

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème

Etude de la qualité bactériologique et génotoxique des eaux de source (Sellaoua Anouna et Ain Ben Amman).

Présenté par :

- Bey Aya
- Cheghib Norhane

Devant le jury composé de :

Président :	BRAIK. A	M.C.B	Université de Guelma
Examineur :	AIMENE.W	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur :	ABDA. A.	M.C.B	Université de Guelma

Juin 2025

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude, avant tout à Dieu le tout puissant qui nous a donné la patience, le courage et la force pour mener à bien ce modeste travail.

Louanges à ALLAH

*Nous voudrions remercier vivement **Mme BRAIK Asma** de nous avoir honorés de sa présence et d'avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire. Nous sommes sûrs que ses critiques et orientations nous seront très utiles.*

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à **Mme AIMEME Wissem**, pour avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail. Votre présence va valoriser, de manière certaine, la présente étude.*

*Nous tenons particulièrement et chaleureusement à remercier notre encadrant **Mme ABDA Ahlame**, Pour sa confiance, ses encouragements et ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail. Pour son soutien, patience, gentillesse et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de notre profonde gratitude. Ce travail n'aurait pas été le même sans votre encadrement.*

Nos remerciements vont aussi à toutes les techniciennes de laboratoires pour leur gentillesse et leur disponibilité tout au long de la période du travail. Nous n'oublions pas de remercier profondément toute l'équipe de la station de traitement de Hammam Dbaghe wilaya de Guelma pour son aide. Nos remerciements vont enfin à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Dédicace

Je dédie ce travail :

A moi-même, qui m'a toujours soutenue, encouragée et donné de la force.

À mon cher père Amar

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu Pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce Travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

À ma chère mère Souad

La mère la plus adorable du monde et je ne pourrais jamais te remercier assez d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma sœur, Ines la lumière de ma vie, qui m'a aidé à avancer et m'a donné force et courage. A mon frère Islam Merci pour votre amour.

Et ma petite sœur Alaa, Tu es pour moi une belle sœur.

A ma partenaire et amie Nourhane, qui a accepté de travailler avec moi merci votre efforts et encouragement ma belle.

À tous mes oncles et tantes Sans oublier mes grands-parents.

À tous les membres de ma famille, petite et grande

A tous mes Amies de proche et de loin : Nada, Oulfa, Doha, Amina, Nada, Amira

À tout le personnel du département de SNV et de la biologie et à toute la promotion de 2 ème année master BMC.

AYA

Dédicace

Je remercie tout d'abord le bon dieu tout puissant qui m'a donnée la force et le courage pour terminer ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

A moi-même, qui m'a toujours soutenue, encouragée et donné de la force.

A mon très cher père nour adine cheghib

Je te remercie pour tout le soutien que tu m'as porté depuis mon enfance. Que ce modeste travail soit l'exaucement de tes vœux tant formulés, le fruit De tes innombrables sacrifices, bien que je ne te en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, t'accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que Jamais je ne te déçoive

A ma très chère mère wassila

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des Sentiments que j'éprouve pour toi, tes sacrifices innombrables et ton dévouement firent pour moi un encouragement. Tu as guetté mes pas, et m'as couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu, tout puissant te combler de santé, de bonheur et te procurer une longue vie

À mes frères, dr cheghib ghozlane et ma soeur narimane qui m'ont soutenu, aidé à avancer et donné force et courage . Merci pour votre amour, votre patience .

À mon frère, iyed, qui a tout fait pour que je ne manque de rien et pour être la meilleure dans mes études.

Je remercie mon ami le dr djetten amine pour tous ses efforts considérables et son soutien continu.

À ma partenaire et chère Amie, Aya bey qui partage tous nos moments de bonheur et de fatigue, merci beaucoup et que notre amitié dure toujours tu es ma troisième sœur.

À MES AMIS: AYA, safana, douha, oulfa, selma.

À mes professeurs de l'Université de Guelma

A toute la promotion de Master BMC (2024-2025)

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les eaux de source

1. Généralités sur les eaux de source	4
1.1. Définition de l'eau source	4
1.2. Caractéristiques des eaux de source de Guelma	4
1.3. Traitement des eaux de source par le chlore a Guelma.....	5
1.3.1. La formation des sous –produits de chloration	5
A. Mécanisme de formation	5
B. Les sous-produits de chloration	5
2. Présentation de wilaya de prélèvement	6
3. Les maladies a transmission hydrique	6
3.1. Les maladies en rapport avec une carence aigue ou chronique en eau propre.....	6
3.2. Les maladies liées à la contamination de l'eau par un agent infectieux	7
3.3. Les maladies liées à contamination de l'eau par des toxiques	7
3.4. Les maladies à transmission dite vectorielle	7
3.4.1. Le choléra, aussi appelé maladie des mains sales	8
3.4.2. La diarrhée	8
3.4.3. L'hépatite	9
3.4.4. Le paludisme, ou malaria.....	9
3.4.5 Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes	9
4. Leurs effets a la santé de population.....	10

Chapitre II : Tests de Génotoxicité

I. Test d'allium.....	12
1. Définition de génotoxicité.....	12
2. Utilisation de plantes supérieures en génotoxicité.....	12
3. Différents tests de génotoxicité associés aux plantes supérieures	12
3.1. Test des aberrations chromosomiques.....	12
3.1.1. Test des aberrations chromosomiques dans les racines d'allium cepa	13
3.1.1.1. Présentation générale d'allium.....	13
3.1.1.2. Critères de génotoxicité déterminés sur allium cepa	13
II. Test de comète	13
III. Test du micronoyau.....	15

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Site de prélèvement	18
2. Etude bactériologique	19
2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux (GT)	19
2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux	19
2.2.1. Par gélose CCA	19
2.2.2. Par gélose tergitol TTC	20
2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	20
2.4. Recherche et isolement de staphylocoques	21
2.5. L'étape de l'identification	21
2.5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux	21
2.5.2. Examen microscopique	22

2.5.3. L'examen direct (Etat frais)	22
2.5.4. Les étapes de coloration de Gram	22
2.6. Test de catalase	23
2.7. Test d'oxydase	23
2.8. Identification par GALERIE API Strep 20	24
3. Etude génotoxiques (Test d'allium cepa)	25
3.1. Le principe	25
3.2. Matériel biologique.....	25
3.3. La procédure	25
3.3.1. Préparation des organismes végétaux	25
3.3.2. Elongation racinaire.....	26
3.3.3. Fixation et coloration des extrémités racinaires	26
3.4. Examen microscopique	27

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Résultats d'analyse bactériologique	29
1.1. Aspect macroscopique après l'isolement.....	29
1.2. Résultat d'examen microscopique	31
1.3. Identification biochimique	31
1.3.1. Test catalase-oxydase	31
1.4. Galerie biochimique	32
2. Résultats du test de génotoxicité (Test d'Allium)	34
2.1. La longueur des racines.....	34
2.2. Indice mitotique	35
2.3. Aberrations chromosomiques	37
Conclusion	41

Références bibliographiques

Résumés

Annexe

Liste des abréviations :

A. Cepa : allium cepa.

AC : Aberrations chromosomiques.

ADN : l'acide désoxyribonucléique.

A.O.X : composés organohalogénés.

AT : Anomalies Totales.

BEA : Bile Esculine Azide agar (identification des entérocoques).

C : Condensation des chromosomes.

CCA : chromogène pour bactéries coliformes (dénombrement CT et E. coli).

CF : les coliformes fécaux.

CT : les coliformes totaux.

GT : les germes totaux.

HAA : Les acides haloacétiques.

IM : Indice mitotique.

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne.

L'HCL : Acide chlorhydrique.

MMS : contrôle positif.

MON : la matière organique naturelle.

MTH : Les maladies à transmission hydrique.

MTV : Les maladies à transmission dite vectorielle.

Nacl : le chlorure de sodium.

NCC : nombre de cellules comptées.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P : prélèvement.

PAT : Perturbation Anaphase-Télophase.

PC : Pont chromosomique.

PH : Potentiel d'hydrogéné.

SF : Streptocoques fécaux.

Staph : Staphylocoques.

SPC : les sous-produits chlorés.

SPD : les sous-produits de désinfection.

SCGE: single cell gel electrophoresis (Test de Comète).

S1 : Site Sellaoua Anouna.

S2: Ain Ben Amman.

SD: écart type.

TGEA : Tryptone Glucose Extract Agar (dénombrement des bactéries aérobies mésophiles).

THM : Trihalométhanes.

V : Vagabond.

Liste des figures

Figure 1 : Le plan de wilaya Guelma.....	6
Figure 2 : La bactérie responsable de maladie choléra.....	8
Figure 3 : Les bactéries responsables de maladie de diarrhée	8
Figure 4 : Le virus de l'hépatite A	9
Figure 5 : Le virus de l'hépatite E	9
Figure 6 : Une boule de sang infectée par le paludisme	9
Figure 7 : Le moustique rouge	9
Figure 8 : Salmonelle typhique bactérie responsable de maladie Les fièvres typhoïdes	10
Figure 9 : Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de L'ADN14	
Figure 10 : Schématisation de la formation des micronoyaux	15
Figure 11 : Situation de la source 'Ain-El-Bei (Sellaoua-Anouna)	18
Figure 12 : Les deux sites de prélèvements de l'eau tester	19
Figure 13 : Confirmation par milieu Schubert.....	20
Figure 14 : Procédure de la coloration de Gram.....	23
Figure 15 : Exemple du test catalase	24
Figure 16 : Exemple d'un test oxydase	24
Figure 17 : Galerie API 20 STREP	25
Figure 18 : Culture des bulbes dans l'eau distillée	26
Figure 19 : Hydrolyse des racines dans l'HCL.....	27
Figure 20 : Culture sur Terjitol 7 au TTC	30

Figure 21 : Culture sur TGEA	30
Figure 22 : Culture sur Chapman	30
Figure 23 : Culture sur Slanetz et bartely.....	30
Figure 24 : Des cocci Gram (+).....	31
Figure 25 : Catalase négative	32
Figure 26 : Oxydase négative	32
Figure 27 : Galerie API 20 Strep avant l'incubation	32
Figure 28 : Galerie API 20 Strep de (S1G) après l'incubation.....	32
Figure 29 : Galerie API 20 Strep de (S2G) après l'incubation.....	33
Figure 30 : Racines d'oignons du contrôle négatif (C) et des échantillons testés (A) et (B) .	35
Figure 31 : Les phases mitotiques des racines d'oignons	37
Figure 32 : Aberrations chromosomiques détectées dans les racines.....	39

Liste des tableaux

Tableau I : Les résultats des analyses bactériologiques après 24h	29
Tableau II : Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués	30
Tableau III : Résultats de l'examen microscopique	31
Tableau IV : Résultats des tests catalase et oxydase	32
Tableau V : Résultats obtenus pendant notre étude pratique	33
Tableau VI : Les résultats de la longueur des racines d'oignons	33
Tableau VII : Effet des échantillons testés sur l'IM et les phases mitotiques	35
Tableau VIII : Pourcentage des AC détectées dans les racines d'oignons	38

Résumé :

Notre étude se concentre sur l'évaluation de la qualité des eaux de source traitées par le chlore prélevées au niveau de source de Sellaoua Anouna et Ain Ben Amman dans la ville de Guelma on février 2025 et ceci par l'application des études bactériologiques et du test des aberrations chromosomiques dans les racines *d'oignon*.

Durant cette étude les résultats des études bactériologiques effectuées sur les prélèvements ont révélé une absence totale des germes de contamination fécale et pathogène dans les échantillons de source Sellaoua Anouna à l'exception de la source d'Ain Ben Amman qui sont souillées par les germes (*Enterococcus faecium*).

Les résultats de l'étude génotoxique ont montré que tous les échantillons testés n'exercent pas un effet cytotoxique et génotoxique sur les racines d'oignon mais avec une différence dans l'intensité des réponses. Les eaux de source présente une augmentation marquée dans l'élongation racinaire et quelque diminution de l'IM ainsi que l'apparition d'un pourcentage considéré d'anomalies chromosomiques (condensation des chromosomes, PAT, les chromosomes vagabonds et pont chromosomique).

Mots clés : Eaux source, bactéries, test d'*Allium*, cytotoxicité, génotoxicité, cytotoxique.

Abstract

Our study focuses on evaluating the quality of chlorine-treated spring waters collected from the Sellaoua Anouna and Ain Ben Amman springs in the city of Guelma in February 2025, using bacteriological studies and chromosomal aberration tests on onion roots. During this study, the results of the bacteriological studies carried out on the samples revealed a total absence of fecal and pathogenic contamination in the Sellaoua Anouna spring samples, with the exception of the Ain Ben Amman spring, which was contaminated by germs (*Enterococcus faecium*). The results of the genotoxic study showed that not all the samples tested exerted a cytotoxic and genotoxic effect on onion roots, but with a difference in the intensity of the responses. The source waters exhibited a marked increase in root elongation and some decrease in MI, as well as the appearance of a significant percentage of chromosomal abnormalities (chromosome condensation, PAT, wandering chromosomes, and chromosome bridges)

Key words: chlorine-treated, bacteriological studies, chromosomal aberration tests, cytotoxic, genotoxic.

الملخص :

ركز دراستنا على تقييم جودة مياه الينابيع المعالجة بالكلور، والتي جُمعت من نبعي سلاوة عنونة وعين بن عمان في مدينة قالمة في فبراير 2025، باستخدام دراسات بكتيرية واختبارات انحراف كروموسومي (test Allium) على جذور البصل. خلال هذه الدراسة، كشفت نتائج الدراسات البكتريولوجية التي أُجريت على العينات عن غياب تام للتلوث البرازي والممرض في عينات نبع سلاوة عنونة، باستثناء نبع عين بن عمان الذي كان ملوثاً بجراثيم (المكورات المعوية الوجيهية)

ظهرت نتائج دراسة السمية الجينية أن جميع العينات المختبرة لم تُمارس تأثيراً ساماً للخلايا والجينات على جذور البصل، ولكن مع اختلاف في شدة الاستجابات. أظهرت مياه المصدر زيادة ملحوظة في استطالة الجذور وانخفاضاً طفيفاً في معدل نمو الجذور (MI)، بالإضافة إلى ظهور نسبة كبيرة من التشوهات الكروموسومية (تكاثف الكر وموسومات، PAT، الكروموسومات المتجولة، والجسور الكروموسومية).

الكلمات المفتاحية: مياه المصدر، test Allium، السمية الخلوية السمية الجينية.



Introduction

L'eau constitue un bien considéré, à l'instar de l'air, comme essentiel à la vie humaine. Elle est l'un des moteurs de l'organisation et du développement des territoires. Inégalement répartie sur la terre et présente en quantités parfois limitées, elle constitue un enjeu environnemental majeur. Avoir l'eau à disposition en quantité suffisante et en qualité, contribue au maintien de la santé. L'eau doit donc subir diverses analyses qui définiront sa qualité, pour la consommation humaine, afin d'éviter les risques des maladies hydriques pour les consommateurs. **(Gbohaida, V et al., 2016)**

L'eau de source est une ressource naturelle précieuse utilisée pour la consommation humaine. Cependant, afin de garantir sa potabilité et prévenir tout risque sanitaire, certaines eaux de source peuvent être traitées, notamment par chloration **(OMS, 2017)**. Ce mémoire présente la définition de l'eau de source et les implications de son traitement par le chlore.

Le chlore est le produit le plus utilisé pour la désinfection de l'eau, il a pour objectif l'élimination des germes pathogènes, l'oxydation de la matière organique naturelle (MON) et quelques éléments minéraux, mais également le maintien d'un résiduel désinfectant capable d'assurer la protection microbiologique. **(Mouly et al., 2008)**

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la qualité bactériologique et génotoxique des eaux de source traitées par le chlore et ceci a été effectué au niveau du laboratoire de la station de traitement des eaux potables à Hammam Dbaghe (étude bactériologique) et au niveau de laboratoire de l'université 8 Mai 1945 de GUELMA par l'application d'un test eucaryotique qui est le test des aberrations chromosomiques dans les racines d'oignon.

Pour mener à bien cette étude et atteindre nos objectifs, nous avons organisé notre démarche en deux parties étroitement liées entre elles.

1. La première partie de notre étude consiste en une revue bibliographique composée de deux chapitres.

Le premier chapitre aborde les notions générales sur l'eau de source et les maladies à transmission hydrique qui sont liées à l'eau, et le deuxième chapitre s'intéresse aux tests de génotoxicité.

2. La partie expérimentale qui comprend deux chapitres :

Le premier chapitre décrit le matériel utilisé et les méthodes d'analyse employées pour ce travail, notamment les analyses bactériologiques et des analyses génotoxique.

Et deuxième chapitre présente les résultats obtenus et leur discussion.

Enfin, une conclusion générale récapitule les principaux résultats obtenus.



Partie bibliographique



Chapitre I: Généralités
sur les eaux de source

L'eau est un élément indispensable aux êtres vivants. Sans eau il n'y aurait pas de vie sur terre. Elle est très présente sur notre planète bleue car les océans recouvrent près des trois quarts de la surface terrestre (70%). On peut le trouver sous différentes formes : liquide, solide ou gazeuse.

L'eau de source est une eau qu'elle respecte les valeurs imposées de la norme de potabilité. Le traitement de cette eau est nécessaire pour être utilisée dans différents usages quotidiens (consommation, cuisine, refroidissement, jardinage...)

1. Généralités sur les eaux de source :

1.1. Définition de l'eau de source

Une eau d'origine exclusivement souterraine est à l'abri de tous les risques de pollutions, propre à la consommation humaine dans son état naturel, microbiologiquement saine sans avoir subi des traitements ou adjonction autres que la sédimentation des matières en suspension et des composés instables. Ce traitement ne doit pas avoir pour but ou impact de modifier la composition de l'eau. La qualité des eaux de source dépend des caractéristiques géologiques de la nappe et des voies souterraines suivies. (Farch, 2017)

1.2. Caractéristiques des eaux de source de Guelma :

Originaires de Guelma, nous avons toujours su que notre région était riche en ressources hydrique naturelle. On y trouve plusieurs sources, comme Sellaoua Announa et Ain Ben Ammane, qui sont très utilisées par la population locale, que ce soit pour la boisson ou l'irrigation.

Des études récentes ont montré que sur le plan physico-chimique la qualité de ces eaux est globalement satisfaisante. Le pH, la turbidité, la conductivité électrique ou encore la température sont dans les normes de potabilité recommandées par l'OMS et le JORA. En 2023 par exemple, une étude a confirmé la stabilité de ces paramètres dans plusieurs sources de la wilaya. Cependant, au niveau bactériologique, certaines sources présentent des signes de contamination. Des germes comme les coliformes fécaux ont été retrouvés, ce qui laisse penser à une pollution d'origine humaine. Ce problème vient souvent du manque de protection autour des points de captage et du rejet anarchique des eaux usées dans la nature. (Tabet et al., 2023)

1.3. Traitement des eaux de source par le chlore à Guelma :

La désinfection de l'eau est une opération essentielle à tout traitement des eaux à visée de potabilisation, elle a deux effets bénéfiques : d'une part, elle permet d'inactiver les micro-organismes pathogènes pouvant être nuisibles à la santé humaine ; d'autre part, elle permet de laisser un résiduel du désinfectant, prévenant ainsi une éventuelle re-croissance bactérienne. Par contre, l'utilisation d'un désinfectant a comme principal désavantage, la formation de sous-produits qui sont potentiellement cancérigènes pour l'être humain (**Y. VINETTE, 2001**).

1.3.1. La formation des sous-produits de chloration :

Le chlore est l'oxydant utilisé pour l'eau potable privilégié partout dans le monde à cause de son efficacité bactéricide, sa facilité d'application, son faible coût d'achat et une bonne connaissance scientifique de son utilisation. Il présente par contre certains inconvénients, dont le principal est relié à la formation de sous-produits chlorés, formés lors de l'association du chlore et des précurseurs. Les plus importants sont les trihalométhanes (**Lise trembley, 1995**).

A. Mécanisme de formation :

La formation de SPCD est un processus complexe qui survient lorsque le chlore réagit avec des matières organiques présentes naturellement dans l'eau. Cette réaction débute dès l'ajout du désinfectant dans l'eau et se termine lorsqu'il n'y a plus de désinfectant ou de MON pour réagir.

Le chlore ajouté à l'eau est en majorité consommé par le processus d'oxydation. Le reste (10 %) opère une substitution, une addition, ou une oxydation incomplète des composés organiques. Il s'associe donc à d'autres éléments pour former des produits, dont la plupart sont indéfinis ou ne peuvent être clairement identifiés en raison de la stabilité des structures et des facteurs de solubilité. Certains d'entre eux ont été identifiés : les trihalométhanes, les acides aliphatiques halogènes, les haloaldéhydes, les halocétones, les haloacétonitriles, la chloripicrine, les chlorophénols (**Abda. A, 2015**)

B. Les sous-produits de chloration :**a) Les Trihalométhanes :**

Les THM sont les sous-produits les plus abondants dans les eaux chlorées, ils représentent 44 à 50 % des composés organohalogénés (A.O.X) totaux ou 35% de celui-ci sont formés lors de l'étape de pré chloration, alors que 60 à 70% sont formés lors de la post chloration.

Les quatre THM les plus importants sont : le chloforme, le dibromochlorométhane, le dichlorobromométhane, le bromoforme. (**Abda. A, 2015**).

b) Les acides haloacétiques :

Les HAA sont des produits d'oxydation très polaires formés par la réaction du chlore sur certaines substances organique présentes dans l'eau comme l'acide fulvique et l'acide humique. (Abda.A, 2015)

2. Présentation de wilaya de prélèvement :

La wilaya de Guelma est située au Nord-est de l'Algérie à 60 km environ de la Méditerranée. Elle est limitée au Nord par la wilaya d'Annaba, au Nord-est par la wilaya d'El Tarf, au Sud-est par la wilaya de Souk-Ahras et Oum-El Bouagui, à l'Ouest par la wilaya de Constantine et au Nord-Ouest par la wilaya de Skikda, Elle s'étend sur une superficie de 3686,84 Km² (D.P.A.T., 2008).

Et sur cette zone, sa population atteignait 494 079 personnes, dont 25% étaient concentrées au niveau des sièges de l'Etat, estimé fin 2009. La densité moyenne était de 132 personnes. / 2 km. Cet État a été créé en 1974 et comprend 10 districts et 34 communes.

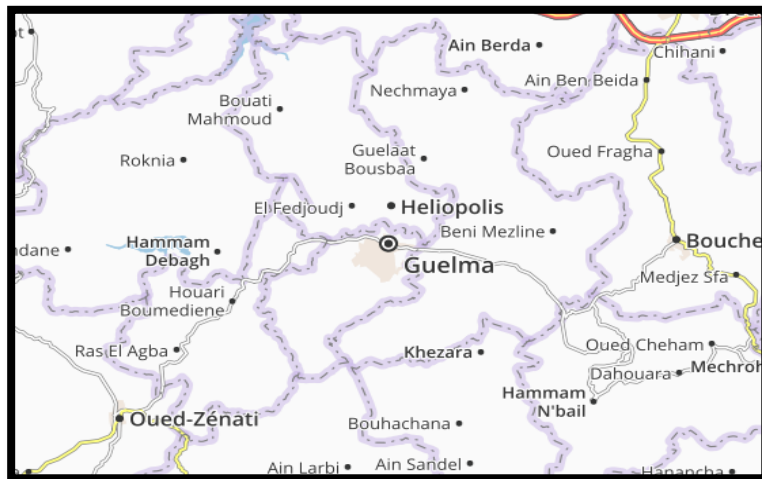


Figure 1 : La carte de wilaya Guelma. (D.P.A.T., 2008).

3. Les maladies à transmission hydrique :

On distingue quatre grands groupe de maladies sont liées à la disponibilité et à la qualité de l'eau, ainsi qu'à la gestion efficace des ressources hydriques :

3.1. Les maladies en rapport avec une carence aiguë ou chronique en eau propre:

Cette carence peut survenir durant les épisodes de sécheresse, ou lors des destructions des infrastructures approvisionnant les populations (guerres ou catastrophes naturelles). Le risque est alors une déshydratation aiguë qui engage très rapidement le pronostic vital, en particulier

chez les jeunes enfants. Les difficultés chroniques d'accès à une eau propre sont responsables de terribles maladies en rapport avec le manque d'hygiène des mains et du visage. Le trachome, cause majeure de cécité notamment en Afrique, est d'abord prévenue efficacement par le nettoyage du visage. **(Guillaume. L, 2016)**

3.2. Les maladies liées à la contamination de l'eau par un agent infectieux :

Un microorganisme - transmis à l'homme à l'occasion d'un contact avec l'eau ou d'une consommation d'eau. Il suffit parfois d'un bain en eau douce, comme dans le cas de la bilharziose, pour s'infecter, mais c'est l'ingestion de l'eau contaminée qui représente le plus grand pourvoyeur de maladies bactériennes ou virales graves.

Dans ce groupe se trouvent : en particulier le choléra, qui atteint encore plus de 50 pays, la typhoïde, le rota-virus, les hépatites A et E, l'amibiase, et l'ensemble des micro-organismes provoquant des diarrhées sévères, en particulier chez l'enfant. **(Guillaume. L, 2016).**

3.3. Les maladies liées à la contamination de l'eau par des toxiques :

Telle que l'arsenic et le fluor. La consommation chronique d'arsenic est ainsi à l'origine de plusieurs cancers, celle de fluor cause la survenue de maladies osseuses et dentaires. **(Guillaume. L, 2016)**

3.4. Les maladies à transmission dite vectorielle :

C'est à dire transmise par des insectes, principalement des moustiques, dont la vie dépend de la présence de réservoirs d'eau où ils peuvent se développer. Deux des principales maladies qui touchent les pays du sud, le paludisme et la dengue, sont transmises par une piqûre de moustique mais liées à l'eau car c'est dans ce milieu, en zone rurale ou en zone urbaine, que le moustique poursuit son développement, favorisé par la stagnation des eaux de pluie.

Enfin, sans être une source directe d'infection et de maladie pour l'homme, l'eau peut être un milieu dans lequel survit plusieurs jours un agent infectieux. C'est le cas du virus Ebola. C'est pourquoi lors de la récente épidémie en Afrique de l'Ouest, l'OMS a recommandé des mesures strictes d'hygiène et de gestion des eaux usées dans les centres prenant en charge des patients infectés **(Guillaume. L, 2016)**

Parmi ces maladies :

3.4.1. Le choléra, aussi appelé “maladie des mains sales” : est causé par la bactérie *Vibrio cholera*. Elle se transmet par la consommation d’aliments ou d’eau contaminée par les selles de personnes infectées. Elle se propage dans l’Afrique, Amérique latine, Asie, Europe, et Océanie. On estime des millions de cas recensés, et 148.000 morts chaque année (**Guillaume. L, 2016**)

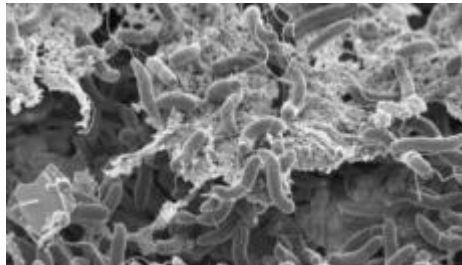


Figure 2 : La maladie de choléra (Guillaume. L, 2016)

3.4.2. La diarrhée : est un symptôme d’une infection causée par un grand nombre d’organismes bactériens, viraux et parasitaires dont la plupart peuvent se propager par l’eau contaminée. Elle est plus fréquente lorsqu’il n’y a pas d’eau propre pour la boisson, la cuisine et le nettoyage, et lorsque les règles d’hygiène essentielles ne sont pas respectées (**Guillaume. L, 2016**)



Campylobacter



Yersinia Enterocolitica



Salmonella



Shigella sp

Figure 3 : La maladie de diarrhée. (Guillaume. L, 2016)

3.4.3. L'hépatite : deux des virus qui causent l'hépatite (hépatite A et E) peuvent être transmis par l'eau et les aliments. Parmi les causes infectieuses, on peut mentionner un approvisionnement en eau insuffisant ainsi qu'un mauvais assainissement et une hygiène de mauvaise qualité.

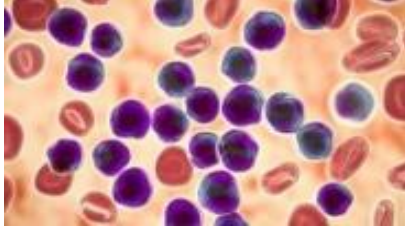


Figure 4 : Le virus de l'hépatite A

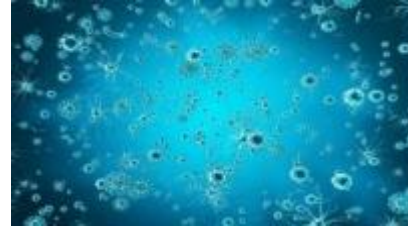


Figure 5 : Le virus de l'hépatite E

Elle se propage dans le monde entier, mais il y a une forte présence de l'hépatite A en Afrique, Amérique centrale, Amérique du Sud, et Asie. On n'estime que 20 millions de cas recensés par an d'hépatite E, et 44 000 décès en 2015. (Guillaume. L, 2016)

3.4.4 Le paludisme, ou malaria (en anglais) : est la maladie infectieuse parasitaire la plus importante dans le monde. Elle est due à un parasite du genre Plasmodium, transmis, la nuit, lors de la piqûre par une femelle moustique du genre Anophèles. Sans traitement rapide et efficace, le paludisme peut évoluer vers une forme cérébrale grave et mortelle. (Guillaume. L, 2016)



Figure 6 : Une boule de sang infectée par le paludisme **Figure 7 :** Le moustique rouge
(Guillaume. L, 2016)

3.4.5. Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes : sont des infections causées par des bactéries *Salmonella typhi* et *Salmonella paratyphi*. Les personnes deviennent infectées lors de l'ingestion d'aliments ou de boissons qui ont été manipulé(e)s par une personne infectée ou après avoir consommé de l'eau de boisson contaminée par des selles ou des effluents contenant les bactéries. (Guillaume. L, 2016)



Figure 8 : Bactérie de maladie fièvre typhoïde. (01)

4. Leurs effets à la santé de population :

L'eau contaminée et le manque d'assainissement entraînent la transmission de maladies comme le choléra, la diarrhée, la dysenterie, l'hépatite A, la fièvre typhoïde et la poliomyélite. L'insuffisance ou l'absence des services d'alimentation en eau et d'assainissement ou leur mauvaise gestion expose les personnes concernées à des risques évitables pour leur santé. C'est particulièrement vrai dans les établissements de santé où les patients et le personnel courent un risque supplémentaire d'infection et de maladie lorsqu'il n'y a pas de services d'alimentation en eau, d'assainissement et d'hygiène. À l'échelle mondiale, 15 % des patients contractent une infection pendant leur séjour à l'hôpital, cette proportion étant bien plus grande dans les pays faible revenu. La mauvaise gestion des eaux usées urbaines, industrielles et agricoles implique pour des centaines de millions de personnes une contamination dangereuse ou une pollution chimique de l'eau potable. La présence naturelle de produits chimiques, notamment l'arsenic et le fluorure, en particulier dans les eaux souterraines, peut également avoir une incidence sur la santé, tandis que d'autres produits chimiques, comme le plomb, peuvent être libérés dans l'eau potable en quantités importantes en raison de leur présence dans les éléments du réseau d'approvisionnement (**Organisation Mondiale de la Santé., 2022**).



Chapitre
II Tests de
génomotoxicité

Il existe de nombreux tests de détection du pouvoir cancérigène. Les procédés choisis doivent tenir compte du fait que l'organisation du matériel génétique est très différente entre les eucaryotes et les procaryotes (**Vaubourdolle, 2007**).

I. Test d'Allium :

1. Définition de génotoxicité :

La génotoxicité, également connue sous le nom de toxicité génétique, fait référence à la capacité de certains agents physiques, chimiques ou biologiques à endommager l'ADN, ce qui peut entraîner des mutations génétiques si ces lésions ne sont pas réparées. Ces agents sont qualifiés de mutagènes. Les génotoxiques sont des molécules qui exercent un effet toxique sur le génome en altérant le matériel génétique, ce qui peut se produire de manière directe, induisant des mutations géniques ou chromosomiques, ou de manière indirecte, comme la modification de la structure des nucléotides avant leur incorporation dans l'ADN, ou encore en inhibant des enzymes de synthèse ou de réparation telles que l'ADN polymérase, les ligases, les topoisomérases, etc., conduisant à des mutations génomiques (**Cachot et Dégrement, 2009 ; Fasla, 2009**).

2. Utilisation de plantes supérieures en génotoxicité :

Actuellement, parmi les espèces végétales supérieures utilisées pour évaluer la contamination environnementale, on retrouve fréquemment *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Tradescantia*, *Nicotiana tabacum*, *Crepis capillaris* et *Hordeum vulgare* (Grant, 1994). En outre, parmi ces espèces, *Allium cepa* est particulièrement reconnue pour son aptitude à détecter les dommages et les perturbations chromosomiques. Ses conditions chromosomiques, notamment la présence de grands chromosomes en nombre réduit ($2n = 16$), facilitent la détection des altérations du cycle mitotique (**Fiskesjo, 1985**).

3. Différents tests de génotoxicité associés aux plantes supérieures :

3.1. Test des aberrations chromosomiques :

Le test des aberrations chromosomiques (AC) implique l'examen au microscope optique pour détecter des anomalies telles que des cassures de chromosomes avec ou sans délétion, des modifications de structures et d'appariements, ainsi que des erreurs survenues lors de la mitose.

Une augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques est corrélée à un risque accru de développer un cancer (**Tarantini, 2009**).

3.1.1. Test des aberrations chromosomiques dans les racines d'*Allium cepa* :

3.1.1.1. Présentation générale d'*Allium* :

Allium cepa ($2n=16$), communément appelé l'oignon, appartient à la famille des alliacées. Cette plante est largement cultivée dans de nombreux pays pour son utilisation alimentaire. Son caryotype présent cinq paires de chromosomes, avec des tailles variant de 8 à 16 micromètres, et les centromères sont situés de manière médiane à submédiane. Deux paires de chromosomes présentent des centromères submédians, tandis qu'une paire possède des chromosomes satellites. Les différentes variétés d'oignon, telles qu'une variété à petits bulbes, une variété américaine à gros bulbes jaunes, et une troisième variété mexicaine à petits bulbes, connue en France sous le nom d'oignon blanc printanier, peuvent être utilisées à des fins d'évaluation. *Allium cepa* est couramment employé pour évaluer divers critères de toxicité et de génotoxicité. En ce qui concerne la toxicité, l'élongation racinaire d'*Allium cepa* est souvent mesurée conjointement avec les études de génotoxicité. Ce critère présente une meilleure reproductibilité et une facilité de mesure accrue, car les racines d'*Allium* poussent de manière très homogène et forment un ensemble de racines de longueur égale (**Tabet, 2015**).

3.1.1.2. Critères de génotoxicité déterminés sur *Allium cepa* :

Le premier critère de génotoxicité à avoir été analysé est la fréquence des aberrations chromosomiques dans les années 1930. Il existe différents types AC : ponts (chromosomes qui ne migrent pas correctement lors de l'anaphase), C-mitose (les agents c-mitotiques ou colchicomitotiques induisent un effet similaire à celui induit par la colchicine, c'est-à-dire la non construction du fuseau mitotique, ce qui a pour conséquence de disperser les chromosomes en C métaphase), etc... Les AC sont comptés dans les cellules en mitose et peuvent être détectées lors des différents stades : la métaphase, l'anaphase ou la télophase (**Cotelle, 1999**).

II. Test de Comète :

Le test des comètes, également connu sous le nom anglais de « single cell gel electrophoresis » ou SCGE, est un outil essentiel pour étudier la génotoxicité à l'échelle cellulaire de substances sur tout tissu vivant composé de cellules eucaryotes (**Foltete, 2010**). Le principe de cette technique consiste à suspendre des cellules dans un gel d'agarose sur une lame de microscope, puis après une étape de lyse cellulaire et la libération des noyaux, ces derniers

vont migrer dans un champ électrophorétique (Collins, 2004). Si l'ADN n'a pas été endommagé et reste sous forme super enroulée, il se présentera sous forme d'une sphère

Compacte. En revanche, si l'ADN a subi des dommages, les noyaux présentant des cassures adopteront une forme de comète (Fig.09) (Soughir, 2009).

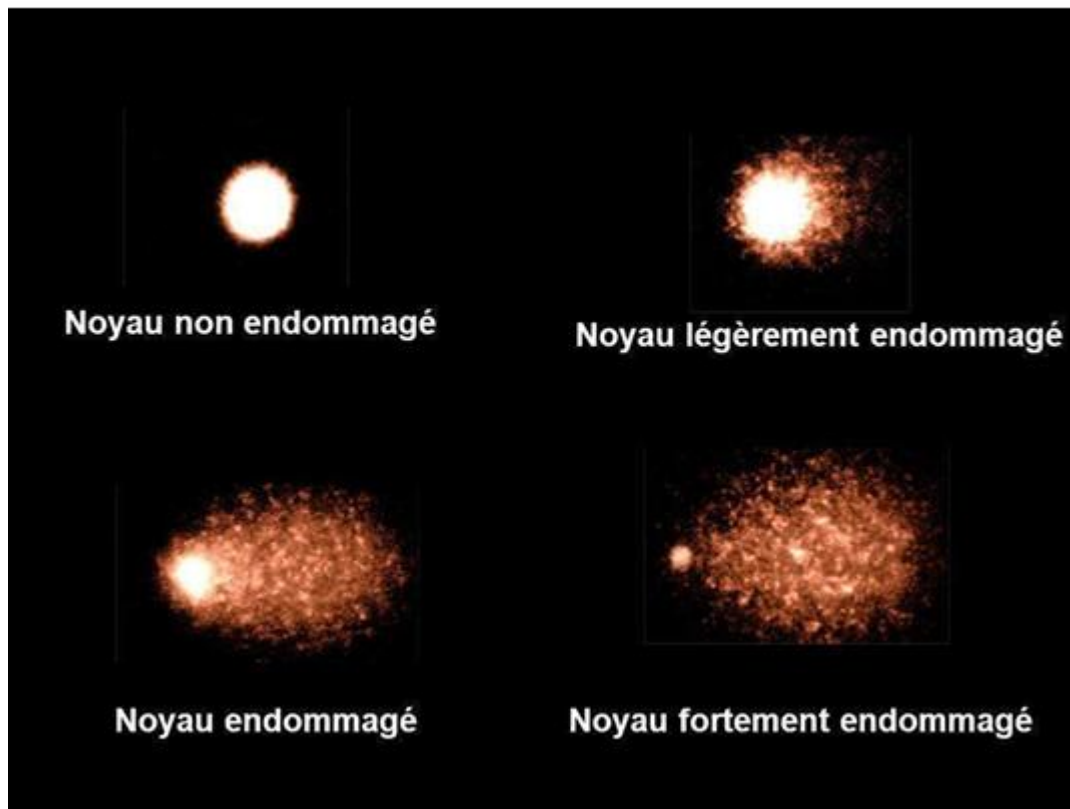


Figure 9 : Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN (Moche, 2015).

III. . Test du micronoyau :

L'induction de micronoyaux in vitro est l'un des tests de mutagénicité utilisés pour détecter la capacité de tout agent physique ou chimique à provoquer la formation de petits noyaux (micronoyaux) dans le cytoplasme des cellules en interphase (Soughir, 2009). Ce test évalue l'exposition à des agents clastogènes et/ou aneugènes (Fig.10). L'observation microscopique des cellules-filles après coloration à l'acéto-orceine permet le dénombrement de ces micronoyaux (Ortega, 2004).

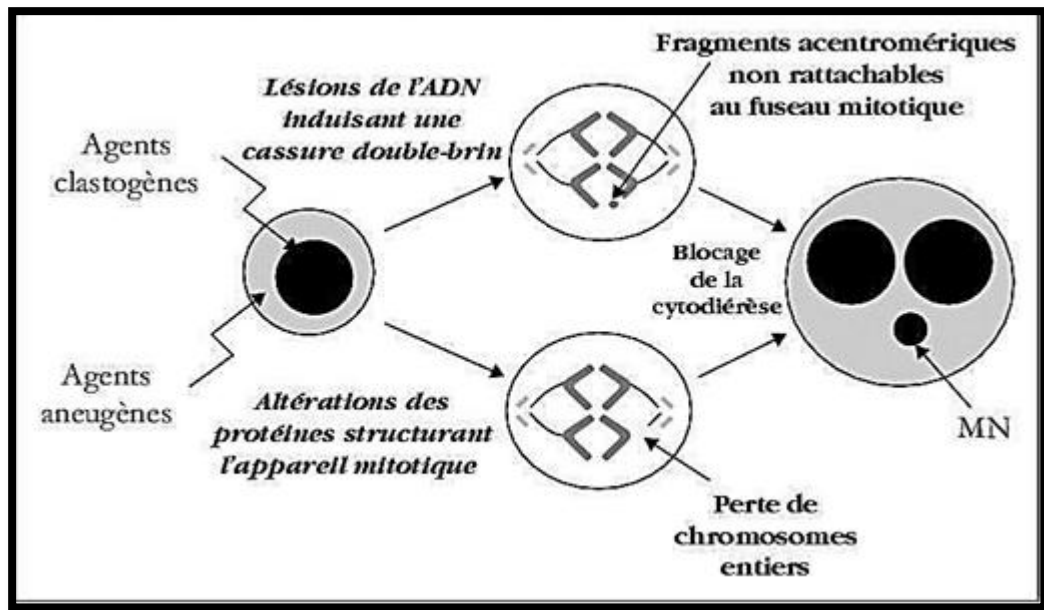


Figure 10 : Schématisation de la formation des micronoyaux (Darolles, 2010).



Partie expérimentale



Chapitre III

Matériel et Méthodes

Les travaux effectués dans le cadre de cette étude ont permis d'étudier l'effet du désinfectant sur les eaux étudiées. Ce chapitre décrit les étapes suivies afin d'atteindre les objectifs souhaités. La première étape consiste à analyser les paramètres bactériologiques et la deuxième étape consiste à déterminer la génotoxicité des eaux prélevées.

1. Site de prélèvement :

Ce travail a pour objectif d'études bactériologique des eaux des sources traitée de la ville de GUELMA, nous avons faire des prélèvements au niveau se deux point : source de Sellaoua Anouna et source de Ain Ben Amman.

Pour contribuer à l'étude de l'évolution de la qualité bactériologique de l'eau destinée à la consommation humaine (eau de la source), et puisqu'elle est d'usage quotidien, un contrôle stricte sa qualité microbiologique et bactériologique s'impose. C'est pourquoi nous avons effectué des tests en laboratoire sur certains échantillons d'eau potable à plusieurs endroits dans différentes municipalités de l'état de Guelma, pour analyser sa qualité, sa potabilité et sa pollution.

Source 1 : Ain-El-Beida (Sellaoua) La source de Sellaoua captée par adduction au bas versant du village Sellaoua-Anouna est alimentée, d'après **Lahondère (1987)**, par les eaux de la nappe ultra tellienne appartenant à l'unité d'Oued-Zénati (campanien et maestrichtien). L'agriculture pratiquée est l'arboriculture (Amandiers et olivier). La fertilisation est rare voire absente. (Fig.11)



Figure 11 : Situation de la source "Ain-El-Beida"

(Sellaoua-Anouna)

Source 2 : Ain ben amman (Hammam Dbaghe) : est un petit village situé a 100m de station d traitement de l'eau.

Les eaux de source ont été collectées durant même jour le (17.02.2025) et les flacons contenant les échantillons des deux sources à analyser sont transportés dans un environnement isotherme à 4°C. (Fig. 12)



Figure 12 : Les deux sites de prélèvements de l'eau tester (**Photo personnelle, 2025**)

2. Etude bactériologique :

L'analyse bactériologique a pour but de mettre en évidence la présence des germes, pour cela nous avons utilisé la méthode de filtration sur une membrane de cellulose à 0.45 μm , ceci permet aux colonies de se développer préférentiellement au cours d'une incubation de 18 à 24 heures. (**Rodier et al., 1996**).

La recherche et le dénombrement ont été basés sur des micro-organismes considérés comme des indicateurs de contamination ou pathogènes et au même temps ils ont la possibilité de résister même après un traitement avec le chlore en se basant sur les paramètres suivants selon Rodier et al, 1996.

2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux (GT) :

- Nous avons prenez deux échantillons de 1ml de l'eau à analyser et nous avons les placé dans deux boites de pétri vides et numérotées et par la suite nous avons ajouté environ 15 ml de gélose TGEA dans chaque boite.
- Ensuite nous avons mélangé soigneusement avec un mouvement rotatif avant de laissé la gélose se solidifier.

-L'étape suivante est l'incubation à 37°C pendant 48h, pour permettre aux colonies de se développer avant de les compter. (ABDA. A, 2015)

2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

2.2.1. Par gélose CCA :

Ce test conduit à un dénombrement présomptif des coliforme CF et des CT et ceci sur des boîtes de gélose CCA. La boîte a été incubée durant 24 heures à 37°C, après ce temps d'incubations, il peut apparaître des colonies roses claires correspondantes aux coliformes fécaux.

C'est un nouveau test, il a le même principe de tergitole, mais cela nous donne des résultats en moins du temps.

2.2.2. Par gélose tergitol TTC :

Après la filtration de l'eau à analyser nous avons placé les membranes sur des boîtes pétri contenant le tergitole.

Les deux boîtes ont été incubées durant 24 heures à 37°C, après ce temps d'incubation, il peut apparaître des colonies rouges et jaunes ou orangées.

Les colonies jaunes correspondants aux CF ont été requêtes sur des milieux de confirmation.

Pour cette étape nous avons utilisé le milieu **Schubert** (Fig. 13) et ceci par prélèvement d'une colonie à partir de gélose tergitole, puis la mettre dans un Schubert et l'incuber pendant 44°C durant 24 heures. L'existence de poussée bactérienne, de gaz dans la cloche (fermentation du mannitol avec gaz) et une coloration rouge après addition du réactif de Kovac (caractère indologène), correspondent à une réaction positive pour la présence d'E. Coli présumés. (Abda. A, 2015)



Figure 13 : Confirmation par milieu Schubert (Photo personnelle, 2025)

2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Après faire la méthode de filtration, mais cette fois nous avons placé la membrane sur une boîte de milieu de slanetz et bartely.

Après 24 heures d'incubation, les streptocoques ont été apparait en petite colonie rouge visible sur la boîte.

Test confirmatif :

Les colonies suspectées ont été repiquées et transférées sur le milieu BEA. La lecture a été faite après quelques heures des halos noirs. (Abda. A en 2015)

2.4. Recherche et isolement de staphylocoques :

Nous avons utilisé le milieu Chapman pour identifier les bactéries staphylocoques.

Après concentration des échantillons par filtration sur membrane de cellulose à 0.45 μm ; celle-ci a été déposée sur un milieu Chapman tolérant de hautes concentrations en NaCl, le milieu Chapman au mannitol.

Les boîtes ont été incubées à 37°C durant 24 h ou, si besoin, est durant 48 h. Nous avons observé des colonies jaunes c'est à dire il y'a présence des bactéries des staphylocoques.

2.5. L'étape de l'identification :

2.5.1 Examen macroscopique des caractères cultureux :

Pour l'examen macroscopique des bactéries, les souches doivent être cultivées sur un milieu gélosé solide en boîte de Pétri. Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques. L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées. La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille : (des colonies petites, moyennes, grosses).
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- Le contour : à bords circulaires, irrégulières et parfois envahissantes, déchiquetées.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation. **(Rouaiguia et al., 2010)**

2.5.2. 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.

2.5.3. 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. Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupements, leur abondance et leur mobilité.

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 $\times 40$. **(Carbannelle et al., 1988)**

2.5.4. Les étapes de coloration de Gram : (Fig. 14)

- Fixer de frottis.

- Recouvrir le frottis de la solution de violet de gentine. Laisser agir 1 minute.
- Rejeter le colorant. Laver à l'eau.
- Recouvrir la préparation de Lugol. Laisser agir 1.30 minute.
- Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.
- Décolorer à l'alcool 95° pendant 10 secondes.
- Rincer à l'eau courante.
- Recouvrir la lame de la solution de Fuchsine diluée. Laisser agir pendant 30 secondes à 1 minute.
- Laver abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier buvard très propres.
- Observer au microscope :
 - Les bactéries Gram négatif sont roses.
 - Les bactéries Gram positif ont de coloration violette (**Bourdon et al., 1981**)

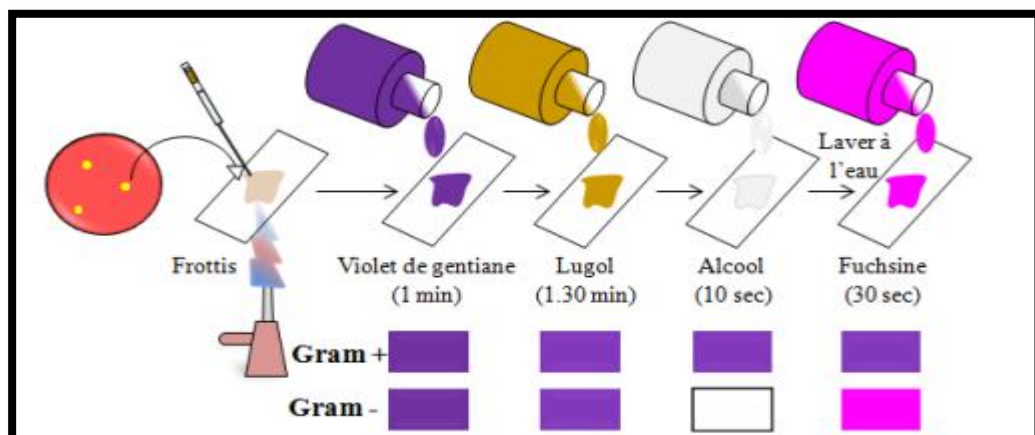
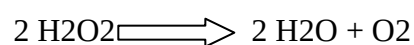


Figure 14 : Procédure de la coloration de Gram. (**Bourdon et al., 1981**)

2.6 Test de catalase : La catalase est une enzyme qui détruit les peroxydes toxiques pour les bactéries. Elle catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en eau avec libération d'O₂. (Fig.15)

Catalase



Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram⁺. La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on introduit

ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme catalase. **(Carbonnelle et al., 1988)**

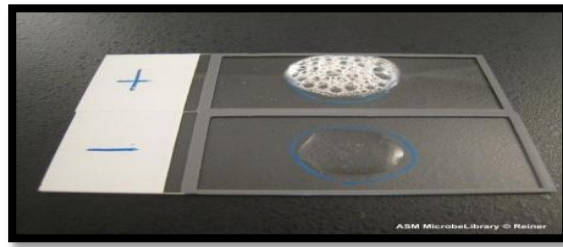


Figure 15 : Exemple du test catalase (02)

2.7. Test d'oxydase : La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque (Fig. 16). Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet. **(Carbonnelle et al., 1988)**

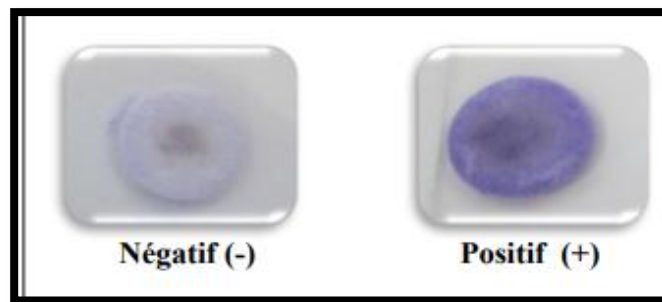


Figure 16: Exemple d'un test oxydase (03)

2.8. Identification par GALERIE API Strep 20 :

But : Elle permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques.

Principe : La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

Technique :

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel.

- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Inoculation de la galerie :

Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, 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. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. (Fig.17)



Figure 17 : Galerie API 20 STREP

3. Etude génotoxique (test d'*Allium cepa*) :

3.1. Le principe :

Parmi les tests adaptés à la surveillance de la toxicité, le test *Allium* est bien connu et couramment utilisé dans de nombreux laboratoires. Les oignons sont faciles à stoker et à manipuler.

Elle permet de déterminer des critères de phytotoxicité tels que l'élongation

racinaires, l'indice mitotique (IM) et le plus souvent les AC (Fiskesjo, 1988 ; Cotellet, 1999).

3.2. Matériel biologique :

La plante de l'oignon est le matériel végétal utilisé dans ce travail.

3.3. La procédure :

3.3.1. Préparation des organismes végétaux :

Il s'agit de placer 15 bulbes d'oignon dans de l'eau distillée à température ambiante pendant 48h à l'obscurité dans un endroit aéré.

Ensuite, des séries de cinq bulbes en croissance sont placées pendant 24 h dans des gobelets contenant, les échantillons à tester (eau de source de Sellaoua Anouna et eau de source de Ain ben Amman) et l'eau distillée (contrôle négatif), de façon à ce que seules les racines soient immergées. (Liman et al., 2010) (Fig.18)

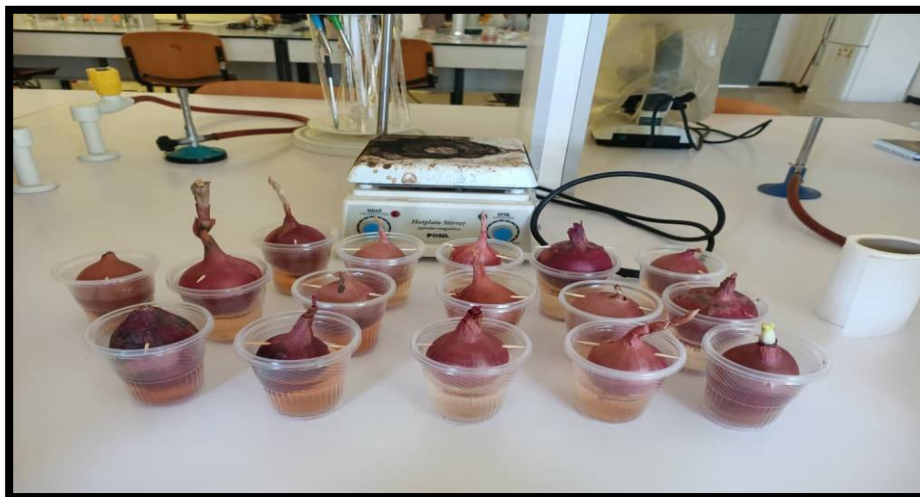


Figure 18 : Culture des bulbes dans l'eau distillée. (Photo personnelle, 2025)

3.3.2. Elongation racinaire :

L'élongation racinaire a été calculée en mesurant la longueur des racines des bulbes d'oignons après 24 h de l'exposition aux trois solutions à tester : eau distillée, et eaux de source (Sellaoua Anouna et Ain Ben Amman). Il s'agit donc de mesurer les longueurs de trois racines de chaque bulbe en calculant la moyenne des racines.

3.3.3. Fixation et coloration des extrémités racinaires :

Les racines sont nettoyées à l'eau distillée, puis les deux derniers centimètres sont prélevés et fixés à 4 ° C pendant au moins une nuit dans un mélange éthanol/acide acétique glacial (3v :1v) préparé au préalable. Ce mélange, connu sous le nom de solution de Carnoy, est extrêmement instable. S'il n'est pas préparé au moment de l'utilisation, il peut être estérifié. L'éthanol a pour effet de précipiter et dénaturer les protéines, de dissoudre certains lipides et de durcir les tissus. L'acide acétique est un bon fixateur des chromosomes, il précipite les protéines du noyau. Ensuite, les extrémités racinaires sont conservées dans 2,5 ml d'éthanol à 70% à 4 ° C.

Les extrémités des racines sont ensuite immergées dans de l'eau distillée pendant deux minutes, hydrolysées dans de l'HCL 1N pendant 8 min à 60 ° C. (Fig.19)



Figure 19 : Hydrolyse des racines dans l'HCL. (Photo personnelle, 2025)

Puis transférées dans l'eau distillée pendant 5 minutes avec le changement de l'eau 3 fois (5minutes/fois).

Après prendre les racines dans le réactif Feulgen pendant 20 à 25 minutes, les racines sont ensuite colorées à l'obscurité.

Il s'agit ensuite de poser les extrémités racinaires sur une lame et d'enlever la partie claire et mettre une goutte d'Acide acétique glaciale 45%.

A la fin, une lamelle à été placée sur chaque extrémité. (Cotelle, 1999 ; Liman et al., 2010 ; Silva et al., 2011).

3. 4. Examen microscopique :

Il a été nécessaire avant l'observation des cellules, d'effectuer un code à chacune des lames, de façon à ce que l'expérimentateur ne sache pas à quel groupe des lames correspondent. L'examen microscopique des lames a été réalisé à un grossissement de 640 pour l'IM qui correspond à la proportion de cellules en cours de division mitotique les cellules en division ont été dénombrées pour 1000 cellules par lame. Notons que tous les stades de la mitose ont été pris en compte, de la prophase jusqu'à un grossissement de 960, les résultats ont été exprimés en nombre des aberrations pour 100 cellules (Fiskesjo, 1988 ; Sexena et al., 2005 ; Silva et al., 2011)



Chapitre IV

Résultats et Discussion

Après la description de différentes techniques réalisées, nous allons présenter dans ce chapitre les résultats obtenus ainsi que les discussions

Ce chapitre est structuré en deux parties :

1. Résultats d'analyses bactériologiques :

Dans l'eau consommée par la population, il est nécessaire d'effectuer des analyses bactériologiques de l'eau. Ces analyses permettent de vérifier l'efficacité des traitements de désinfection.

Les analyses bactériologiques de l'eau se concentrent principalement sur l'étude d'indicateurs de contamination. Dans une eau naturelle, ces indicateurs permettent d'évaluer la présence des polluants, tandis que dans une eau traitée, ils servent à évaluer l'efficacité du traitement **(Rodier et al., 2009)**. Les résultats des analyses bactériologiques des échantillons d'eau de source ont été présentés sous forme de tableau illustrant les variations des différents paramètres étudiés.

Tableau I : les résultats des analyses bactériologiques après 24h

Paramètres bactériologique	les résultats 24h		Valeurs
	S1	S2	\
GT	0	1	\
CT	0	8	10
CF	0	2	0
SF	0	0	0
STAPH	0	0	0

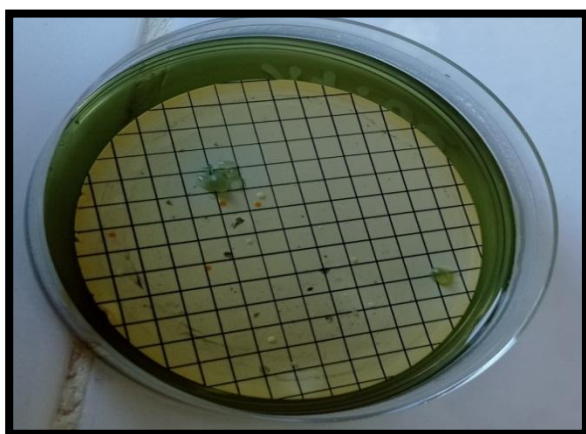
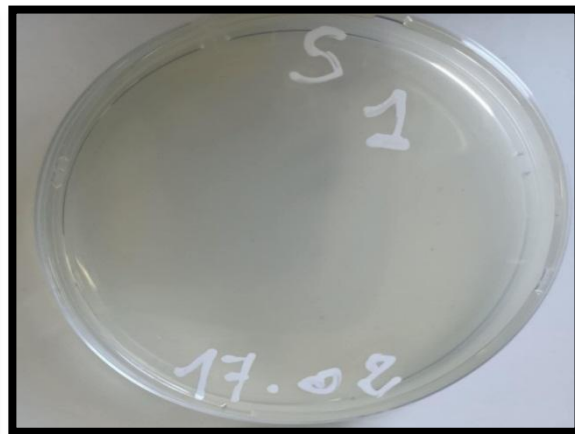
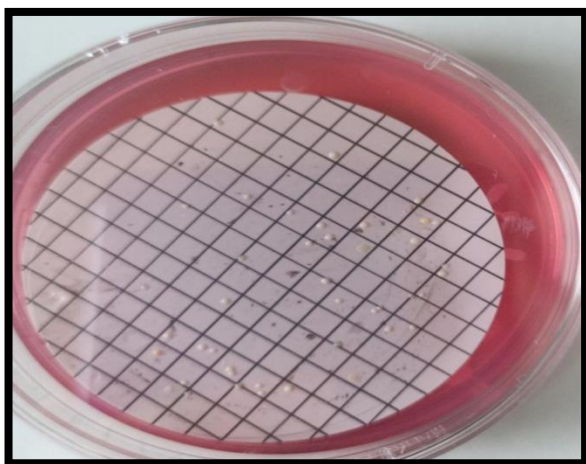
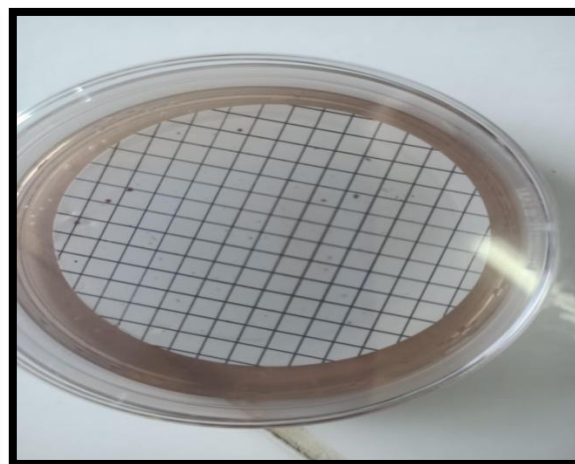
GT : Germes totaux. **CT** : Coliformes totaux. **CF** : Coliformes fécaux. **SF** : Streptocoques fécaux.
Staph : Staphylocoques

1.1.Aspect macroscopique après l'isolement :

Après isolement et purification des souches bactériennes sur les différents milieux utilisés, les principaux caractères cultureux sont résumés dans les figures et le tableau suivant :

Tableau II : Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués

Milieux sites	Chapman	TGEA	Tergitol	CCA	Slanetz et bartely
S1	1 Type : - (6) colonies blanches. - (1) fine colonies jaune. -Mannitol(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
S2	1Type : - (38) colonies blanches. - (2) colonies jaune bombée. Mannitol (+) Moyenne taille	(1)	(-)	(-)	(-)

**Figure 20** : Culture sur Tergitol 7 au TTC.**Figure 21** : Culture sur TGEA.**Figure 22** : Culture sur Chapman.**Figure 23** : Culture sur Slanetz et bartely.

1.2. Résultat d'examen microscopique :

Après la coloration différentielle de Gram, différentes formes bactériennes ont été isolées, notamment des cocci. Le tableau et l'image microscopique ci-après illustrent l'aspect de certaines bactéries isolées sur les milieux de culture utilisés.

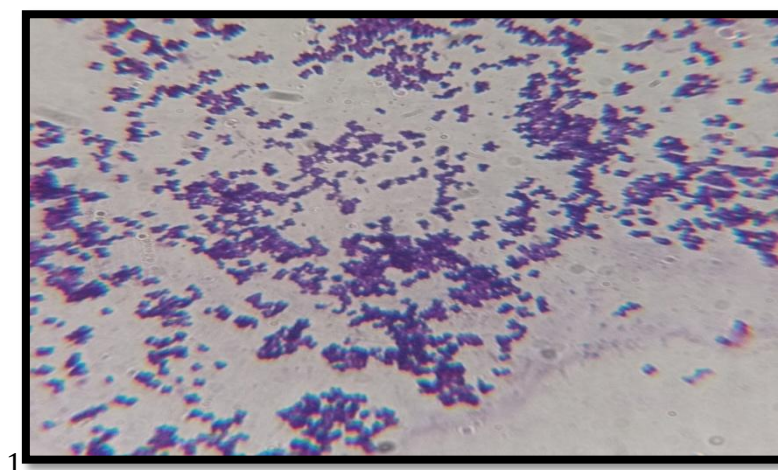


Figure 24 : Des cocci Gram (+). (Photo personnelle, 2025)

Tableau III : Résultats de l'examen microscopique

Examen Prélèvement	A l'état frais	Coloration de Gram
(1) Chapman S1G	Mobile	COCCI (+)
(2) Chapman S1B	Immobile	COCCI (-)
(3) Chapman S2B	Immobile	COCCI (-)
(4) Chapman S2G	Mobile	COCCI (+)

1.3. Identification biochimique :

1.3.1. Test catalase-oxydase :

Ces tests biochimiques (catalase, oxydase) ont été réalisés sur les souches isolées. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Résultats des tests catalase et oxydase

Cocci	Catalase négative	Chapman 1
	Oxydase négative	Chapman2
	Oxydase négative	Chapman3
	Catalase négative	Chapman4

Les figures illustrent les caractères négatifs pour le test catalase et le test d'oxydase chez les bactéries isolées.

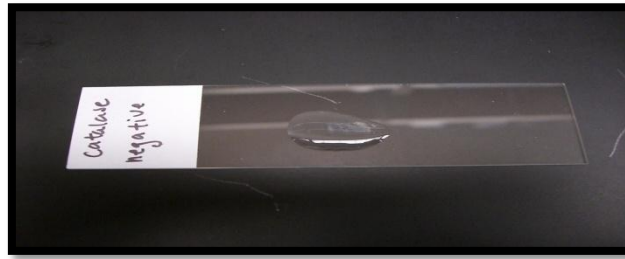


Figure 25 : Catalase négative (04)



Figure 26 : Oxydase négative (05)

1.4. Galerie biochimique :

Nous avons utilisé un seul type de galerie (**Fig. 27, 28, 29**) API20 STREP. Après la préparation et l'incubation des galeries, il existe deux espèces de cellules bactériennes ont été identifiées par l'utilisation d'un logiciel API Web.



Figure 27 : Galerie API 20 Strep avant l'incubation. (Photo personnelle, 2025)



Figure 28 : Galerie API 20 strep de (S1G) après l'incubation. (Photo personnelle, 2025)



Figure 29 : Galerie API 20 Strep de (S2G) après l'incubation. (Photo personnelle, 2025)

Les résultats obtenus pendant notre étude pratique sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V : Résultats obtenus pendant notre étude pratique

Technique	Etat frais	Coloration de gram	Milieu d'isolement sélectif	Test biochimique		Galerie utilisé	Identification biochimique
				catalase	Oxydase		
Chp1 S1G	mobile	Cocci Gram +	Chapman	(-)	\	Api 20 Strep	Leuconostoc spp
Chp2 S1B	immobile	Cocci Gram -	Chapman	\	(-)	\	\
Chp3 S2B	Immobile	Cocci Gram -	Chapman	\	(-)	\	\
Chp4 S2G	mobile	Cocci Gram +	Chapman	(-)	\	Api 20 Strep	Enterococcus faecium

Discussion :

Notre travail a pour but l'isolement et l'identification des microorganismes responsables des infections dans l'eau de source, et, ceci à partir de deux sites Sellaoua Anouna et Ain Be Aman.

Les analyses effectuées ont révélées que les échantillons étudiés contiennent deux microorganismes au cours de notre étude, et ceci a été confirmé par une identification biochimique via la galerie API. Ces deux sont des espèces environnementales et opportunistes sont : Enterococcus faecium et leuconostoc spp. Ces résultats sont en accord avec ceux de Bourbigot et al., 1984 ; De Constantin et al., 1986 et Le Chevallier et al., 1987.

Les entérocoques sont des bactéries pathogènes opportunistes fréquemment responsables d'infection nosocomiales. Qui provoques des infections urinaires et les abcès abdominaux par contre leuconostoc spp c'est une bactérie non pathogène.

Donc d'après les résultats des germes pathogènes, on conclut l'absence des bactéries pathogènes telle que les germes totaux, les coliformes fécaux et les staphylocoques aureus dans les deux points d'échantillonnage, à l'exception des entérocoques dans le site2 et leuconostoc spp dans le site1. Il est donc évident que, dans la plupart des cas, ces points d'eau respectent les normes de potabilité nationales et internationales (**OMS, 2006 ; JORA, 2011**).

2. Résultats du test de génotoxicité (Test d'*Allium*) :

L'étude de la cytotoxicité et la génotoxicité des échantillons des eaux source prélevées de la région de Guelma a été examinée par trois critères : la longueur racinaire, l'IM et par la fréquence des AC dans les racines d'oignons.

2.1. La longueur des racines :

En plus de l'existence des paramètres cytogénétiques communs, comme l'IM et les AC, la croissance des racines a été aussi utilisée comme un paramètre macroscopique. les résultats de la croissance des racines des oignons présentés dans le tableau suivant .les racines exposées à l'eau distillée pendant 24h (control négatif) avaient une longueur moyenne de (1.28 ± 0.34) et ont montrées une morphologie normale (**Fig. 30**) .

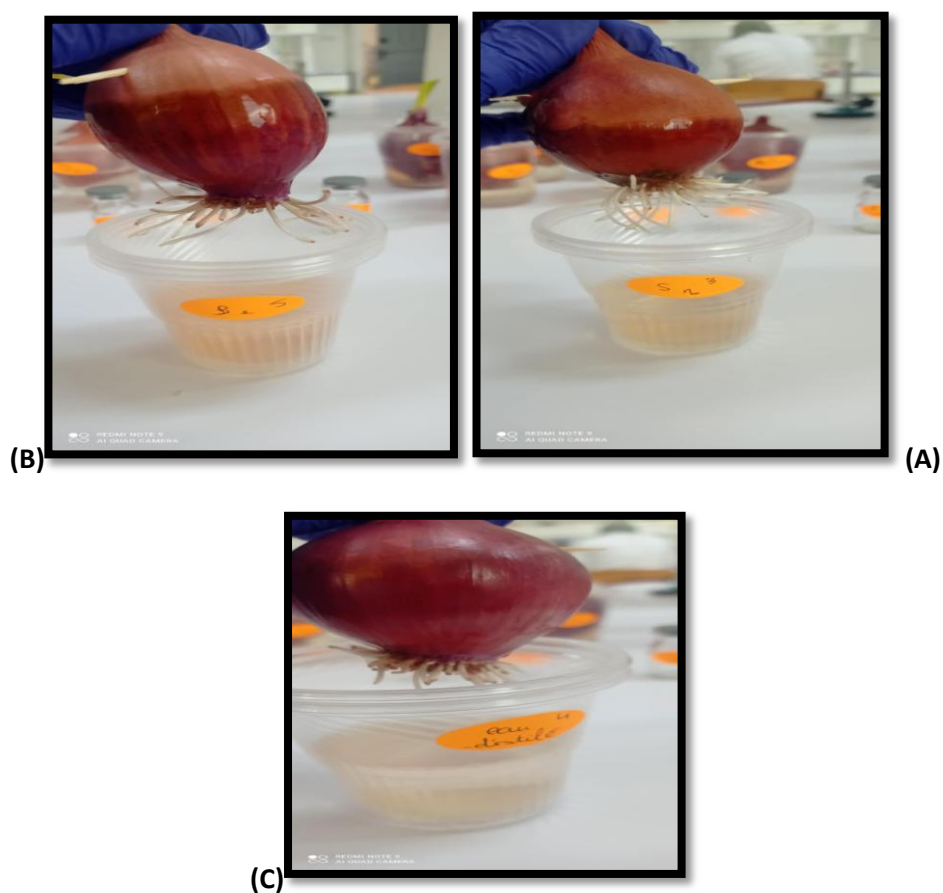
Pour les racines exposées a l'eau de source traitée par le chlore, les résultats de la longueur des racines montrent qu'il y a une augmentation par rapport au contrôle négatif pour le site 1 (Sellaoua Anouna) (2.08 ± 0.53) et le site 2 (Ain ben amman) (1.64 ± 0.83) (**Tab.VI**)

Les résultats montrent une augmentation de la croissance des racines dans les deux sources par rapport aux celles qui sont exposées au contrôle négatif, ces résultats sont justifiés par la faible concentration du chlore (0.1M), donc cette concentration n'a pas affecté les propriétés chimiques de l'eau .Cependant, avec le temps, la réaction de chlore avec les matières organiques conduit à la formation des sous produit, appelés trihalométhanes (THM) et acides haloacétiques (AHA) (**Yildiz et al.,2009**) . Les résultats obtenus sont en accord avec ceux cités par **Abda et al., 2015**.

Tableau VI : Les résultats de la longueur des racines d'oignons.

Traitement	La longueur $\pm$ SD
contrôle négatif	1.28 $\pm$ 0.34
MMS	1,1 $\pm$ 0,22
S1	2.08 $\pm$ 0.53
S2	1.64 $\pm$ 0.83

S1: Site Sellaoua Anouna, **S2:** Ain ben Amman, **P** : prélèvement, **MMS** : contrôle positif (méthyle méthamesulfonate), **SD** : écart type.

**Figure 30** : Racines d'oignons du contrôle négatif (C) et des échantillons testés (A) et (B).

. (Photo personnelle, 2025)

2.2. Indice mitotique :

Les teneurs de la cytotoxicité d'un composé a testé peut être déterminées sur la base de l'augmentation ou la diminution de L'IM, qui peut être utilisé en tant que paramètre de la

cytotoxicité dans les études de surveillance biologique de l'environnement (**Fernandes et al., 2007**).

Les effets des échantillons d'eau sur l'IM dans les racines d'oignons après 24h sont présentés dans le tableau VII. Le control négatif (19.48 ± 5.08) moins que l'IM pour le site 1 de Sellaoua Anouna (23.31 ± 3.97), tandis que les cellules exposées à MMS (6.81 ± 0.89) avaient la plus faible valeur au cours de cette étude. IL y avait une augmentation de l'IM de site 1, mais pour le site 2 Ain ben aman la valeur obtenue est proche à celle obtenue pour le control négatif.

Le test a été effectué a mois de mars afin d'évaluer l'influence des changements des caractéristiques chimiques de l'eau sur la génotoxicité. Le tableau VII montre des augmentations de la division cellulaire présentes dans les racines de la plante d'oignons dans les échantillons d'eau.

Les échantillons d'eau de source site 1(Sellaoua Anouna) ont induit une modification du pourcentage des phases mitotique le contrôle négatif étaient (60.81 ± 11.15) pour la prophase, (4.05 ± 1.46) pour la métaphase, (5.76 ± 2.03) pour anaphase, (29.97 ± 8.44) pour télophase. Une réduction du pourcentage de celle en prophase à été observée pendant la période d'étude dans le site 1, cette diminution confirme les résultats qui ont révélés la formation de plusieurs THM génotoxiques dérivés de la désinfection par le chlore, ces résultats concordent avec ceux obtenu par Monarca et al. (2002,2003). Ces THM étaient généralement présents à des concentrations plus élevés et, étaient susceptibles d'affecter le cycle cellulaire normal. Ceci pourrait empêche un certain nombre de cellules de pénétrer dans la prophase et bloquer le cycle de la mitose pendant l'interphase (Rijstenbil et Poortvli, 1992 ; Yildiz et al., 2009), ou pourrait augmenter la durée de leur séjour au G2 et au prophase (**Borboa et De la Torre, 1996**). (Fig. 31)

Tableau VII : Effet des échantillons testés sur l'IM et les phases mitotiques.

Traitement	N.C.C	IM± SD	Phases mitotiques (%) ±SD			
			Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase
S1	5759	23.31 ± 3.97	52.05 ± 11.34	3.74 ± 0.82	5.68 ± 1.85	38.51 ± 9.65
S2	6207	19.08 ± 5.52	65.47 ± 5.57	4.82 ± 1.77	7.27 ± 1.25	22.40 ± 5.61
Contrôle négatif	5600	19.48 ± 5.08	60.18 ± 11.15	4.05 ± 1.46	5.76 ± 2.03	29.97 ± 8.44
MMS	5194	6.81 ± 0.89	$57,6 \pm 5,65$	$13,84 \pm 3,8$	$8,63 \pm 3,56$	$19,9 \pm 4,85$

NCC: nombre de cellules comptées, **SD:** écart type, **S1 :** source de Sellaoua Anouna, **S2 :** source de Ain ben Amman

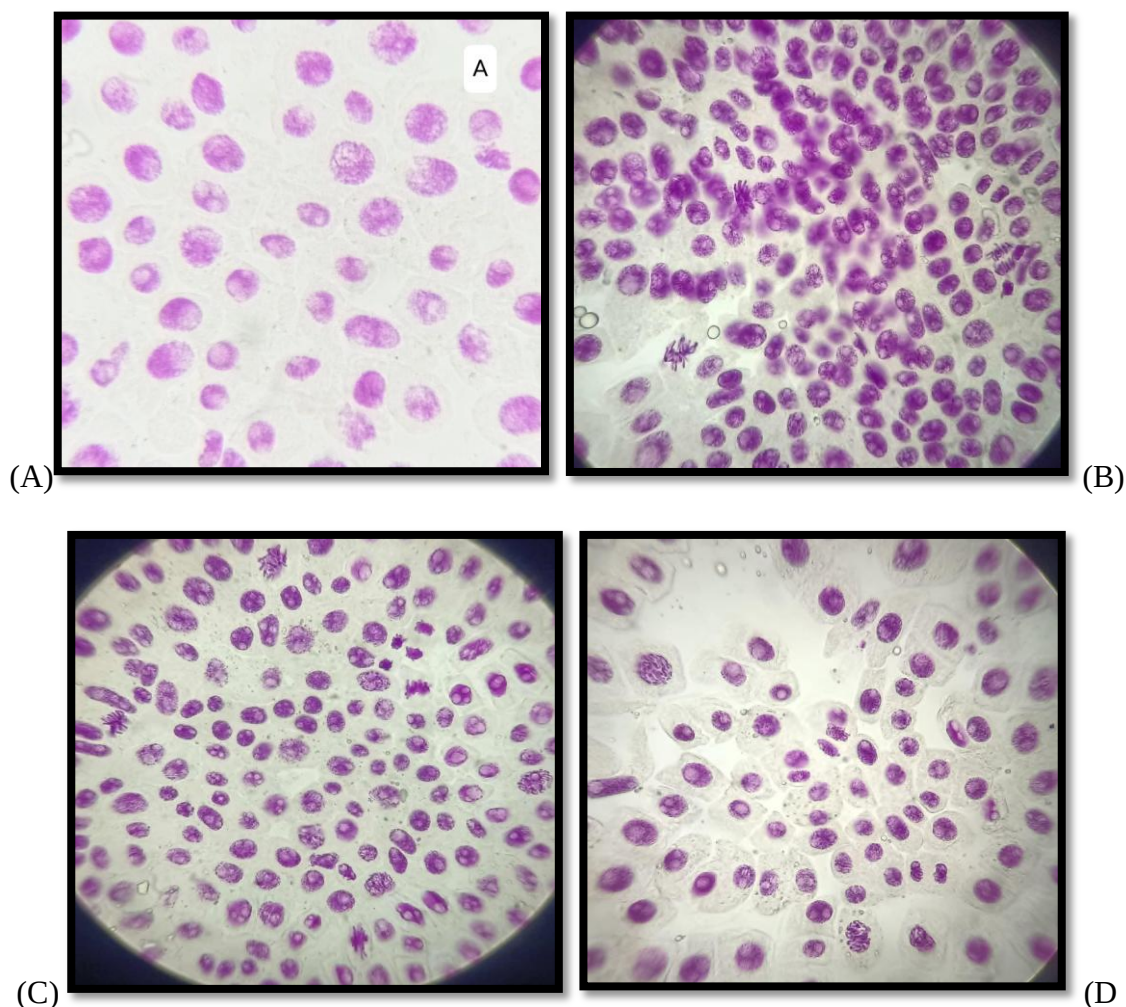


Figure 31 : Les phases mitotiques des racines d'oignons. . (Photo personnelle, 2025)

(A) Prophase, (B) métaphase, (C) anaphase, (D) télophase.

2.3. Aberrations chromosomiques :

Durant notre étude, le potentiel génotoxique des eaux de sources a été évalué par l'apparition des AC dans les racines d'oignons .Ces anomalies sont caractérisées par des changements dans la structure des chromosomes ou dans le nombre total des chromosomes, Cette modification peut se produire à la fois spontanément ou à la suite d'une exposition à des agents chimiques ou physiques (**Leme et Marin-Morales, 2009**).

Les résultats obtenus ont montré que tous les échantillons testés ont provoqués des AC dans les racines traitées et ceci pendant les deux sites (**Tab.VIII**). Les échantillons de MMS ont présenté le pourcentage le plus élevé d'anomalies chromosomiques, avec une valeur moyenne de 7.38 ± 0.61 %. En revanche, lors du deuxième échantillon, c'est le site 2 qui a affiché le pourcentage le plus élevé, avec une valeur moyenne de $6.49 \pm 1,68$ %.

En comparaison, le pourcentage le plus faible d'anomalies chromosomiques a été observé pour le contrôle négatif, avec une valeur moyenne de $2.70 \pm 0,67 \%$.

Pendant notre étude, nous avons observé que la condensation des chromosomes était l'anomalie la plus fréquente. En plus de cela, nous avons également noté la présence d'autres aberrations telles que la PAT, les chromosomes vagabonds et les ponts chromosomiques mais avec faibles pourcentages. (**Fig. 32**)

L'aberration de condensation des chromosomes est considérée comme un effet physiologique des protéines des chromosomes sous l'effet des THM (Khallef et al., 2013) A la suite de la réticulation de chromoprotéines, les THM peuvent provoquer une séparation incomplète des chromosomes filles (**kong et Ma, 1999 ;Tkalec et al .,2009 ; Silva et al., 2011**).

Tableau VIII : Pourcentage des AC détectées dans les racines d'oignons.

Les échantillons	NCC	V%	C%	PAT%	PC%	AT%±SD
Contrôle négatif	751	0.23	0.64	1.65	0.20	2.70 ± 0.67
MMS	586	0.70	0.84	4.21	1.63	$7,38 \pm 0,61$
S1	619	0.45	2.57	1.25	0.80	5.07 ± 0.92
S2	616	0.44	4.00	1.63	0.42	6.49 ± 1.68

NCC: nombre de cellules comptées, **SD:** écart type, **PAT:** Perturbation Anaphase-Télophase, **V:** Vagabond, **C:** Condensation des chromosomes, **PC:** Pont chromosomique, **AT:** Anomalies Totales

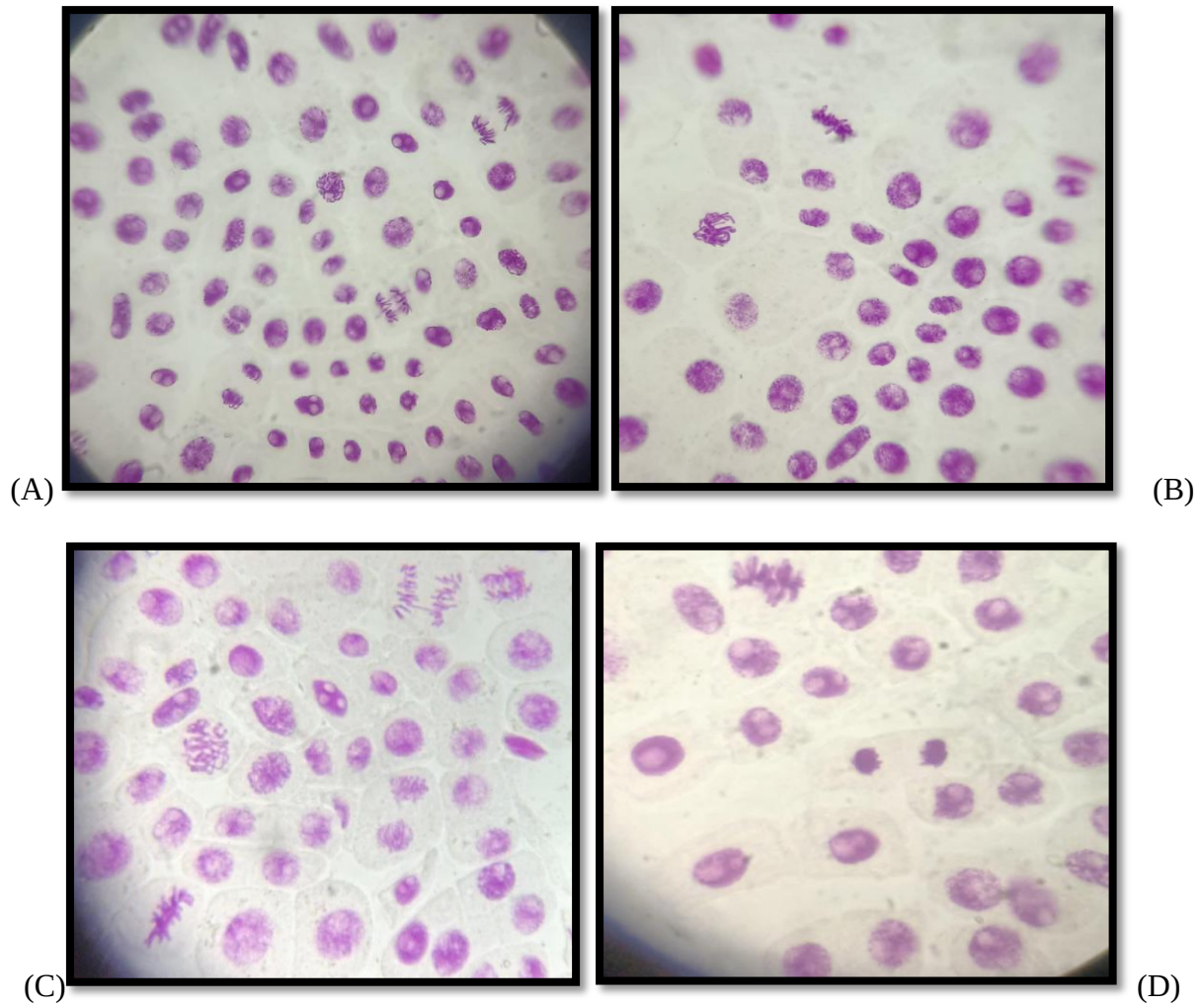


Figure 32 : Aberrations chromosomiques détectées dans les racines. (Photo personnelle, 2025)

(A) : PAT, (B) : chromosome vagabond, (C) : ponts chromosomiques, (D) : condensation des chromosomes.



Conclusion

L'eau de source est une ressource naturelle précieuse, reconnue pour sa pureté microbiologique et sa stabilité d'origine. toutefois, pour garantir sa sécurité sanitaire, notamment lors de son conditionnement et de sa distribution, un traitement léger comme la chloration peut être exceptionnellement autorisé. Ce traitement vise à éliminer les agents pathogènes tout en préservant les caractéristique essentielles de l'eau. Il doit rester strictement cadré afin de ne pas compromettre la nature originelle de l'eau de source. Ainsi, la protection de la ressource en amont et le respect des normes de qualité permettent d'assurer une eau sûre, saine et conforme à la réglementation en vigueur.

Ce travail est basé sur l'évaluation de la qualité des eaux des sources traitées par le chlore dans les deux sites suivants Sellaoua Anouna et Ain ben amman, en utilisant les analyses bactériologiques et le test des aberrations chromosomiques dans les racines d'oignon.

Les analyses microbiologiques effectuées sur les prélèvements ont révélé une absence totale des germes de contamination fécale et pathogène dans les échantillons de source de Sellaoua Anouna à l'exception de la source d'Ain ben amman qui sont souillées par les germes (entérocoques faceium).

Les résultats de l'étude génotoxique ont montré que tous les échantillons testés n'exercent pas un effet cytotoxique et génotoxique sur les racines d'oignon mais avec une différence dans l'intensité des réponses. Les eaux source présente une augmentation marquée dans l'élongation racinaire et quelque diminuation de l'IM ainsi que l'apparition d'un pourcentage considéré d'anomalies chromosomiques (condensation des chromosomes, PAT, les chromosomes vagabonds et pont chromosomique).

Cette étude démontre que l'injection de chlore dans les eaux de sources réagit chimiquement avec des matières organiques naturelles présentes dans l'eau de source pour former des sous-produits désinfection, comme les trihalométhanes THM, qui peuvent être nocifs à long terme s'ils sont en concentration élevées.

À la lumière de cette étude, il est évident qu'un seul test ne suffit pas à révéler pleinement les effets génotoxiques des substances, et donc à évaluer de manière exhaustive la qualité des traitements effectués au niveau des eaux de sources. Il serait donc pertinent de compléter cette recherche par d'autres études utilisant des méthodes plus sophistiquées et précises pour obtenir une compréhension plus approfondie de la situation.



Références bibliographiques

- **Abda A. 2015.** Traitement des eaux de surfaces et les risques génotoxiques des sous produits de chloration.
- **Borboa, L., & De la Torre, C. (1996).** The genotoxicity of Zn (II) and Cd (II) in *Allium cepa* root meristematic cells. *New Phytologist*, 134(3), 481-486.
- **Bourdon J.L et Marchal N. (1981).** Technique bactériologique. DOIN.335p.
- **Bourbigot, M. M., Dodin, A., & Lheritier, R. (1984).** La flore bactérienne dans un réseau de distribution. *Water Research*, 18 (5) 585-591.
- **Cachot J., Dégrement C. (2009).** La génotoxicité : quel risque pour les espèces aquatiques ? 36p.
- **Carbonnelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France. 251 p.
- **Collins A.R. (2004).** The Comet Assay for DNA Damage and Repair: Principles, Applications, and Limitations. *MB* 26, 249–261.
- **Cotelle S. (1999).** Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Thèse de doctorat, Université de Metz, 257p.
- **Darolles C. (2010).** Discrimination des effets chimiotoxiques et radiotoxiques de l'uranium: définition de marqueurs biologiques pour l'évaluation des risques professionnels dans l'industrie du nucléaire. Thèse de doctorat, Université de la méditerranée, Aix-Marseille Facultés de médecine et de pharmacie, Spécialité: environnement et santé, 459p.
- **De Constantin. S., Pascal, O., Block, J. C., & Dollard, M. A. (1986).** La flore bactérienne dans les réseaux de distribution: comparaison de deux études. *Water supply*, 4 199-215.
- **D.P.A.T (2008).** Direction De La Planification Et De l'Aménagement Du Territoire. Rapport Interne, Monographie De la Wilaya De Guelma. 36 p.
- **Farch S. 2017 :** Incidence des eaux embouteillées sur la dissolution de l'hydroxyapatite dentaire. Influence de différents paramètres. Thèse de doctorat. Université Djilali Liabes. Sidi bel abbés.
- **Fasla B. (2009).** Evaluation du potentiel antimitotique et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimique .Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université d'Oran Es-Sénia.172p.
- **Fernandes, T. C. C., Mazzeo, D. E. C., & Marin-Morales, M. A. (2007).** Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(3), 252-259.

- **Fiskesjö, G. (1988).** The Allium test-an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*, 197(2), 243-260.
- **Fiskesjo G. (1985).** The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102, 99-112.
- **Foltete A.-S. (2010).** Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de doctorat. Université Paul Verlaine – Metz, 246p.
- **Grant W. F. (1994).** The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutaiotn Research*, 310 : 175-185.
- **Guillaume. L, (2016).** Baromètre 2016 de l'eau de l'hygiène & de l'assainissement, 02 mars 2016 ; Eau source de maladies ; Agir pour l'accès à l'eau potable, c'est être au cœur du principal défi de santé de notre temps. *Solidarités international*, p (21-23).
- **JORA .2011**
- **Khallef, M., Liman, R., Konuk, M., Hakki, I. H., Benouareth, D. E., Tabet, M., & Abda, A. (2013).** Genotoxicity of drinking water disinfection by-products (bromoform and chloroform) by using both Allium anaphase-telophase and comet tests. *Cytotechnology* doi: 10616-013-9675-y.
- **Kong, M. S., & Ma, T. H. (1999).** Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 426, 221-228.
- **Lahondère J C.1987.** La série ultra tellienne d'Algérie Nord Orientale et formations environnementales dans leur cadre structural. Thèse Doc. D'Etat. Univ. Paul Sabatier. Toulouse.238 p.
- **Le Chevallier, M. W., Babcock, T. M., & Lee, R. G. (1987).** Examination and characterization of distribution system biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 53 (12) 27 14-2724.
- **Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009).** Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*, 682(1), 71-81.
- **Liman R., Akyl D., Eren Y. and Konuk M. (2010).** Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and *Allium* test. *Chemosphere*, 80, 1056–1061.
- **Lise trembley, 1995**
- **Moche H. (2015).** Utilisation du carbure de tungstène-cobalt (WC-Co) comme témoin positif génotoxique nano particulaire et étude de la génotoxicité de candidats nano vecteurs de médicaments, 221p.

- **Monarca, S., Richardson, S. D., Feretti, D., Grottolo, M., Thruston, A. D., Zani, C., Navazio, G., Ragazzo, P., Zerbini, I., & Alberti, A. (2002).** Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(2), 309-318.
- **Monarca, S., Rizzoni, M., Gustavino, B., Zani, C., Alberti, A., Feretti, D., & Zerbini, I. (2003).** Genotoxicity of Surface Water Treated With Different Disinfectants Using In Situ Plant Tests. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 41(5), 353-359.
- **OMS., 2008 :** Directives de Qualité pour l'Eau de Boisson. 2eme Edition, Volume 2, critères.
- **(Organisation Mondiale de la Santé., 2022).** Eau potable
- **Ortega E.M.I. (2004).** Genotoxicity tests: Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the worker's medical survey. *Arch Public Health* 62, 71–81.
- **Rijstenbil, J. W., & Poortvliet, T. C. W. (1992).** Copper and zinc in estuarine water: chemical speciation in relation to bioavailability to the marine planktonic diatom *Ditylum brightwellii*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11(11), 1615-1625.
- **Rodier, J. & al. (2009).** L'analyse de l'eau 9ème Edition.
- **Rouaiguia M., Cheriet M., (2010).** Qualité microbiologique de l'eau d'Oued Messida. Mémoire de Master. Université 8 mai 1945 Guelma. 120p.
- **Saxena, P. N., Chauhan, L.K. S., & Gupta, S. K. (2005).** Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology*, 216(2-3), 244-252.
- **Silva, D. S. B. S., Garcia, A. C. F. S., Mata, S. S., Oliveira, B., Estevam, C. S., Scher, R., & Pantaleao, S. M. (2011).** Genotoxicity and cytotoxicity of *Erythrina velutina* Willd. Fabaceae, on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 2/(1):92-97.
- **Tabet M. (2015).** Etude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d'épuration. Thèse de doctorat. Université 08 mai 1945-Guelma, 161p.
- **Tabet M. (2023).** Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de sources dans la région de Guelma.
- **Tarantini A. (2010).** Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges, Life Sciences, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 175p.

Références Bibliographiques

- **Vaubourdolle, M. (2007).** Toxicologie sciences mathématiques physique et chimiques. 3^{me} édition, paris: 1023.
- **Vinette, Y. (2001).** Evolution spatio-temporelle et modélisation des trihalométhanes zqx dans des réseaux de distribution d'eau potable de la région de Québec. Université Laval. PIL.
- **Yıldız M., Hakkı C. I., Konuk M., Fatih F. A. and Terzi H. (2009).** Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere*, 75, 934–938

Sites web

(01): http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa_1174_typho_parathy.htm

(02): <https://microbiologie-clinique.com/catalase-test.html>

(03): <https://www.onlinebiologynotes.com/microdase-modified-oxidase-test-principle-procedure-and-results-interpretation/>

(04): <https://www.flickr.com/photos/medmicro/albums/72157604543602142/>

(05): https://www.researchgate.net/figure/Oxidase-test-showing-oxidase-positive-left-side-and-oxidase-negative-right-side_fig1_310314206



Annexes

Matériel :

- Des flacons.
- Pipette pasteur.
- Des Boites de pétri.
- Cellulose nitrate filtre.
- Autoclave.
- Four pasteur.
- La rompe de filtration.
- Les tubes à essai.
- Agitateur chauffant.
- Pince.
- Bécher.
- Eprouvette.
- Balance.
- Microscope optique.
- Lame et lamelle.
- Papier whatman.
- Gobelets.
- Cure dents.
- Burette d'acide.
- Entonnoir.
- Pissette.
- Compte-goutte.
- Papier filtre.

La préparation de milieu Chapman :

Préparation de 500 ml

- ✓ Poudre Chapman54g
- ✓ Eau distillé500ml
- ✓ Agar agar1.5g

- ✓ Nous pesons 54g poudre de Chapman et on le met dans un bécher après on ajoute 500ml d'eau distillée, nous mettons la solution dans agitateur chauffante pendant 20 min.
- ✓ Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène, chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète et nous l'avons dans un flacon après stériliser à l'autoclave à 121 C pendant 20 min.
- ✓ Gélose CCA.
- ✓ Gélose lactosée au TTC et au tergitol 7.
- ✓ Gélose TGEA.
- ✓ Gélose slantez et bartely.
- ✓ Gélose BEA : pour la conformation.

La solution HCl (1N)

Préparation de 100 ml

HCl.....8.17 ml

Eau distillé.....91,83 ml

Préparation :

- ✓ Dans une éprouvette, il convient d'ajouter d'abord un peu d'eau distillée pour prévenir la chaleur exothermique produite par l'HCl, puis d'incorporer 8,17 ml d'HCl. Compléter ensuite avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 100 ml afin d'obtenir une solution d'HCl à 1N.

Solution d'acide acétique glacial 45%

Préparation de 100 ml

Acide acétique glacial 45 ml

Eau distillé 55 ml

Préparation :

- ✓ Ajouter avec précaution 45 ml d'acide acétique glacial à 55 ml d'eau distillée et bien mélanger.

Solution Ethanol 70%

Préparation de 100 ml

Éthanol absolu.....	70 ml
Eau distillée	30 ml

Préparation :

- ✓ Préparer 70 ml d'éthanol 100 %. Compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre 100 ml

Solution de Carnoy

Préparation de 40 ml

Acide acétique glacial (1V)	10ml
Éthanol absolu (3V)	30 ml

Préparation :

- ✓ Le Carnoy est composé d'éthanol et d'acide acétique glacial (3V /1V) c'est-à-dire volume d'éthanol 3fois d'acide.

Colorant Feulgen

Préparation de 50ml

Fushine basique.....	0,25g
Eau distillée	50 ml
HCl.....	5 ml
K ₂ S ₂ O ₅	0,5g

Préparation :

- ✓ Mélanger 0,25 g de fuchsine basique dans 50 ml d'eau distillée bouillante (100°C). Attendre 10 minutes jusqu'à ce que le mélange atteigne une température de 50°C, puis ajouter 5 ml d'une solution 1N d'HCl et mixer. Ajouter ensuite 0,5 g de métabisulfite de potassium (K₂S₂O₅) et agiter avec un agitateur. Couvrir la solution avec du papier aluminium et la conserver à 4°C pendant une nuit.
- ✓ Filtrer à l'obscurité à l'aide d'un papier filtre, puis conserver dans un flacon sombre.