Mars	05	Indénombrable
Avril	Indénombrable	Indénombrable



**Figure 33** : Absence des ASR dans le prélèvement 01

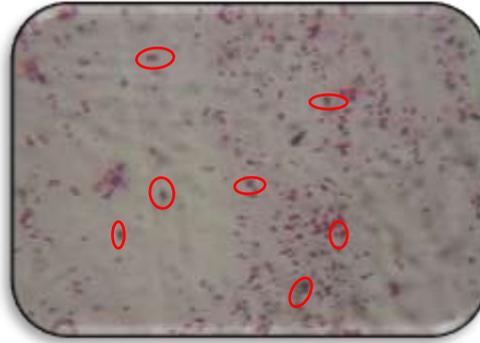


**Figure 34** : Dénombrement des ASR dans le prélèvement 02



**Figure 35** : Dénombrement des ASR dans le prélèvement 03

On a pris un tube positif (Le 3<sup>ème</sup> tube de la station 02) et on a réchauffé sa partie supérieure d'où l'apparition d'un liquide. On pratique par la suite une préparation d'un frottis suivie par une coloration de Gram. L'observation microscopique nous révèle des bacilles Gram positif sous deux formes : végétative et sporulante avec une coloration bipolaire (Figure 36).



**Figure 36** : Observation microscopique des formes sporulantes (entourées par un cercle rouge) et végétatives des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (Objectif  $\times 100$ ).

Une absence totale de ces bactéries a été marquée durant le 1<sup>er</sup> prélèvement (mois de Février). Les bactéries anaérobies sulfito-réducteurs sont d'origine fécale et indiquent une contamination ancienne, elles subsistent lors de la désinfection qui fait disparaître les autres bactéries non sporulées. La forme sporulante leur permet de résister longtemps dans le milieu aquatique.

#### IV.2.4 Identification des colonies bactériennes

Les résultats des indicateurs de contamination fécale sont confirmés par la présence d'une grande diversité microbienne. Ainsi, pendant notre étude, nous avons isolé et identifié de nombreuses bactéries pathogènes qui peuvent être à l'origine des maladies à transmission hydrique. Ces bactéries sont souvent isolées avec des colonies assez importantes.

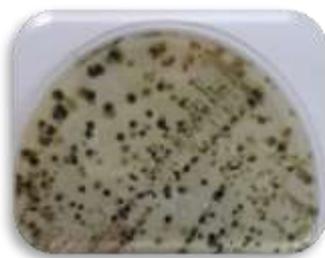
Deux étapes primordiales ont été suivies durant la recherche des germes pathogènes : l'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées et une identification biochimique par la galerie biochimique classique, les API systèmes et tests biochimiques confirmatives. Les résultats sont résumés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

IV.2.4.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram

Tableau 12 : Aspects macroscopiques et microscopiques des colonies et des bactéries isolées dans le Marais Bussedra.

Milieux de culture	Observation macroscopique	Observation microscopique
<b>Hektoen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites, vertes, circulaires, bombées, lisses, opaques.</li> <li>- Colonies petites, bleu vertes à centre noir, circulaires à bords régulier, bombées, lisses, opaques (A).</li> <li>- Colonies grandes, jaunes saumon, irrégulières, plates, lisses, opaques.</li> <li>- Colonies moyennes, jaunes saumon, circulaires, bombées, lisses, opaques.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Petits bacilles Gram négatif, isolés asporulés.</li> <li>- Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés, mobiles.</li> <li>- Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés.</li> </ul>
<b>SS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes.</li> <li>- Colonies moyennes, roses, circulaires, bombées, lisses, opaques (B).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés.</li> </ul>
<b>Mac Conkey</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites, incolores, légèrement blanchâtre, circulaires, bombées, lisses, transparentes.</li> <li>- Colonies grandes, roses, irrégulières, déchiquetées, bombées, lisses, opaques, muqueuses (C).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés.</li> </ul>
<b>Cétrimide</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes (D).</li> <li>- Colonies très petites, bleu – vertes, rondes, convexes, lisses et translucides.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles droits Gram négatif, isolés, mobiles, asporulés.</li> <li>- Bacilles Gram négatif, fins, droits, isolés ou groupés par diplobacilles ou en courtes chaînes, mobiles.</li> </ul>

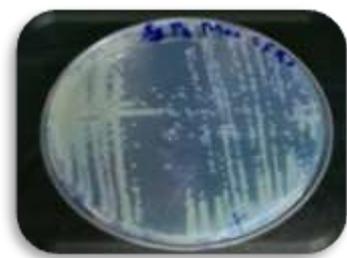
<p><b>GNAB</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes (E).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles droits Gram négatif, isolés, mobiles, asporulés.</li> </ul>
<p><b>Chapman</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites, jaunes dorée, circulaires, bombées, lisses, translucides (Fig39).</li> <li>- Colonies petites, jaunes, circulaires, bombées, lisses, translucides.</li> <li>- Colonies jaunes, lisses, rondes, bombées, très petites (moins de 1 mm de diamètre), translucides.</li> <li>- Colonies grandes de 3 mm de diamètre, jaunes, muqueuses, bords irréguliers, opaques.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cocci Gram positif groupés en amas sous forme de grappes de raisin, immobiles, asporulés.</li> <li>- Cocci Gram positif groupés en amas irrégulier, immobiles, asporulés.</li> <li>- Cocci Gram positif disposés en paires, en tétrades ou en amas irrégulier, asporulé.</li> <li>- Bacilles Gram positif, longs, à bouts arrondies, isolés ou groupés en chaîne présentant l'aspect en « canne de bambou », asporulés.</li> </ul>



(A)



(B)



(C)

Figure 37: Aspect des colonies sur (A) gélose Hectoèn (B) gélose SS et (C) Mac Conkey.



(D)



(E)

Figure 38: Aspect des colonies sur (D) gélose cétrimide et (E) gélose GNAB.

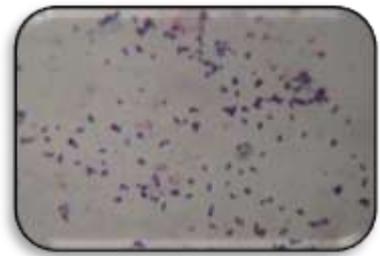
IV.2.4.2 Résultats d'identification biochimique

- Profil biochimique des *Staphylococcus*

L'aspect macroscopique des colonies isolées sur gélose Chapman ainsi que la coloration de Gram sont présentés dans les figures suivantes.



**Figure 39** : Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 01).



**Figure 40** : Cocci à Gram positif en amas (Objectif ×100).



**Figure 41** : Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 02).



**Figure 42** : Cocci à Gram positif en amas (Objectif ×100).

L'identification de ces bactéries repose sur la mise en évidence des caractères suivants : catalase, fermentation du mannitol et le staphylocoagulase.

**Tableau 13** : Résultats du profil biochimique des *Staphylococcus* isolés.

	Oxydase	Catalase	Mannitol	Staphylocoagulase	Espèces isolées
<b>Station 01</b>	-	+	+	+	<i>S. aureus</i>
<b>Station 02</b>	-	+	+	-	<i>S. saprophyticus</i>



Figure 43 : Test de staphylocoagulase.

- **Isolement de *Bacillus* :**

Les colonies de *Bacillus* obtenues sur milieu de Chapman apparaissent grandes et muqueuses. La démarche de l'identification est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 14 : Résultats du profil biochimique des *Bacillus* isolés.

Coloration de Gram	Oxydase	Catalase	Repiquage sur VF	Spores	Test d'hémolyse
Bacilles à Gram positif (Fig. 45)	+	+	Pousse	+	Non hémolytique



Figure 44 : Aspect des colonies sur gélose Chapman.



Figure 45: Bacilles à Gram positif (Objectif  $\times 100$ ).



Figure 46 : Aspect des colonies sur gélose VF.

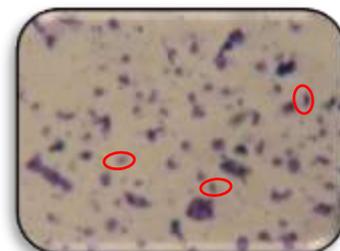


Figure 47 : Spores incolores (Objectif  $\times 100$ ).

La coloration de Gram montre des bacilles à Gram positif ; donc le germe isolé est *Bacillus* sp. Par manque de moyens, on n'a pas pu identifier l'espèce. Cette bactérie a été isolée pendant le 3<sup>ème</sup> prélèvement dans la station 02.

- **Isolement de *Micrococcus***

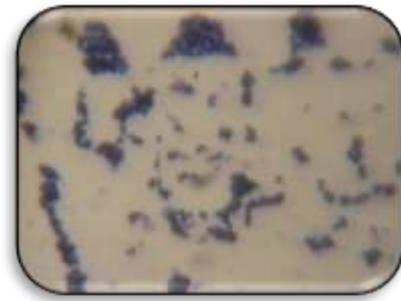
Les microcoques se différencient des staphylocoques par un résultat positif pour le test oxydase. La bactérie isolée est *Micrococcus* sp. Elle a été identifiée dans la station 01 pendant le 1<sup>er</sup> prélèvement.

**Tableau 15:** Résultats du profil biochimique des *Micrococcus* isolés.

Coloration de Gram	Oxydase	Catalase
Grands cocci Gram + à contour déformé disposés en diplocoque, tétrade et amas irrégulier. (Fig. 49)	+	+



**Figure 48 :** Aspect des colonies sur gélose Chapman.



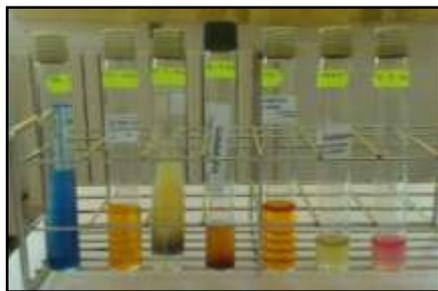
**Figure 49 :** Cocci à Gram positif en amas (Objectif  $\times 100$ ).

#### IV.2.4.3 Identification par la galerie biochimique classique

Les espèces bactériennes identifiées par la galerie biochimique classique sont résumées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 16:** Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.

Milieu de culture	Espèces bactériennes identifiés
<b>Hectoen</b>	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Citrobacter koseri</i> - <i>Providencia rettgeri</i>
<b>SS</b>	- <i>Vibrio fulvialis</i> - <i>Yersinia frederik senii</i> - <i>Escherichia vulneris</i> - <i>Vibrio alginolyticus</i>
<b>Mac conkey</b>	- <i>Proteus vulgaris</i> groupe 1 - <i>Proteus vulgaris</i> - <i>Edarsiella hoshinae</i>



**Figure 50 :** Résultat de galeries biochimique classique (*Vibrio alginolyticus*).



**Figure 51 :** Résultat de galerie biochimique classique (*Edarsiella hoshinae*).



**Figure 52 :** Résultat de galerie biochimique classique  
(*Proteus vulgaris* groupe 1)



**Figure 53 :** Résultat de galerie biochimique classique  
(*Citrobacter koseri*)

#### IV.2.4.4 Identification par les API systèmes

Les espèces bactériennes identifiées par les API système sont résumées dans le tableau et les figure ci-dessous.

**Tableau 17:** Les espèces identifiées par l'API20E et l'API20NE

Milieu de culture	API systèmes	Espèces bactériennes identifiées
Hectoen	-API20E	- <i>Aeromonas hydrophila</i> groupe 1 - <i>Citrobacter freundii</i>
Mac conkey	-API20E	- <i>Salmonella spp</i>
GNAB	-API20NE	- <i>Vibrio vulnificus</i> - <i>Aeromonas hydrophila</i> /caviae - <i>Pseudomonas luteola</i> - <i>Aeromonas salmonicida ssp</i> <i>salmonicida</i> - <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
SS	-API 20 E	- <i>Bukholderia cepacia</i> - <i>Serratia odorifera</i>



Figure 54 : Résultat de l'Api 20 E (*Salmonella sp*)



Figure 55 : Résultat de l'Api 20 E (*Serratia odorifera*)



Figure 56 : Résultat de l'Api NE (*Pseudomonas luteola*)



Figure 57 : Résultat de l'Api NE (*Aeromonas hydrophila /caviae*)

La pollution des eaux est une notion qui est en constante évolution. L'Algérie ; est l'un des pays qui souffre de cette pollution, et plus précisément les eaux de surface, ou les causes; sont généralement liée aux rejets industriels, l'emploi des pesticides et des engrais dans l'agriculture et surtout aux eaux usées d'origine urbaine. Ce qui présent un grand risque sur la santé publique ainsi que sur les différents écosystèmes aquatique en général et les zones humides en particularité

Dans ce contexte, notre étude a été basée sur l'analyse bactériologique et physico-chimique de l'eau du marais Boussedra site périurbain situé dans la commune d'El-Bouni, wilaya d'Annaba (Nord-est d'Algérie) d'une superficie de 55 hectares, avec une profondeur moyenne de 2 m. Cette étude est basée sur un suivi de trois mois (Février, Mars et Avril ; 2015).

En ce qui concerne les mesures physico-chimiques *in situ* on constate que la qualité de nos eaux est bonne à passable.

Les paramètres DCO, MES, dépassent les normes admissibles par le journal officiel de la république algérienne et de l'OMS ce qui prouve une pollution organique d'origine domestique et industrielle.

L'étude bactériologique réalisée a portée principalement sur le dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécal à savoir les coliformes totaux ,les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux , et les germes non spécifiques de contamination fécale qui sont les germes totaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs avec la recherche de bactéries pathogènes permet d'évaluer un degré de contamination sérieux surtout au niveau de la première station. Les résultats ont révélées la présence des germes de contamination fécale, (*E. coli*). Aussi nous avons dénombré un taux important de bactéries pathogènes, tel que (*Aeromonas*, *Serratia* et *Staphylococcus*), capable de causer des maladies graves.

Enfin, nous pouvons conclure que l'eau de ces zones humides est très polluée. Cette pollution va fragiliser cet écosystème qui s'y dégrade progressivement malgré son statut.

En perspective, il sera intéressant :

- ✓ D'élargir l'éventail de recherche des germes tests , des bactéries d'intérêt sanitaire des virus , des levures et des moisissures en instaurant un protocole de suivi continu de cet écosystème pour assurer la santé public .

- ✓ Compléter par une étude physico-chimique qui révélait la présence de métaux lourds et de substances toxiques.

- ✓ Réaliser des suivis réguliers de la qualité de l'eau, soit procéder aux contrôles des différents paramètres physicochimiques et microbiologiques pour intervenir en cas d'une anomalie

## Références Bibliographiques

### -A-

- **Abrekane M, (2013).** *Ecologie de la Sarcelle marbrée Marmaronetta angustirostris dans les zones humides de l'Est algérien.* Diplôme de doctorat troisième cycle. Biologie Animale Biodiversité, évolution et écologie de la sante. Université badji mokhtar – Annaba. pp 45-48-72-74.
- **Agrigon A ; (2000).** *Annuaire de la qualité des eaux et des sédiments.* DUNOD. p206.
- **Alain A. et Roger K ; (2004).** *Hydrologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses Quae,* 336p.
- **Allali A ; (2014).** *Contribution à la cartographie de la qualité physico-chimique et la biologique e l'eau des zones humides de la numidie .* Mémoire de Magister. Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie.21,23p
- **Amino A. et Chausspied M ; (1983).** *Manuel des analyses chimiques en milieu marin.* C.N.E.X.O.France. 395p.
- **Aouissi A, Fouzari A, et Meziane N ; (2007).** *Qualité bactériologique de l'eau de Oued Seybouse.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 57p.
- **Arrignon B; (1991) :** *Principes et applications de l'écologie.* Tome 2: Les milieux vivants. Vuibert, Paris: 42 43.
- **Ayada M ;(2003).** *Caractères physico-chimiques et impact des apports terrigènes et anthropiques sur la biomasse phytoplanctonique dans la baie d'Annaba.* Mémoire de Magister en science de la mer. Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie, 71p.

### -B-

- **Battisti C., Luiselli L., Pantano D. & Teofili C. (2008).** *On threats analysis approach applied to a Mediterranean remnant wetland: is the assessment of human-induced threats related to different level of expertise of respondents? Biodivers. Conserv.* 17: 1529–1542.
- **Boudraa W, Bengati S et Djamaa F ; (2011).** *Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau des plages de la ville d'Annaba.* Diplôme de Master. Spécialité de SEE. Université 08 Mais 1945 Guelma .96p.

- **Bonnet B , Aulong S,Goyet S, Lutz M, Mathevet R ;(2005)** . *Gestion intégrée des zones humides méditerranéennes. Tour du valat 12-141.*
- **Bouchaala L ; (2010).** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued Zenati (Guelma).* Mémoire de Magister. Université de 08 Mai 1945 de Guelma. Algérie. 135 p.
- **Boucherit K, Kadi K, et Dafri F ;(2009).** *Caractérisation microbiologique et physico-chimique de l'eau durant un traitement au niveau de la STEP de la ville de Guelma.* Mémoire de l'Ingénieur d'état. Université 08 Mai 1945, Guelma. p89.
- **Boukrouma N ; (2008).** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel: cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (W. d'Oum El-Bouaghi).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p.
- **Boulakoud Z, (2009).** *Variations quantitatives et qualitatives des ressources en eau des nappes superficielles de la région de Annaba.* Mémoire magister. Hydrogéologie. Université badji mokhtar – Annaba. p 5-7.

- C -

- **Camille D., (2003).** *Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses. Lavoisier : Tec et Doc. France. 156 p.*
- **Carbonnelle D. et Kouyoumdjian S ; (1989).** *Bactériologie médicale techniques usuelles.* Méd. Mal. Inf. 251 p.
- **Chabasse D ; Bouchara J. P ; De Gentile L ; Cimon B ; Brun S ; Penn P ; (2002).** *Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de Formation en Biologie Médicale. N° 25, Egoprim. Paris. France. 189 p.*
- **Chaffai H et Mourdi W ; (2011).** *État de la pollution atmosphérique dans la région d'Annaba et son impact sur l'eau et l'environnement. Science Lib Editions Mersenne : Volume 3, N ° 110803 ISSN 2111-4706 .p 3.*
- **Chaouch R ; (2007).** *Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba: aspect physico-chimique et bactériologique des eaux.* Mémoire de Magister. Université Badji-Mokhtar Annaba. 105p.
- **Chettibi F; (2014).** *Ecologie de l'Érismature à tête blanche Oxyura leucocephala dans les zones humides de la Numidie algérienne (du Littoral Est de l'Algérie).* Diplôme de doctorat troisième cycle. Biologie animale Biodiversité, évolution et écologie de la sante Université badji mokhtar – Annaba. pp 20-31-34.

- **Cohen N., Karib H., (2007).** *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche : Risques et prévention. Les technologies de laboratoire. N° 3. 7 p.

-D-

- **Dajoz ; (1996):** *Précis d'écologie* ,6<sup>ème</sup> édition. DUNOD.
- **Deceuninck B, Jiguet F, Cadiou B, Yesou P; (2006):** *Le statut des oiseaux en France*. Ed : LOP. France.
- **Dellarras C ; (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier: Tec et Doc. Paris. p 463.
- **Dellarras C ; Trébaol B ; (2003).** *Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation, prélèvements, Analyses*. Lavoisier: Tec et Doc. Paris. 249 p.
- **Denis F; (2007).** *Bactériologie médicale techniques usuelles*. Masson. 384p.

-E-

- **Engelkirk P.G; (2008).** *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology*. 1<sup>st</sup> edition. Lippincott Williams & Wilkins. p754.

-F-

- **Federighi M ; (2005).** *Bactériologie alimentaire- Compendium d'hygiène des aliments*. 2<sup>ème</sup> édition: Economica. Paris. p292.
- **François R ; (1993).***Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et sciences de l'environnement*. 4<sup>ème</sup> édition Ediscience international, Paris.67p

-G-

- **Ghanem R ; (2009).** *Préservation du patrimoine forestier contre le dépérissement: cas des subéraies de l'Edough Annaba*, Mémoire de Master, Université Badji Moukhtar Annaba p68.

-H-

- **Haddou M ; (2010).** *Dégradation de dérivés de l'acide benzoïque par les procédés d'oxydation avancée en phase homogène et hétérogène : procédés Fenton, photo-Fenton et photocatalyse*. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, Paul Sabatier. p189.
- **Hammes F et al; (2006).** *Mechanistic and kinetic evaluation of organic disinfection by-product and assimilable organic carbon (AOC) formation during the ozonation of drinking water*. Water Research 40(12): p. 2275–2286.
- **Harvey R.A, Champe P.C, Fisher B.D; (2007).** *Microbiology*. 2<sup>ème</sup> édition. Lippincott Williams et Wilkins. p432.

-I-

- **Idaoui A et Harkett S ; (2013).** *Évaluation de la qualité microbiologique de l'eau du lac souterrain: Bir Osman Hamam Debeigh-Guelma* .Mémoire de Master. Spécialité de SEE. Université 08 Mais 1945 Guelma .50p

-J-

- **J.O.R.A, (2006).** *Valeurs limites des paramètres de rejets effluents liquides industriels.* *Journal Officiel de la République Algérienne*, 23 Avril 2006, p27.

-K-

- **Kabala Dm ; (1994).** Protection des écosystèmes et développement des sociétés ; Etat d'urgence en Afrique. HARMATTAN.

-L-

- **Lahlah N ; (2011).** *Trait d'histoire de vie et régime alimentaire chez les Hirondelles de fenêtre (Delichonurbicameridionalis) dans le Nord-Est algérien.* Mémoire de Doctorat en écologie des systèmes terrestres et aquatiques. Université Badji-Mokhtar, Annaba. p212.
- **Lebres E ; (2002).** *Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments « Microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer ».* Institut Pasteur d'Algérie. p34.
- **Leclerc M ; 1996.** Microbiologie générale. Doin. France. p368.
- **Lehmann Ch ; (1997)** .Les Problèmes environnementaux à Madagascar.
- **Lightfoot N.F ; (2002).** Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directive pour l'assurance qualité. France. p387.
- **Loup J. P ; (1974).** Les eaux terrestres. Collection dirigée par Jean Pelletier. *Masson et Cie*. Paris Ive 1974. p14.

-M-

- **Margat J., (2004).** *Plan Blue, L'Eau des Méditerranéens: Situation et Perspectives*, Athènes, PAM (MAP Technical Report Series, p 158).
- **Mayat S; (1994).** Techniques de traitement: aliments et eaux, 1ère édition, *Edisem*, 195p.
- **Mebarki A., (1982).** *Le bassin du Kébir- Rhumel (Algérie). Hydrologie de surface et aménagement des ressources en eau.* Thèse de Doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle. Nancy II. 304p.

- **Mehennaoui F. Z., (1998).** *Contribution à l'étude physico-chimique et biologique de l'Oued Kébir-Rhumel et ces principaux affluents.* Mémoire de magister en écologie. Université de Constantine. 238p.
- **Merzoug S.E ; (2009).** *Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, wilaya de Skikda).* Mémoire de Magister. Université 08Mai 1945 Guelma, p119.
- **Metallaoui S. & Houhamdi M. (2008).** Données préliminaires sur l'avifaune aquatique de la Garaet Hadj-Tahar (Skikda, Nord-Est algérien). *ABC Bull* 15(1) : 71-76.
- **Metallaoui S. & Houhamdi M. (2010).** Biodiversité et écologie de l'avifaune aquatique hivernante dans Garaet Hadj-Tahar (Skikda, Nord-Est de l'Algérie). *Hydroécol. Appl* 17, 1-16, DOI: 10.1051/hydro/2010002.
- **Monod T., (1989).** Méharées géographie. *France loisire.* 233p.
- **Murray P.R, Rosenthal K.S, Pfaller M.A; (2009).** *Medical Microbiology.* 6<sup>th</sup> edition. Elsevier: Mosby. Philadelphia. Etat Unis. 960 p.

-N-

- **Nauciel C, Vildé J. L ; (2005).** *Bactériologie médicale.* Masson. 2<sup>ème</sup> édition. 257 p.

-P-

- **Paracuellos M. (2008).** Effects of long-term habitat fragmentation on a wetland bird community. *Rev. Ecol. (Terre Vie)* 63: 1–12.
- **Prescott L.M, Harley J.P, Klein D.A; (2003).** *Microbiologie.* 2<sup>ème</sup> édition. De Boeck. Paris. p1163.

-R-

- **Rejsek F ; (2002).** *Analyse des eaux- Aspects réglementaires et techniques, Biologie technique CRDP d'aquitaine.* 358p.
- **Rodier et al, (2005).** *L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Résiduaires. Eau de mer.* 8<sup>ème</sup> édition. DUNOD. Paris, 1383p.
- **Rodier J ; (2009).** *L'analyse de l'eau.* 9<sup>ème</sup> édition, DUNOD. Paris.1579p.
- **Roux ; (2003).** *TP de microbiologie : Analyses de l'eau.* NOVELLO Célia. IUP SIAL, Université Paris p12.

-S-

- **Samraoui B et Samraoui F ; (2008).** *An ornithological survey of Algerian wetlands: Important Bird Areas, Ramsar sites and threatened species.* *Wildfowl* 58: 71–96.

- **Samraoui F, Nedjah R, Boucheker A, Alfarhan A. H. et Samraoui B; (2012).** *Breeding ecology of the Little Bittern *Ixobrychus minutus* in northeast Algeria. Bird Study I First*, 1–8.
  - **Slatni I ;(2013) .***Etude de la destruction ou la perturbation des espèces végétales par la pollution. Mémoire de Magister. Faculté des sciences et technologies. Université De Med Cherif Messaadia , Souk-Ahras, Algérie. 21,23p*
- T-
- **Tamisier A et Dehorter O ; (1999).** *Camargue, Canards et Foulques. Fonctionnement d'un prestigieux quartier d'hiver. Centre Ornithologique du Gard. Nîmes. 369p.*

**Site Web :**

[1] <http://www.eau-loire-bretagne.fr>.

Consultée 22/05/2015 h : 18.00

[2] [www.wilaya-annaba.org](http://www.wilaya-annaba.org) .

Consultée 20/05/2015 h : 15.00.

[3] DHWA, 2015. Direction d'hydraulique wilaya d'Annaba.

Consultée 20/05/2015 h: 15.00.

[4] Google Earth. [www.googleearth.com](http://www.googleearth.com).

Consultée 20/05/2015 h : 15.00.

[5] <http://www.actuenvironnement.com/ae/dictionnaire...>

Consulté 26/05/2015.

[6] <http://www.cidef.net/pdf/Rapport.....>

Consulté 26/04/2015.

**Tableau 01** : Nombre le plus probable et l'intervalle de confiance (Rodier, 2009).

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
5 tubes de 10 mL	5 tubes de 1 mL	5 tubes de 0,1 mL		Limite Inférieure	Limite supérieure
4	4	0	34	12	96
5	0	0	23	7	70
5	0	1	31	11	89
5	0	2	43	15	114
5	1	0	33	11	93
5	1	1	46	16	120
5	1	2	63	21	154
5	2	0	49	17	126
5	2	1	70	23	168
5	2	2	94	28	219
5	3	0	79	25	187
5	3	1	109	31	253
5	3	2	141	37	343
5	3	3	175	44	503
5	4	0	130	35	302
5	4	1	172	43	486
5	4	2	221	57	698
5	4	3	278	90	849
5	4	4	345	117	999
5	5	0	240	66	754
5	5	1	348	118	1 005
5	5	2	542	180	1 405
5	5	3	918	303	3 222
5	5	4	1 609	635	5 805

Tableau 02 : Lecture de l'API 20 E

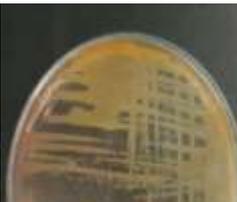
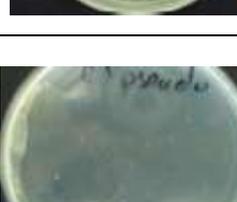
Tests	Composants	QTE (mg/cup )	Réactifs / Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	2-nitrophényl- $\beta$ Dgalactopyranoside	0,223	$\beta$ -galactosidase (Ortho NitroPhényl- $\beta$ DGalactopyranosidase)	incolore	jaune
<b>ADH</b>	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé
<b>LDC</b>	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<b>ODC</b>	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<b>CIT</b>	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu
<b>H<sub>2</sub>S</b>	sodium thiosulfate	0,075	production d'H <sub>2</sub> S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
<b>URE</b>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
<b>TDA</b>	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	TDA / immédiat	
				jaune	marron- rougeâtre
<b>IND</b>	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	JAMES / immédiat	
				incolore vert pâle / jaune	rose
<b>VP</b>	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incolore / rose pâle	rose / rouge
<b>GEL</b>	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	1,9	Fermentation oxydation(GLUcose)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
<b>MAN</b>	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>INO</b>	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>SOR</b>	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>RHA</b>	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmnose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>MEL</b>	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>AMY</b>	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>OX</b>	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	

Tableau 03: Lecture de l'API 20 NE

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
NO <sub>3</sub>	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 mn	
			Incolore	Rose-rouge
		Réduction des nitrates en azote	ZN / 5 mn	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	TRP / 3-5 mn	
			Incolore	Goutte rouge
GLU	Glucose Fermentation	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitro-phényl-βDgalactopyranoside	β-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétylglucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			
MLT	Malate			
CIT	Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	Tetraméthyl-pphenylène diamine			



Résultats de la recherche des germes pathogènes (Photos prise par OUGHIDNI et SEBTI).

Milieu	Stations			
	Station 01		Station 02	
Mac Conky				
Hektoen				
SS				
Chapman				
GNAB				
Cétrimide				



Mode de prélèvement de l'analyse bactériologique  
(Photos prise par SEBTI Bouchra).



Mode de prélèvement de l'analyse physico-chimique  
(Photos prise par OUGHIDNI Selma).



Mesure *in situ* de quelques paramètres physico-chimique  
(Photos prise par OUGHIDNI et SEBTI).



La pollution au niveau de marais de Bussedra (W.A)

(Photos prise par OUGHIDNI et SEBTI).



Photos présente les façades urbaines du marais de Boussedra

(Photos prise par SEBTI Bouchra).

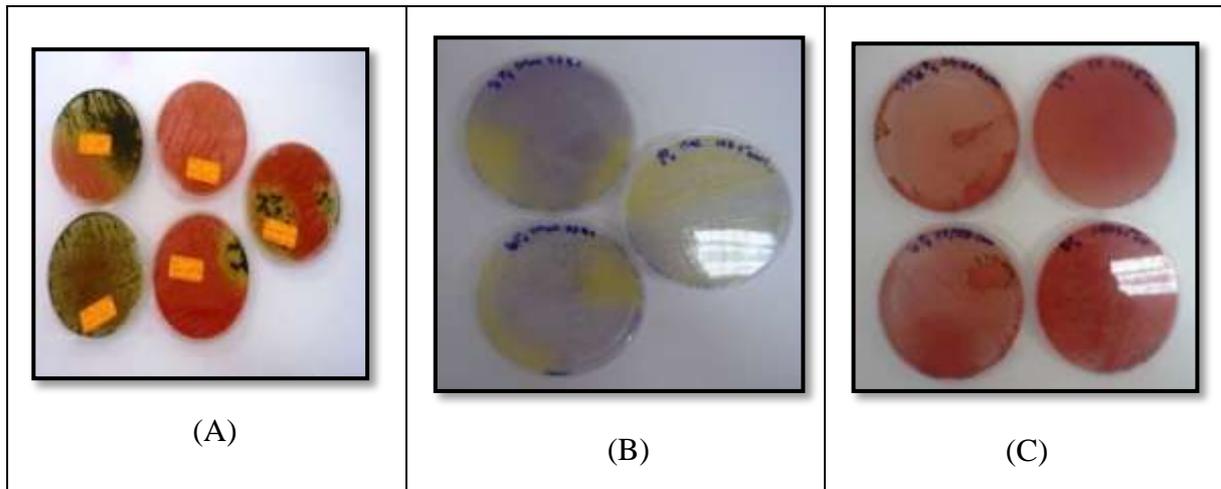


Photos présente les façades industrielles du marais de Boussedra

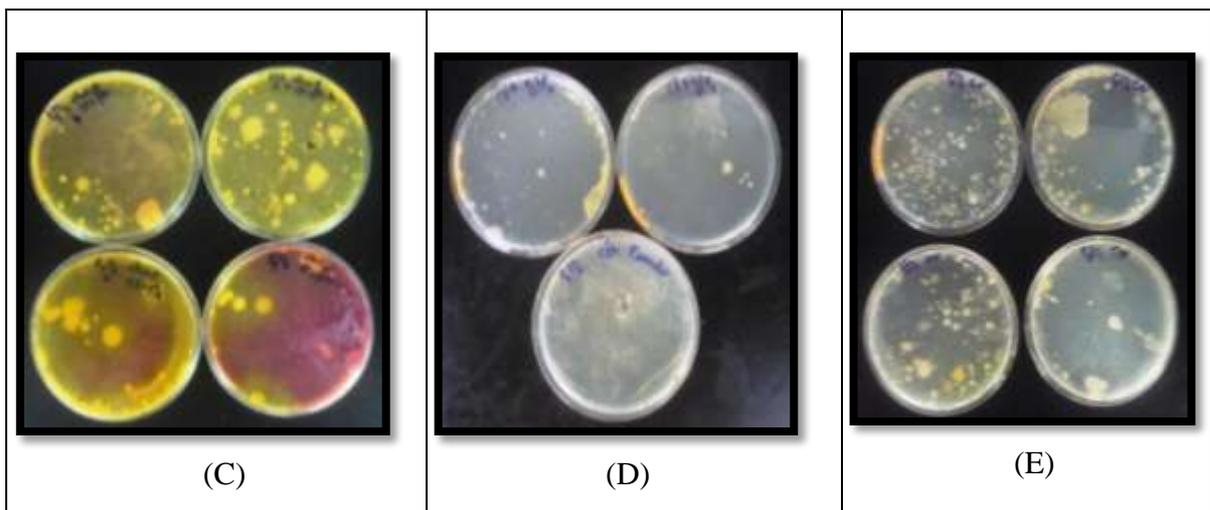
(Photos prise par OUGHIDNI Selma).

Résultats de la recherche des germes pathogènes

(Photos prise par OUGHIDNI et SEBTI).



Aspect des colonies sur gélose Hektoen (A)  
Mac conky (B) et SS (C).



Aspect des colonies sur gélose Chapman (C)  
Cétrimide (D) et GN (E).



Résultat négatif sur King A et King B.

Tab 05. Evolution du nombre des germes totaux à 22°C et à 37°C.

	Février		Mars		Avril	
	22°C	37°C	22°C	37°C	22°C	37°C
<b>Station1</b>	300 GT/ml	240 GT/ml	240 GT/ml	200 GT/ml	210 GT/ml	240 GT/ml
<b>Station2</b>	230GT/ml	270 GT/ml	270 GT/ml	310 GT/ml	200 GT/ml	90GT/ml

Tab 06. Evolution du nombre des coliformes totaux.

	Février		Mars		Avril	
<b>Station1</b>	20x10 <sup>3</sup> CT/ml		140x10 <sup>3</sup> CT/ml		140x10 <sup>3</sup> CT/ml	
<b>Station2</b>	3x10 <sup>3</sup> CT/ml		140x10 <sup>3</sup> CT/ml		140x10 <sup>3</sup> CT/ml	

Tab 07. Evolution du nombre des coliformes fécaux.

	Février		Mars		Avril	
<b>Station1</b>	1.4x10 <sup>3</sup> CF/ml		1.5x10 <sup>3</sup> CF/ml		1.2x10 <sup>3</sup> CF/ml	
<b>Station2</b>	1.1x10 <sup>3</sup> CF/ml		4.5x10 <sup>3</sup> CF/ml		1.4x10 <sup>3</sup> CF/ml	

Tab 08. Evolution du nombre des Streptocoques fécaux.

	Février		Mars		Avril	
<b>Station1</b>	4x10 <sup>2</sup> SF/ml		0.9 x10 <sup>2</sup> SF/ml		1.5x10 <sup>3</sup> SF/ml	
<b>Station2</b>	6x10 <sup>2</sup> SF/ml		2.5x10 <sup>3</sup> SF/ml		2.5x10 <sup>3</sup> SF/ml	

Tab 09. Evolution du nombre de l'oxygène dissous.

	Février		Mars		Avril	
<b>Station1</b>	-		-		5.12 mg/l	
<b>Station2</b>	-		-		7.25m/l	

Tab10. Evolution du nombre de Rh.

	Février		Mars		Avril	
<b>Station1</b>	-		182 mV		343 mV	
<b>Station2</b>	-		182 mV		340 mV	

## Abstract

Our study to order of evaluation the physico-chemical and bacteriological water quality of urban wetland is Bousseadra marshes located in the region of El-Bouni in the wilaya of Annaba.

The physicochemical characterization of the water showed that it is very complex mixtures with organic matter with values of COD (71.64 mg / l) and MES (177.16 mg / l), the character biodegradable this water.

The bacteriological analyzes have revealed a wealth of this water indicator organisms of fecal contamination with average of 204 FMAT / ml, CT 97167 / ml, 1850 CF / ml and 1400 SF / 100 ml and with undetermined number of spores of sulphite-reducing Clostridium.

As is shown in the presence of pathogens that can cause serious illnesses including species identified are: (*V. vulnificus*, *S. aureus*, *Serratia odorifera*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella sp*).

The pollution of this water presents a risk to public health as well as on the different aquatic ecosystems in general and wetlands in particularity.

**Keywords:** Water, wetland, marsh Bousseadra, pollution, physico-chemical and bacteriological analysis.

## ملخص

تهدف دراستنا إلى تقييم الخصائص الفيزيوكيميائية و البكتيريولوجية لنوعية المياه في منطقة رطبة حضرية : مستنقع بوسدرة الذي يقع في البوني في ولاية عنابة.

أثبتت الدراسات الفيزيوكيميائية لهذا الماء انه يتكون من خليط معقد جد غني بالمواد العضوية بقيم متوسطة لكل من: (الحاجة الكيميائية للأكسجين=71.64مغ/ل ) و (المواد العالقة =177.16مغ/ل) الخاصية البيوتحليلية لهذا الماء .

كما أثبتت التحاليل البكتيريولوجية غنى هذه المياه بمؤشرات التلوث البرازي بمعدل 204 بكتيريا / مل ,مجموع القولونيات 97167/مل , القولونيات البرازية 1850/مل , والعقديات البرازية 1400/مل , و عدد غير محدود من الجراثيم اللاهوائية المطثية كما أثبتنا تواجد تنوع بكتيريولوجي لهذه المياه المسببة لأمراض خطيرة حيث تم التعرف على الأنواع التالية: ( فيبريو , ستافيلوكوكيس , سيراتيا , سالمونيلا , سيتروباكتار .... )

تلوث هذه المياه يشكل خطرا على الصحة العامة، وكذلك على النظم الإيكولوجية المائية المختلفة بشكل عام والأراضي الرطبة في خصوصية.

## الكلمات المفتاحية :

ماء , منطقة رطبة , مستنقع بوسدرة , تلوث , تحاليل فيزيو كيميائية , بكتيريولوجية .



**Nom et Prénom : OUGHIDNI Selma  
SEBTI Bouchra**

**Mémoire Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie**

**Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement : Microbiologie de l'environnement**

**Contribution à l'étude physico-chimique et bactériologique de l'eau des zones humides urbaines de la wilaya d'Annaba : Cas du marais de Bousedra**

# RESUME

## Résumé

Notre étude a pour but d'évaluer la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau d'une zone humide urbaine est le marais de Bousedra situé dans la région d'El-Bouni dans la wilaya d'Annaba.

La caractérisation physico-chimique de cet eau a montré qu'elle constitue des mélanges complexes très chargés en matières organiques avec des valeurs moyennes de DCO (71.64 mg/l), en MES (177,16 mg/l), articule bien le caractère biodégradable de cette eau.

Les analyses bactériologiques ont révélé une richesse de cette eau en germes indicatrices de contamination fécale avec moyenne de 204 FMAT/ml, 97167 CT/ml, 1850 CF/ml, 1400 SF/100 ml et nombre indéterminé des spores de *Clostridium* sulfite-réducteurs. Ainsi qu'on a montré la présence de germes pathogènes susceptibles de causer des maladies graves dont les espèces identifiées sont : (*V. vulnificus*, *S. aureus*, *Serratia odorifera*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella* sp).

La pollution de ces eaux présente un grand risque sur la santé publique ainsi que sur les différents écosystèmes aquatiques en général et les zones humides en particulier.

**Mots clés :** Eau, Zone humide, Pollution, Analyse physico-chimique et bactériologique, Marais de Bousedra

### Devant le jury composé de :

<b>Président</b>	<b>: M<sup>me</sup> TORCHE Asma</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>Examineur</b>	<b>: Mr ATOUSSI Sadek</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>Encadreur</b>	<b>: Mr HOUHAMDI Moussa</b>	<b>Pr.</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>Co-encadreur</b>	<b>: M<sup>me</sup> BOUDRAA Wahiba</b>	<b>Doctorante</b>	<b>Université de Guelma</b>