

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 Mai 1945 de GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS

Département d'écologie et génie de l'environnement



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Microbiologie et Ecologie

Spécialité : Santé, Eau et Environnement

Option : Microbiologie de l'environnement

THÈME

**Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux
superficielles "cas d'Oued Zénati" (Nord-Est Algérien)**

Présenté par :

BOURAS Zeyneb
SEKFALI Soumia

Membres de jury :

Président : Mme.YALLES Amina.	M.A.A	Université de Guelma.
Examineur : Mr. GUETTAF Mohamed.	M.A.A	Université de Guelma.
Encadreur : Mr.MERZOUG Abdelghani.	M.A.A	Université de Guelma.
Co-encadreur : Mr.TOUATI Ahmed Samer.	Doctorant	Université de Guelma.

Juin 2013

Remerciements

Au terme de ce travail nos sincères remerciements vont en premier lieu à Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté et le courage pour concrétiser ce modeste travail.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à madame Yalles A et monsieur Guettaf M de nous fait l'honneur de participer à ce jury et de juger notre travail. Nous remercions vivement Monsieur Merzoug A pour le grand honneur qu'il nous a fait, en acceptant de nous encadrer avec ses orientations, ses encouragements, sa disponibilité constante et ses conseils pertinents qui ont été un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre co-encadreur Monsieur Touati Ahmed Samer pour son encadrement durant ces mois de thèse; merci pour ses conseils avisés et pour sa participation dans tous les sorties.

Nous n'oublierons jamais de remercier tous qui nous ont aidés à effectuer la totalité de nos analyses : Mr Kebeiche H, Mr Abd Rahman, Mlle Djahida, Hasna et Meriem de la Direction de la santé de la wilaya de Guelma, Mr Boudjahem F et Mme Dali Rym de la STEP de Guelma et tous les membres de la STEP de Hammam Debagh: Mr Salah, Mr Mehdi, Mr Abdelghani, Mlle Mebarka, Mme Amel et Radia

Nous ne saurions finir sans remercier tous les enseignants (es) de la faculté de SNV-STU de Biologie de l'université de Guelma qui ont contribué à notre formation et les responsables des laboratoires du département, qui dans les meilleures conditions ont mis à notre disposition tous le matériel nécessaire «Réactifs et instruments» pour réaliser les analyses bactériologiques et physico-chimiques.

Et enfin à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire surtout Mr Sadaoui Reda.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I : Eau et santé publique

1. Définition de l'eau.....	3
2. Les sources de l'eau.....	3
2.1. Les eaux de pluies.....	3
2.2. Les eaux souterraines.....	3
2.3. Les eaux de surface.....	3
2.3.1 Les eaux stagnantes (ou milieux lenticques).....	4
2.3.2. Les eaux courantes (ou milieux lotiques).....	4
3. La pollution de l'eau.....	4
3.1. Phénomènes naturels.....	5
3.1. Activités humaines.....	5
4. Les maladies à transmission hydrique.....	6
4.1. Les infections bactériennes.....	7
4.2. Les infections virales.....	9
4.3. Les infections parasitaires.....	10

Chapitre II : Description de site

1. Zone d'étude.....	12
2. Description du site d'étude.....	14

3. La végétation du cours d'eau d'Oued Zénati.....	16
3.1. Surfaces bien protégées.....	17
3.2. Surfaces incomplètement protégées.....	17
3.3. Surfaces mal protégées ou nues.....	17
4. Climatologie.....	19
4.1. Température.....	19
4.2. Précipitation.....	20
4.3. La relation température – précipitation	21
4.3.1. Diagramme Ombrothermique	21
4.3.2. Synthèse climatique.....	22

Chapitre III: Matériel et méthodes

1. Echantillonnage.....	24
1.1. Présentation des points de prélèvement	24
1.2. Méthodes de prélèvement.....	26
1.3. Transport et conservation des échantillons.....	26
2. Méthodes analytiques utilisés.....	26
2.1. Méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques.....	26
2.1.1. Mesure <i>in situ</i>	26
2.1.2. Mesure au laboratoire.....	27
a) Méthodes spectrométriques.....	27
b) Méthodes volumétriques.....	28
2.2. Méthodes de détermination des caractéristiques bactériologiques.....	30
2.2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux.....	30
2.2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale....	32
a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants.....	32

b. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	35
2.2.3. Recherche et dénombrement des spores d'anaérobies sulfitoréducteurs.....	37
2.2.4. Recherche des germes pathogènes.....	39
a) Recherche des entérobactéries pathogènes.....	39
b) Recherche des vibrions cholériques.....	41
c) Recherche des <i>Staphylocoques</i> pathogènes.....	43
2.2.5. Tests d'identification.....	44
2.2.5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux.....	44
2.2.5.2. Examen microscopique.....	44
2.2.5.3. Identification biochimique.....	44
a) Réalisation d'une galerie biochimique classique.....	44
b) Inoculation de la galerie API 20E.....	48

Chapitre VI : Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physico-chimique.....	50
1.1. La température.....	51
1.2. Le potentiel d'hydrogène (pH).....	51
1.3. L'oxygène dissous (OD).....	52
1.4. La conductivité électrique, la Salinité et la T.D.S.....	52
1.5. La turbidité.....	54
1.6. Nitrates (NO ₃ ⁻).....	55
1.7. Nitrites (NO ₂ ⁻).....	55
1.8. Ammonium (NH ₄ ⁺).....	56
1.10. Orthophosphate (PO ₄ ⁴⁻).....	57
1.11. Le calcium (Ca ²⁺).....	57
1.12. Le magnésium (Mg ²⁺).....	58
1.13. La dureté de l'eau.....	58
1.14. Matières en suspension (MES).....	59

1.15. Le résidu sec.....	59
1.16. La Demande Biochimique en Oxygène DBO5.....	60
1.17. Demande chimique en oxygène DCO.....	60
2. Résultats de l'analyse bactériologique.....	61
2.1. Dénombrement des germes totaux.....	61
2.2. Dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.....	62
a) Variation spatio-temporelle des coliformes totaux.....	62
b) Variation spatio-temporelle des coliformes fécaux	63
c) Variation spatio-temporelle des streptocoques fécaux	64
2.3. Dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réductrices.....	64
2.4. Résultats de recherche des bactéries pathogènes.....	65
2.4.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram.....	65
2.4.2. Résultats de l'identification biochimique.....	68
2.4.2.1. Identification biochimique des entérobactéries.....	68
2.4.2.2. Identification biochimique des vibron cholérique.....	70
2.4.2.3. Identification biochimique des <i>staphylocoques</i> pathogènes.....	70

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

- ADE** : Algérienne d'eau.
- ADH** : Arginine dihydrolase.
- APC** : Assemblée Populaire Communale.
- ASR** : Anaérobie sulfito-réducteur.
- API** : Analyse Prophylctic Index.
- BCPL** : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol.
- °C** : Degré Celsius.
- CIT** : Citrate de Simmons.
- DBO₅** : Demande biologique de l'oxygène.
- DCO** : Demande chimique de l'oxygène.
- DHOZ** : Direction de l'hydraulique d'Oued zénati.
- D.S.A** : Direction des Services agricole.
- E. coli** : Escherichia coli.
- EPA** : Eau Peptonée Alcalin.
- INO** : Inositol.
- ISO** : Organisation internationale de standardisation.
- g** : gramme.
- GEL** : Gélatinase.
- GLU** : Glucose.
- GNAB** : Gélose nutritive alcaline bilié.
- h** : Heure.
- LDC** : La lysine décarboxylase.
- mg /l** : Milligramme par litre.
- MAN** : Mannitol.
- MEL** : Mélibiose.
- MES** : Matière en suspension.
- MTH** : Maladies à transmission hydrique.
- NIT** : Nitrate.
- NPP** : Nombre le plus probable.
- NTU** : Nephelometric turbidité unit.
- OD** : Oxygène dissous.
- ODC** : Ornithine décarboxylase.
- ONPG**: Ortho-Nitrophényle-B-D-Galactosidase.
- OZ** : Oued Zénati.

pH : Potentiel d'hydrogène.

Psu: Particul salinity unit.

RHA : Rhamnose.

RM : Rouge de méthyle.

RN: Route nationale.

S/C: Simple concentration.

SAC: Saccharose.

SFB: Sérum Foetal Bovin.

SOR: Sorbitol.

SS: Salmonella-Shegella.

T°: Température.

TDA: Tryptophane désaminase.

TDS : Taux des sels dissous ou Les solides totaux dissous.

TH : Dureté totale.

TGEA: Glucose tryptone extrait agar.

TSI : Tri-Sugar-Iron Agar.

µS: micro Siemens.

UFC : Unité formant colonie.

U-I : Urée –Indole.

VF: Viande Foie.

VP : Voges Proskauer.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Situation géographique de la ville d'Oued Zénati	13
02	Réseaux hydrographique du sous-bassin de l'Oued Zénati	15
03	Situation géographique de l'Oued Zénati	15
04	Couverture végétale du sous-bassin-versant d'Oued Zénati	18
05	Evolution des températures moyennes mensuelles de la ville de Guelma	20
06	Evolution des précipitations moyennes mensuelles de la ville de Guelma	21
07	Diagramme Ombrothermique de la région de Guelma	22
08	Situation de la région de Guelma dans le climagramme d'Emberger	23
09	Situation géographique des sites de prélèvement	25
10	Localisation des sites de prélèvement	25
11	Recherche et dénombrement des germes totaux	31
12	Recherche et dénombrement des coliformes totaux et Thermotolérants	34
13	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	36
14	Recherche et dénombrement des anaérobie sulfito-réducteurs	14
15	Recherche des entérobactéries pathogènes	40
16	Recherche des vibrions cholériques	42
17	Recherche des staphylocoques pathogènes	43
18	Evolution spatio-temporelle de la température dans l'eau d'Oued Zénati	51
19	Evolution spatio-temporelle du pH dans l'eau d'Oued Zénati	51
20	Evolution spatio-temporelle de l'oxygène dissous dans l'eau d'Oued Zénati	52
21	Evolution spatio-temporelle de la conductivité dans l'eau d'Oued Zénati	53
22	Evolution spatio-temporelle du TDS dans l'eau d'Oued Zénati	53
23	Evolution spatio-temporelle de la salinité dans l'eau d'Oued Zénati	54
24	Evolution spatio-temporelle de la turbidité dans l'eau d'Oued Zénati	54
25	Evolution spatio-temporelle des nitrates dans l'eau d'Oued Zénati	55
26	Evolution spatio-temporelle des nitrites dans l'eau d'Oued Zénati	56
27	Evolution spatio-temporelle de l'ammonium dans l'eau d'Oued Zénati	56

28	Evolution spatio-temporelle des orthophosphates dans l'eau d'Oued Zénati	57
29	Evolution spatio-temporelle du calcium dans l'eau d'Oued Zénati	57
30	Evolution spatio-temporelle du magnésium dans l'eau d'Oued Zénati	58
31	Evolution spatio-temporelle de la dureté de l'eau d'Oued Zénati	58
32	Evolution spatio-temporelle de matière en suspension dans l'eau d'Oued Zénati	59
33	Evolution spatio-temporelle du résidu sec dans l'eau d'Oued Zénati	59
34	Evolution spatio-temporelle de la DBO ₅ dans l'eau d'Oued Zénati	60
35	Evolution spatio-temporelle de la DCO dans l'eau d'Oued Zénati	60
36	Evolution spatio-temporelle des germes totaux dans l'eau d'Oued Zénati	62
37	Evolution spatio-temporelle des coliformes totaux dans l'eau d'Oued Zénati	63
38	Evolution spatio-temporelle des coliformes fécaux dans l'eau d'Oued Zénati	63
39	Evolution spatio-temporelle des streptocoques fécaux dans l'eau d'Oued Zénati	64
40	Evolution spatio-temporelle des ASR dans l'eau d'Oued Zénati	65
41	Aspect macroscopique des colonies sur géloses Hektoen, SS et GNAB	67
42	Aspect macroscopique des colonies sur gélose Chapman	67
43	Aspect microscopique des bactéries	67
44	Profil biochimique de <i>Morganella morgani</i>	69
45	Profil biochimique de <i>Salmonella spp</i>	69
46	Profil biochimique de <i>Providencia rettgeri</i>	69
47	Profil biochimique de <i>Serratia ficaria</i>	69
48	Profil biochimique de <i>protéus mirabilis</i>	70
49	Profil biochimique de <i>protéus vulgaris</i>	70
50	Profil biochimique de <i>Vibrio vulnificus</i>	70
51	Profil biochimique de <i>Staphylococcus sciriuri</i>	71
52	Profil biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i>	71

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Les principales maladies d'origine hydrique	7
02	Evolution de la population de la ville d'Oued-Zénati	14
03	Caractéristiques physiques et morphologiques d'Oued Zénati	16
04	Evolution des Températures moyennes mensuelles de la ville de Guelma	19
05	Précipitations saisonnières de la ville de Guelma	20
06	Présentation des points de prélèvement	24
07	Résultats des analyses physico-chimiques	50
08	Dénombrement des germes totaux dans l'eau d'Oued Zénati	61
09	Dénombrement des coliformes totaux dans les eaux de l'Oued Zénati	62
10	Dénombrement des coliformes fécaux dans les eaux d'Oued Zénati	63
11	Dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux de l'Oued Zénati	64
12	Dénombrement des ASR dans les eaux de l'Oued Zénati	65
13	Résultat de l'isolement dans les eaux de l'Oued Zénati.	66
14	Les espèces identifiées par la galerie biochimique	68
15	Résultat de l'identification des entérobactéries par l'API 20E	68
16	Résultat de l'identification des <i>staphylocoques</i> pathogènes	71

La Terre est généralement appelée la "Planète Bleue" car l'eau représente trois quarts de sa surface, constituant la principal composant de toute matière vivante est sans conteste le bien le plus abondant sur planète, environ 1% est disponible pour l'homme, [6].

Cette eau est une épée à double tranche, elle donne la vie mais elle donne la mort car la plupart des rejets issue des activités humaines sont évacués dans les proches cours d'eaux qui avec un manque de station d'épuration aboutit à une pollution qui prend des dimensions de plus en plus importantes.

Cette pollution est également engendrée par des fortes teneurs en éléments nutritifs majeurs (NO_2 , NO_3 , NH_4 , PO_4), en substances toxiques avec les risques liées à leurs effets (eutrophisation) et à une croissance des espèces bactériennes polluantes et pathogènes qui entraînent des perturbations environnementales favorisant ainsi l'apparition de différentes maladies relatives à l'eau qui sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé (**Aboukacem, 2007**).

En Algérie, le risque de contamination des eaux de surface représente un problème environnemental majeur qui remonte très loins dans le temps, où la qualité de ces eaux est également soumise à une forte pression exercée par l'accroissement de la population et par l'activité industrielle (**Remini, 2005**).

A cet effet, notre recherche est basée sur l'étude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux du cours d'eau "Oued Zénati" qui se situe dans la région de Guelma et ceci dans le but d'apprécier l'évolution de sa qualité, son impact sur l'environnement et sur la santé publique et si cet écosystème peut être utilisé comme une eau d'irrigation.

Afin de réaliser cette étude et atteindre nos objectifs nous sommes intéressés à :

- Déterminer certains paramètres physico-chimiques à savoir : la température, pH, DCO, nitrate, etc...
- Rechercher et dénombrer des germes indicateurs de contamination fécale qui regroupent : les coliformes totaux, les coliformes, les streptocoques fécaux et les Anaérobies Sulfito-Réductrices.
- Rechercher des bactéries pathogènes telles que les entérobactéries pathogènes, Vibrien cholériques et *Staphylocoques* pathogènes.

Généralement notre démarche se déroule en quatre chapitres :

- Le premier et le second purement théoriques, rassemblent d'une part des généralités sur l'eau et sa pollution et d'autre part une description de notre site d'étude;
- Le troisième chapitre est consacré aux méthodes et aux techniques (bactériologique et physicochimique), employées pour la réalisation de ce travail;
- Le dernier chapitre, illustre tous résultats obtenus au cours de notre étude sous forme de tableaux et des graphes, avec une discussion et une conclusion finale.

1. Définition de l'eau

L'eau est un composé chimique simple, mais avec des propriétés complexes à cause de sa polarisation. Sa formule chimique est H_2O , c'est-à-dire que chaque molécule d'eau se compose d'un atome d'oxygène entre deux atomes d'hydrogène, disposés en V très ouvert [11].

2. Sources de l'eau

2.1. Les eaux de pluies

Les eaux de pluie peuvent être collectées à partir de toiture des maisons dans des récipients ou dans des impluviums. A l'origine, ces eaux sont pures sur le plan microbiologique, mais sur le plan chimique, il leur manque souvent certains éléments comme le sodium, le magnésium, le fer et l'iode (Coulibaly, 2005).

2.2. Les eaux souterraines

Les eaux souterraines sont les eaux qui ne sont ni ré évaporées, ni retournées à la mer par ruissellement, elles proviennent de l'infiltration des eaux de pluie dans le sol (Boeglin, 2006), celles-ci s'insinuent par gravité dans les pores, les microfissures et fissures des roches, humidifiant des couches de plus en plus profondes, jusqu'à rencontrer une couche imperméable, elles s'accumulent, et saturent le sous-sol d'humidité, formant ainsi un réservoir d'eau souterraine appelé: aquifère (Chibani, 2009).

2.3. Les eaux de surface

Les eaux de surface proviennent surtout des pluies et sont constituées d'un mélange d'eaux de ruissellement et d'eaux souterraines [4].

Elles sont principalement alimentées par l'eau de précipitation, et riches en gaz dissous, en organismes vivants, en matière en suspension et très sensibles à la pollution minérales et organique du type nitrate, et pesticide d'origine agricole (Cardot, 1999).

Classiquement pour les eaux de surface, nous distinguerons deux grandes catégories de milieux aquatiques :

2.3.1. Les eaux stagnantes (ou milieux lenticques)

Caractérisés par un courant de vitesse nulle, ou quasi nulle correspondent essentiellement aux lacs, étang, mares et flaques. Elles se différencient par la superficie, mais surtout par la permanence de l'eau, la profondeur, l'ensoleillement et le réchauffement du fond (**Brigitte et al., 2003**).

Les eaux stagnantes apparaissent quand il y a une entrave à l'écoulement avec un obstacle naturel ou artificiel [7].

2.3.2. Les eaux courantes (ou milieux lotiques)

Les eaux courantes sont les eaux qui subissent constamment un écoulement, de l'amont vers l'aval [7].

Elles regroupent toutes les eaux en mouvement : sources, torrents, ruisseaux, rivières, fleuves et ce sont des milieux ouverts présentant des échanges constants avec les systèmes qu'ils traversent (**Brigitte et al., 2003**).

3. pollution de l'eau

Les fleuves et les rivières contiennent des millions de tonnes de polluants formés des rejets chimiques de nos industries, de notre agriculture et de nos activités quotidiennes [1].

En effet, Une eau est dite polluée lorsque ses qualités sont dégradées, perturbant la vie aquatique et rendant son utilisation dangereuse pour l'homme et les animaux. Cette dégradation résulte de la présence de polluants en quantité suffisante pour qu'ils puissent être nocifs [5].

On peut aussi la présenter par une modification physico-chimique ou biologique d'un écosystème par l'introduction d'un élément extérieur qui créait des nuisances voir un danger pour le monde du vivant [3].

En effet, il existe deux principales causes de pollution de l'eau: les phénomènes naturels et les activités humaines.

3.1. Phénomènes naturels

Certains phénomènes naturels peuvent être à l'origine de la pollution des eaux et sont identifiés en relation avec les éruptions volcaniques, des épanchements sous-marins, d'hydrocarbures (**Fauri et al., 1998 in Habila 2008**), ainsi que l'érosion naturels du sol qui met en suspension dans l'eau des particules de terre et de sable ce qui diminue la limpidité de l'eau (**Galaf et Ghannam, 2003**).

3.2. Activités humaines

Notée suite à la forte activité urbaine, industrielle et agricole :

➤ Activités urbaines

Cette pollution est causé par les polluants urbains représentés par : les déchets domestiques, les eaux d'égouts et de tous les produits dont se débarrassent les habitants d'une agglomération (**Bouchaala, 2010**).

Les rejets directs des eaux usées domestiques dans le milieu naturel perturbent l'équilibre aquatique en transformant les rivières en égouts à ciel ouvert.

Dans l'égout on trouve également les excréments, les restes d'aliments, les déversements d'abattoirs, les lessives, les détergents, les insecticides, les hydrocarbures, ...etc (**Galaf et Ghannam, 2003**), Sans oublier la pollution produite par l'établissement sanitaire qui est de l'ordre de 29m³/jour d'eau usée, contenant des produits chimiques (médicaments, ...) et des matières organiques et inorganiques, qui sont directement rejetés dans les oueds; elles sont chargées en microorganismes généralement dangereux pour la santé (**Bouchaala, 2010**).

Ainsi, la charge polluante en MES, en matières oxydables, en azote et phosphore dans les eaux domestiques est très variée en fonction du type de l'usage (eaux de vannes, eaux de cuisines.etc...) (**Aounallah, 2007**).

➤ **Activités industrielles**

Les établissements industriels ont des productions très diverses (aliments, vêtements, pâte à papier, produits chimiques, etc.) et rejettent plusieurs types d'eaux usées, dont le volume et le degré de contamination sont très variables [10].

En effet, les eaux vont subir une première étape d'épuration sur le site de la production, et le reste étant ensuite dirigés vers les systèmes de traitement municipaux, mais malheureusement pour de nombreuses unités de production, les eaux usées retournent dans un cours d'eau sans retraitement préalable ou insuffisamment assainies (**Chibani, 2009**).

➤ **Activités agricole**

L'agriculture, l'élevage et l'aviculture sont des activités responsables du rejet de nombreux polluants organiques et inorganiques dans les eaux de surfaces et souterraines (**Galaf et Ghannam, 2003**). Cette pollution est due aux épandages des engrais (phosphates, nitrates) et des pesticides (herbicides, insecticides et fongicides) sur les terres agricoles (**Chibani, 2009**). Ces polluants atteignent les cours d'eau par le ruissellement de surface ou par l'écoulement souterrain [10].

Le caractère rurale de la population est derrière le nombre élevé des éleveurs, ce qui provoque une forte utilisation des engrais et des produits phytosanitaires et un taux élevé des excréments d'animaux, augmentant ainsi le taux de la pollution dans les ressources hydriques que ce soit souterraines ou superficielles (**Bouchaala, 2010**).

4. Les maladies à transmission hydrique

Les maladies hydriques sont n'importe quelles maladies causées par la consommation d'eau contaminée par des fèces animales ou humaines, qui contiennent des microorganismes pathogènes [8].

Elles recouvrent un large éventail de manifestations pathologiques d'origine bactérienne, parasitaire ou virale (Tableau 1) dont l'élément commun est le mode de contamination: l'eau (**Kreisel, 1991**).

Tableau 01: Les principales maladies d'origine hydrique (**Rejsek, 2002**).

Origines	Maladies	Agents
Bactérienne	Fièvre typhoïde	<i>Salmonella typhi</i>
	Fièvre paratyphoïde	<i>Salmonella paratyphi A</i> <i>Salmonella paratyphi B</i> <i>Salmonella paratyphi C</i>
	Gastro-entérites	<i>E.coli</i> <i>Campylobacter</i> <i>Yersinia</i>
	Choléra	<i>Vibrio cholerae</i>
Virale	Hépatite A et E	<i>Virus de l'hépatite A et E</i>
	Poliomyélite	<i>Virus poliomyélitique</i>
	Gastro-entérite virale	<i>Virus Norwalk</i> <i>Rotavirus</i> <i>Astrovirus</i> <i>Calciavirus</i>
Parasitaire	Dysentérie amibienne	<i>Entamoeba histolytica</i>
	Giardiase	<i>Giardia lamblia</i>

4.1. Les infections bactériennes

➤ La fièvre typhoïde

La typhoïde (du grec tymphos, torpeur) ou typhus abdominal est une maladie infectieuse décrite en 1818 par Pierre Bretonneau, causée par la bactérie *Salmonella typhi* (**Berche et al., 1988**),

La typhoïde est généralement transmise par l'eau ou les aliments. Les personnes infectées excrètent des bactéries vivantes dans leurs selles et leur urine. Si elles ne se lavent pas convenablement les mains, le bacille de la typhoïde peut être transmis aux aliments ou à l'eau et de là infecter une autre personne. Il peut aussi être transmis directement de personne à personne par des doigts contaminés (**Aouissi, 2010**).

Quarante-huit heures après la contamination, le malade rencontre 2 phases :

- ✓ La phase des diarrhées qui dure 8-10 à 15 jours où la bactérie se multiplie au niveau des ganglions mésentériques.
- ✓ Et la phase de la septicémie dont le malade entre dans un état de fièvre qui atteint les 40°C s'accompagne de : langue blanchâtre, saignement du nez, des douleurs abdominales et splénomégalie.

La typhoïde est traitée avec des antibiotiques, ce qui amène généralement une disparition des symptômes en moins d'une semaine. Très peu de gens meurent de la typhoïde s'ils sont traités adéquatement (**Berche et al., 1988**).

➤ **Le choléra**

Le choléra est une toxi-infection entérique grave causée par une entérotoxine de *Vibrio cholerae*, découverte par Pacini en 1854 et redécouverte par Koch en 1883, principalement répandue, de nos jours, dans les pays en voie de développement. La maladie sévit de façon endémique dans les zones tropicales humides d'Afrique et d'Asie et de façon épidémique dans les zones sèches (sahel), l'homme se contamine par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (**Leclerc, 1996**).

Après incubation de quelques heures à quelques jours, le choléra se manifeste par des violentes diarrhées et des vomissements. Les selles fécaloïdes au début deviennent rapidement aqueuses, blanchâtres, d'aspect d'eau de riz dans un ordre de 10 à 20 litres/jour. Et la maladie évolue alors vers une déshydratation qui se caractérise par : une élasticité de la peau, une tension artérielle et des yeux enfoncés (**Berche, 1999**).

Le traitement consiste essentiellement à une réhydratation, qui maintient le patient en vie le temps qu'il guérisse spontanément en quelques jours. La réhydratation est possible si elle est associée à des antibiotiques; On utilise généralement des tétracyclines ou parfois le cotrimoxazole ou une fluoroquinolone) (**Fournier, 1996**).

En l'absence de traitement, la mort survient en 1 à 3 jours dans 25 à 50% des cas par collapsus cardiovasculaire. La mortalité est plus importante chez les enfants, les personnes âgées ainsi que chez les sujets carencés (**Fournier, 1996**).

4.2. Les infections virales

➤ l'hépatite A

L'hépatite A est l'hépatite virale la plus répandue au monde avec des zones de haute endémicité en Afrique et dans l'Asie du Sud-Est. Elle est bénigne dans près de 99 % des cas. Causé par le virus VHA (**Berche et al., 1988**).

La transmission se fait par voie entérale (eaux et aliments contaminés par des matières fécales, coquillages, crudités). L'hépatite A survient habituellement au cours de l'enfance ou chez l'adulte jeune (50 % des cas avant l'âge de 30 ans) et elle peut se transmettre par voie intrafamiliale (**Kreisel, 1991**).

L'hépatite A est le plus souvent asymptomatique (90 % des cas) et est pratiquement toujours bénigne. La forme symptomatique se caractérise par 2 phases :

- ✓ Une phase pré-ictérique qui dure une semaine dont les symptômes sont : vomissement, nausée, et fatigue.
- ✓ Et une phase ictérique qui dure de 2 à 3 semaines et se caractérise par : un jaunisse de la peau, les urines tourne en brune doré et les selles sont décolorées (**Aouissi, 2010**).

Ainsi, dans certains cas la maladie évolue vers des atteintes rhinale, détérioration de la fonction hépatique ce qui conduit à un état de coma.

Il n'y a pas de traitement efficace mais il existe un vaccin s'appelle "Havrix 1440 " qui est déconseillé pour les enfants inférieurs à 1 an (**Berche et al., 1988**).

➤ La poliomyélite

C'est une maladie strictement humaine considéré comme un paralysé infantile, causé par un virus appelé poliovirus qui infecte la substance grise de la moelle épinière (polio= couleur grise et myélite= moelle). Elle se transmet par voie oro-fécale (voie digestive), ou par voie oro-orale (la salive et la sécrétion respiratoires) (**Aouissi, 2010**).

Ainsi, la maladie se caractérise par deux formes :

- ✓ **Poliomyélite non paralytique** qui dure 10 à 14 jours avec des signes respiratoires (toux, fièvre, cas de vomissements) et digestives (douleurs abdominales, nausée, vomissement, constipation et rarement des diarrhées) cette forme se disparaît en quelques jours.

- ✓ **poliomyélite paralytique** où le virus détruit les nerfs qui contrôlent les muscles et donc paralysé.

Pas de traitement à cette maladie mais il existe 2 types de vaccins orale et injectable (**Roland ; 2010**).

4.3. Les infections parasitaires

➤ L'Amibiase

L'amibiase occupe, derrière le paludisme, le troisième rang des maladies parasitaires les plus meurtrières au monde. Causé par *Entamoeba histolytica* (**Roland ; 2010**).

Les organismes sont habituellement ingérés de kyste à l'état dormant dans des aliments ou de l'eau contaminés par des selles ou des eaux d'égouts. Bientôt, il se produit une exkystation et les amibes se transforment en trophozoïtes fragiles qui se multiplient rapidement (**Laveran, 2000**).

La transmission et la prolifération de l'amibe en cause, favorisée par les mauvaises conditions sanitaires des pays les plus touchés (**Berche et al., 1988**).

Les trophozoïtes amibiens peuvent parfois s'implanter dans la muqueuse de l'intestin. En la traversant, ils provoquent des diarrhées douloureuses et sanglantes, traduites sous le terme de dysenterie amibienne, qui constituent les premiers symptômes de l'amibiase proprement dite.

La destruction de la paroi intestinale peut par la suite entraîner la formation d'ulcères. Lorsque le parasite parvient à gagner la circulation sanguine, il peut infecter le foie, et donner naissance à des abcès qui, non traités, conduisent à une issue fatale. La maladie peut en outre évoluer vers d'autres complications locales, comme des abcès au niveau des poumons et, beaucoup plus rarement, au cerveau (**Laveran, 2000**).

Les amibiases aiguës sont traitées par la prise d'antiparasitaires à large spectre et d'amoebicides tissulaires (Tinidazole ou Métronidazole). D'amoebicides de contact agissant localement dans la lumière du tube digestif (Tilbroquinol, Tiliquinol) dans le cas d'une amibiase chronique asymptomatique.

Les diarrhées amibiennes se résolvent spontanément en quelques semaines si la réponse immunitaire de l'hôte est normale (**Roland ; 2010**).

➤ **Giardiase**

La lambliaose (ou giardiase ou encore giardiose) est une maladie parasitaire fréquente due à *Giardia intestinalis*, le plus souvent bénigne lorsqu'elle est bien traitée

La contamination se fait par ingestion de kystes amenés à la bouche par les mains sales, des aliments ou de l'eau souillés.

Giardiase est étroitement liée au péril fécal, bien que plus fréquent dans les pays en voie de développement que dans les pays industrialisés (**Berche et al., 1988**).

Les kystes ingérés se transforment en trophozoïtes dans l'intestin grêle, leur habitat naturel. Cette forme active se nourrit des aliments ingérés par son hôte sans créer de lésion dans la muqueuse intestinale, d'où l'absence de symptômes dans la plupart des cas. (**Kreisel, 1991**).

Quand ils sont présents en grands nombre, toutefois, ils provoquent une diarrhée et gênent l'absorption des lipides et des vitamines liposolubles (**Fournier, 1996**).

1. Zone d'étude

Oued Zenati est une commune d'Algérie située dans la wilaya de Guelma, distante du chef-lieu de la Wilaya de Guelma à 40 Kms sur la RN 20, et de Constantine à 70 Kms. Sa surface était avant 1985 de 484 Km² et actuellement de 143,77 Km². Limitée au Nord par les communes de bordj Sabath et de Ras El Agba, à l'Est par les communes de Sellaoua Announa et de Ain Makhoulf, à l'Ouest par la commune de Ain Régada, et au sud par la commune de Tamlouka (Figure 01); son altitude moyenne est de 640 m [2].

Elle se caractérise par une morphologie de collines et de piedmonts et qui représente près de 72 % de la surface communale. Quant aux plaines et plateaux, ils n'occupent que 20 %, et le reste soit 3 % de la surface totale de la Commune est montagneux [2].

Du point de vue géologique, la ville est caractérisée par des ensembles assez homogènes ou l'érosion est plus active sur l'ensemble argileux-marneux au nord et moins active sur les croûtes calcaires dans la région Sud. L'extension de la mono-culture céréalière est due notamment aux conditions favorables que présente un milieu physique homogène dans son ensemble [2].

La Commune d'Oued Zénati est connue comme étant un grand domaine où la céréaliculture est prédominante. L'agriculture occupe une part très importante soit 88 % des terres. Les meilleures terres sont surtout insérées le long de la Vallée de l'Oued Zénati et principalement vers le sud de la commune sur les plaines d'Ain Trab. Les premières sont composées des vertisols, jouissant d'un profil homogène, d'une bonne cohésion et sont développées sur des terrasses. La faible pente rend le drainage difficile et la grande proportion des éléments fins rend la porosité médiocre, la texture devient donc lourde. Ceci explique le fait que ces terres sont souvent utilisées pour les cultures annuelles comme les céréales et les légumes secs. La jachère représente environ 20 % de la surface agricole totale et atteste la vocation agropastorale de la Commune surtout sur les piedmonts [2].

Les fourrages occupent cependant 10% de la surface totale, l'arboriculture et les cultures maraîchères arrivent en derniers rangs avec 0.006% et 0.002% ce qui atteste que ces cultures restent négligeables [2].

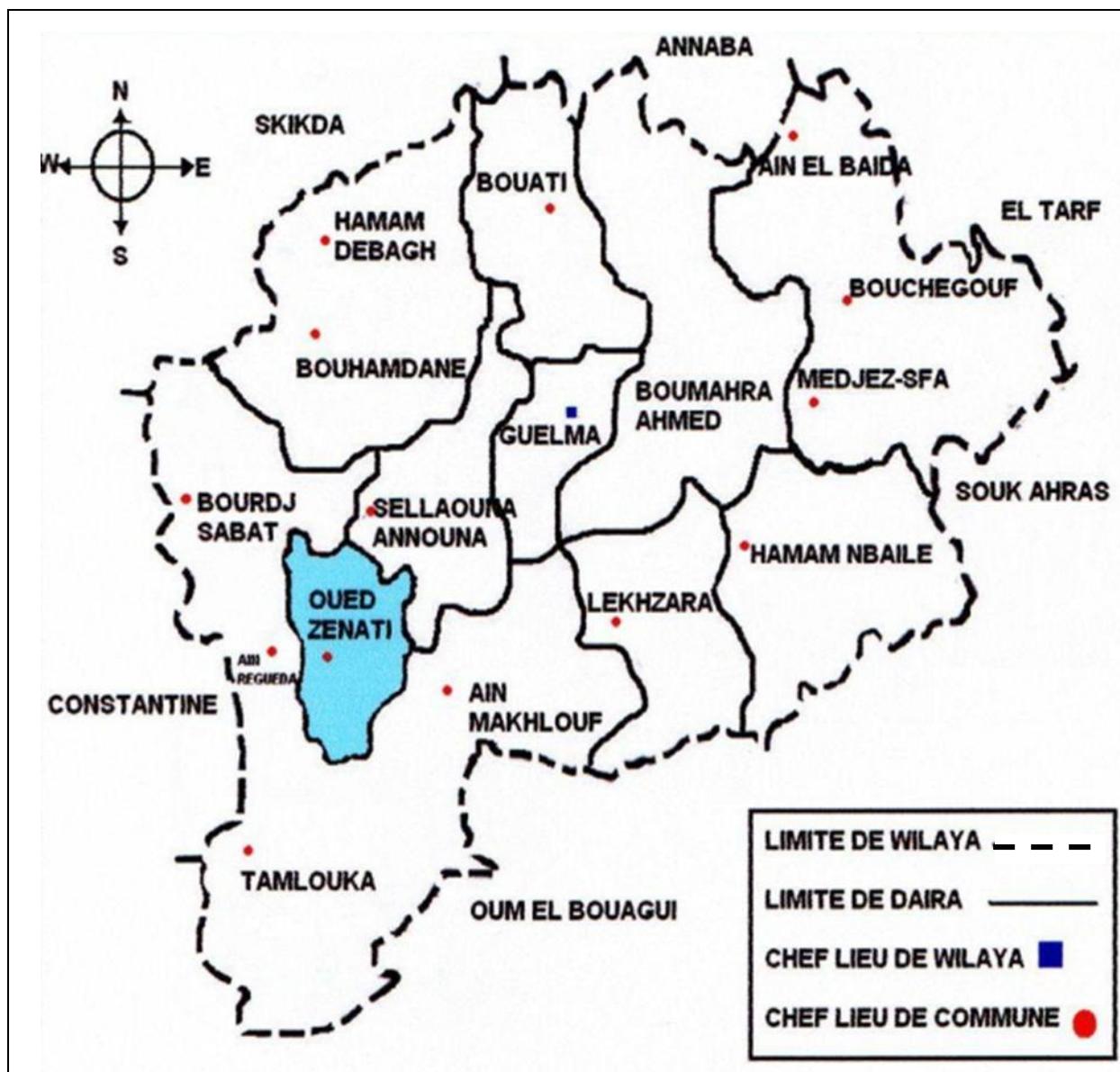


Figure 01 : Situation géographique de la ville d'Oued Zénati

(Source : A.P.C d'Oued Zénati)

➤ Population d'Oued Zénati

La ville d'Oued Zénati a connu une croissance démographique notable ces dernières années (Tableau 02) qui risque de doubler l'effectif en 20 ans [2].

Tableau 02 : Evolution de la population de la ville d'Oued Zénati [2].

Année	Nombre d'habitants
1990	24.595
1995	28.445
2000	31.300
2004	32951
2007	37744
2010	40.000

2. Description du site d'étude

Le cours d'eau "Oued Zénati", représente le plus important oued du réseau hydrographique de la commune qui porte d'ailleurs son nom, il comprend également plusieurs chaâbats de moindre importance et qui se présente comme des affluents de la commune (Figure 02) [4]. Il vient de l'ouest, et traverse de part en part la Commune d'Oued Zénati sur une distance de plus de 2 km ces sources prennent naissance à l'ouest de Ain Regada près de la région d'Ain Abid (**Bouchaala, 2010**).

L'Oued Zenati naît de la confluence de l'oued El M'leh qui prend sa source à Djebel Oum Settas (1326m), et chaâbet Touifsa qui prend sa source à Kef Eddeb (1142m) et la vallée va de Constantine à Guelma (Figure 03), il reçoit sur sa rive gauche les oueds : Bou Skoum, Berneb, Kalech, Chaâbet Errassoul, Snoussi; et sur sa rive droite Chaâbet Guelt et Terba, Oued El Gloub, Chaâbet Mrassel (**Benchaiba, 2006**) (Figure 02). Au delà de la ville d'Oued-Zénati l'oued passe par Bordj Sabbath, où il reçoit l'Oued El-Meridj qui vient des plateaux de Constantine; L'ensemble affluent à l'Oued Bou Hamdane et par conséquent finissent dans Oued Seybouse (Figure 04) (**Niox, 2005**).

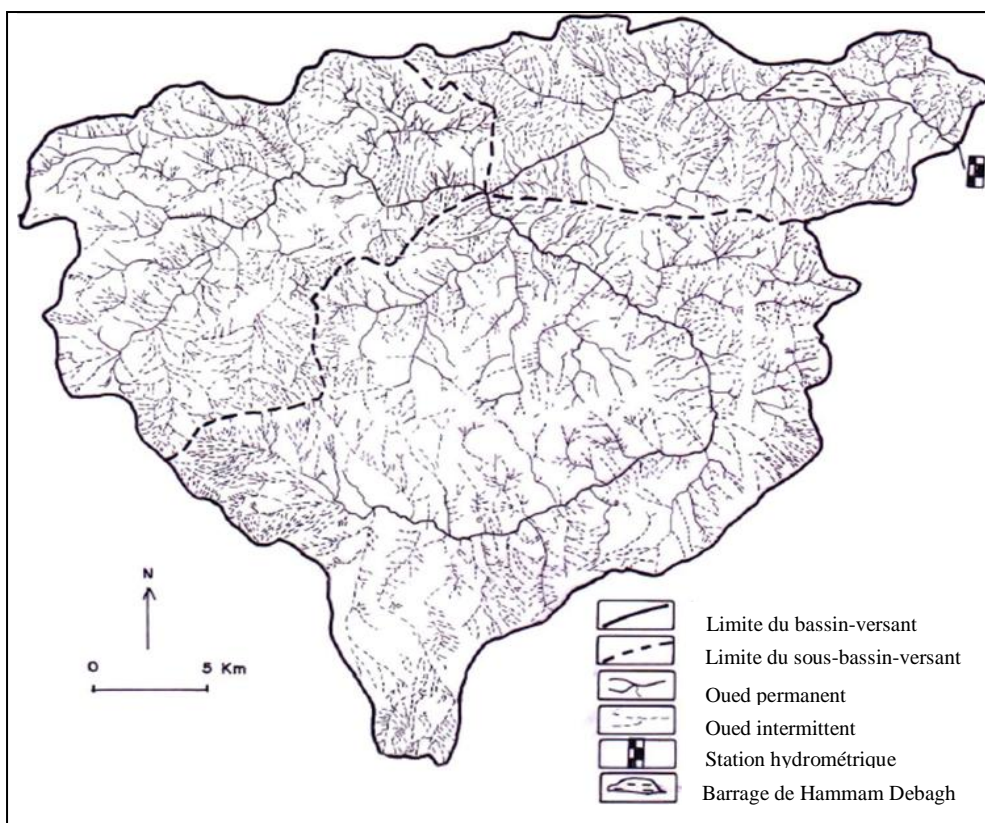


Figure 02 : Réseaux hydrographique du sous-bassin de l’Oued Zénati (source : Extrait de la carte topographique au 1/50.000 assemblage des feuilles. ZighoudYoucef (52), HammamMaskhotine (53), El Aria(74), Oued-zénati (75), El Khroube (97), Ain Regada (98)).



Figure 03 : Situation géographique de l’Oued Zénati (Bouchaala, 2010).

Les caractéristiques physiques et morphologiques (Tableau 03) selon une étude réalisée par la direction de l'hydraulique de la wilaya de Guelma sont comme suit :

Tableau 03 : Caractéristiques physiques et morphologiques d'Oued Zénati (DHOZ, 2008).

Caractéristiques		valeurs
La surface du bassin		592.15 km ²
Longueur de l'oued		41.30 km
Longueur du rectangle équivalent "Lr"		1.36.2 km
Périmètre "P"		110 km
L'indice de pente du bassin versant ; "Ip"		0.12%
Les altitudes	"H max"	1266 m
	"H min"	516 m
	"H moy"	928 m

Le grand problème d'Oued Zénati, est qu'il est un cloaque à ciel ouvert. Sa position le rend le seul déversoir de tous les rejets, de la commune et de l'hôpital; il est aussi une décharge publique ouverte utilisé par les habitants à proximité de son lit. Ses eaux son utilisé pour l'irrigation à grand échelle tout le long de sa vallée. Ainsi il est considéré comme une source de pollution et de maladies à transmission hydrique (bactériennes et parasitaires) et représente donc une plaie qui devrait être soigné (Bouchaala, 2010).

Oued Zénati, a longtemps souffert des crues dévastatrices de l'oued qui la traverse et qui a causé ces dernières années des pertes humaines et des dégâts aux habitations précaires érigées le long de ses berges [9].

3. Végétation du cours d'eau d'Oued Zénati

La végétation est un facteur écologique très important, elle permet d'évaluer la qualité des cours d'eaux, et présente une influence mécanique certaine sur l'écoulement fluvial et biologique de la vie aquatique de ce hydrosystème (Bouchaala, 2010).

En effet, le sous bassin versant d'Oued Zénati comporte trois grandes catégories de couverture végétale : les surfaces bien protégées, les surfaces incomplètement protégées et les surfaces mal protégées.

3.1. Surfaces bien protégées

Ce sont les surfaces qui bénéficient de couverture végétale plus ou moins dense et permanente, et plus spécialement les fortes, ces dernières protègent contre l'érosion et la concentration rapide des eaux (**Benchaïba, 2006**), elles regroupent :

➤ **Le maquis**

Cette unité regroupe tous les terrains occupés par des formations végétales qui ne dépassent pas 3 mètres de haut (Figure 07) (**Benchaïba, 2006**).

➤ **Les reboisements**

Concernent les secteurs où les travaux ont été menés pour la protection des sols contre l'érosion. Les plantations sont constituées de pins d'Alep, qui dans certains secteurs ont très bien réussi et ont donné des forêts en état de futaie (Figure 07) (**Benchaïba, 2006**).

3.2. Surfaces incomplètement protégées

Ils s'agissent généralement des terres de culture destinées, soit pour la céréaliculture qui occupe densément le sol pendant une période de l'année, et de l'arboriculture qui laisse le sol nu en permanence entre les arbres (Figure 07) (**Benchaïba, 2006**).

➤ **La céréaliculture**

Elle s'étend sur les collines de la vallée de l'Oued Zenati, au Sud des collines calcaire d'El Kiffan vers les territoires de la plaine « Tuffeuse » de Sellaoua et Ras El Agba. Sur tous ces terrains les champs de blé sont presque uniformes (Figure 07) (**Bouchaala, 2010**).

➤ **L'arboriculture**

Les terrains occupés en petites surfaces, situées sur les terrasses le long des oueds. Ils couvrent une surface de 96 ha. L'amandier, espèce rustique peu exigeante, et l'arbre fruitier le plus répandu. Certaines plantations sont très réussies. L'introduction de l'arboriculture remonte aux premières années de la révolution agraire (Figure 07) (**Benchaïba, 2006**).

3.3. Surfaces mal protégées ou nues

Ce sont les terrains où le ruissellement et l'érosion hydrique sont largement favorisés, surtout dans les terrains dénudés imperméables et sur les terrains de parcours fortement pâturés. Elles englobent :

➤ Les terrains rocheux

Les terrains rocheux se localisent partout où la roche en place affleure à la surface ou présente un sol très peu profond. Dans ces secteurs, l'érosion différentielle, très active, a dégagé des roches de tailles et de grandeurs variées (Figure 07) (Benchaiiba, 2006).

➤ Les terrains nus

Ils correspondent aux terrains non occupés par une quelconque végétation naturelle. Elles s'étendent sur des surfaces perdues à l'agriculture ou difficiles à mettre en valeur, compte tenu de certaines contraintes topographique et lithologique (Figure 07) (Bouchaala, 2010).

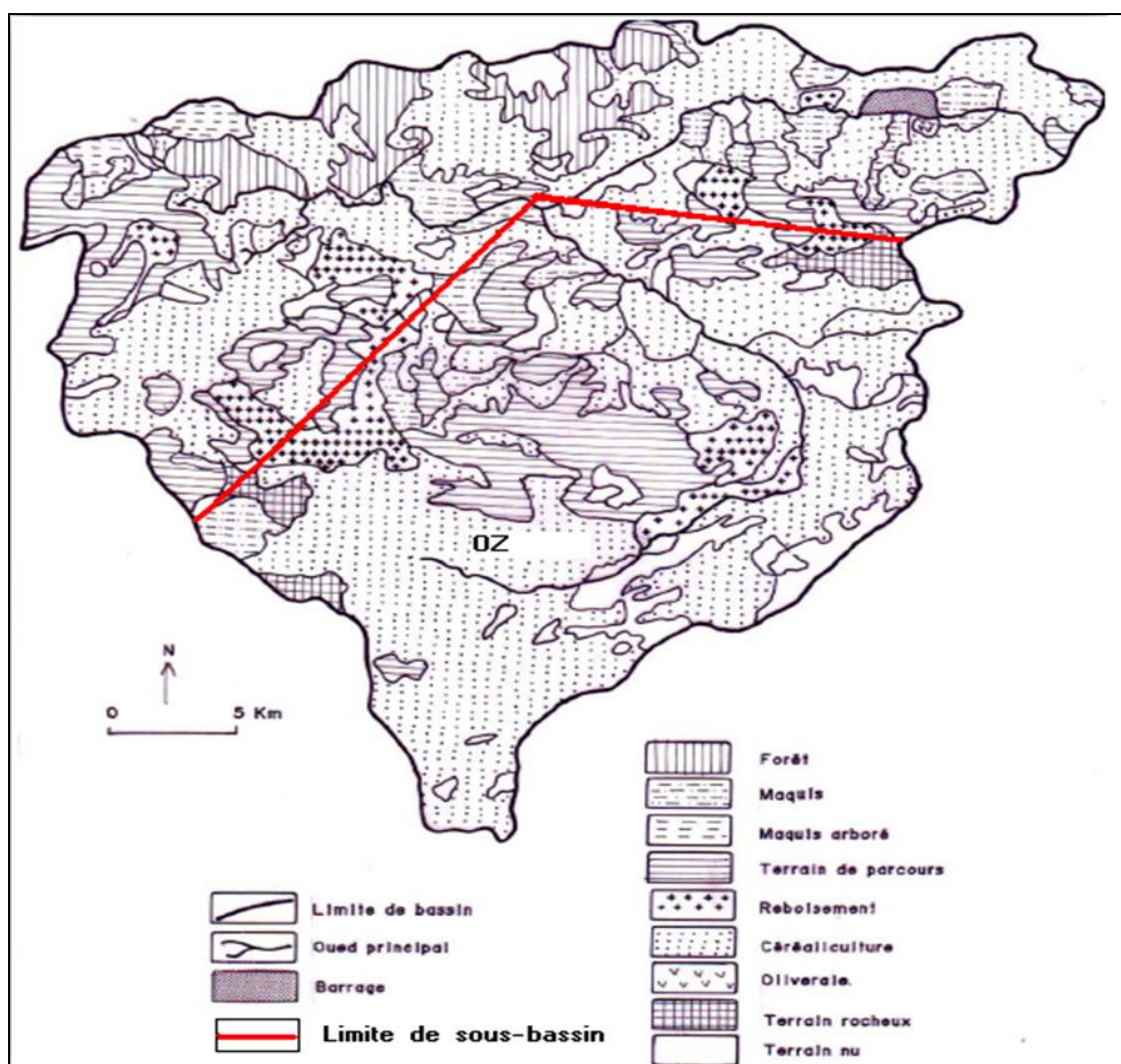


Figure 04 : Couverture végétale du sous-bassin-versant d'Oued Zénati
(Source : D.S.A. de Guelma 2000)

4. Climatologie

Les facteurs climatiques jouent un rôle déterminant dans le régime des cours d'eau, et dans l'alimentation éventuelle des nappes souterraines, notamment la température et les précipitations qui constituent le facteur essentiel intervenant par leurs répartitions annuelles, mensuelles et journalières (Soltner, 1999).

4.1. Température

La température est l'un des facteurs les plus importants du climat. Elle agit sur les répartitions d'eau qui s'opèrent par le phénomène de l'évapotranspiration. Elle dépend de l'obscurité, de l'altitude, de l'exposition, et des formations végétales en place (Emsalem, 1986).

Les données des températures disponibles sont des valeurs moyennes mensuelles mesurées au niveau de la station de Guelma, sur une période de 15 ans. Ces valeurs sont consignées dans le tableau 4, leur répartition est illustrée sur la figure 05.

Tableau 04 : Evolution des Températures moyennes mensuelles de la ville de Guelma de 1994 à 2008 (Aouissi, 2010).

Mois	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Août	Sep	Oct	Nov	Dec
T(°C)	9,43	10,19	12,32	14,8	18,54	23,27	27,06	27,68	24,01	19,84	14,50	10,94

Ainsi, les moyennes mensuelles des températures les plus élevées pour la wilaya de Guelma sont observées pendant la période allant de juin à octobre, variant entre 20 et 27,68°C. Les températures les plus basses sont alors observées pendant la période hivernale (Décembre à mars), soit entre 9 et 12,3°C. Le tracé de leur graphique nous donne une courbe en cloche (Figure 05).

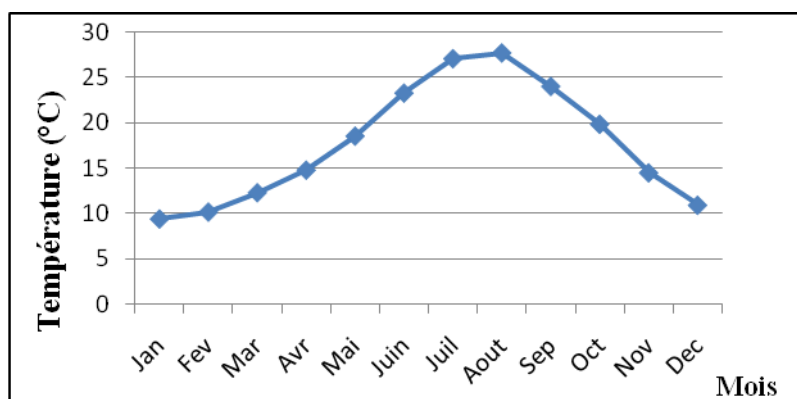


Figure 05: Evolution des températures moyennes mensuelles de la ville de Guelma de 1994 à 2008 (Aouissi, 2010).

4.2. Précipitation

Avec la température, les précipitations représentent les facteurs les plus importants du climat (Faurie, 1999). Le terme de précipitation désigne tout type d'eau qui tombe du ciel, sous forme liquide ou solide. Cela inclut la pluie, la neige, la grêle, etc. Ces divers types de précipitations représentent l'épaisseur de la couche d'eau qui resterait sur une surface horizontale s'il n'y avait ni écoulement, ni évaporation (Dajoz, 2000).

La répartition mensuelle des précipitations au cours de l'année est en relation étroite avec le régime thermique. Les précipitations mensuelles recueillies à la station météorologique de Guelma sont récapitulées dans le Tableau 5, leur répartition est illustrée par la figure 06.

Tableau 05 : Précipitations saisonnières de la ville de Guelma de 1994-2008 (Aouissi, 2010).

Saison	Automne			Hiver			Printemps			Eté		
Mois	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Août
Précipitation (mm)	39,61	37,23	72,46	82,55	81,51	64,58	63,56	66,86	45,3	18,95	3,79	12,97
Moyenne (mm)	49,77			76,21			58,57			11,90		

Ce tableau montre que la saison hivernale est la plus pluvieuse avec une moyenne de 76,21 mm/mois, ce qui produit une recharge de la nappe et une dilution des éléments chimiques. Tandis que l'été est sec avec une faible recharge de 11,90 mm/mois, ce qui produit une évaporation (diminution du niveau d'eau) et une concentration des éléments chimiques. Il en ressort ainsi que décembre est le mois le plus pluvieux et que juillet est le mois le plus sec (Figure 06).

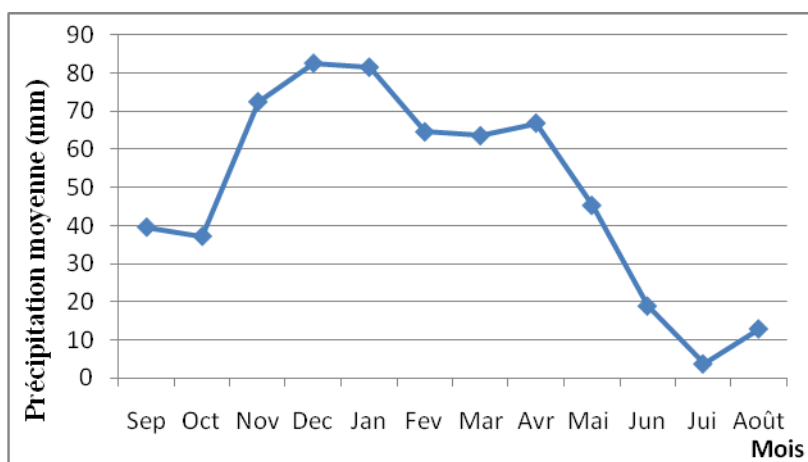


Figure 06 : Evolution des précipitations moyennes mensuelles (Aouissi, 2010).

4.3. Relation température-précipitation

4.3.1. Diagramme Ombrothermique

Selon Bagnouls et Gausson, une période sèche est due au croisements des courbes de température et des précipitations. Cette relation permet d'établir un graphe pluviométrique sur le quel les températures sont portées à une échelle double des précipitations (Figure 07).

D'après ce diagramme établi à partir données des températures et des précipitations de la station de Guelma, on peut distinguer deux périodes :

- La première froide et humide qui s'étale sur 8 mois, du mois d'octobre jusqu'au mois de mai.
- La seconde chaude et sèche qui s'étale sur 4 mois, du mois de juin jusqu'au mois de septembre.

La détermination de cette période est d'une grande importance pour la connaissance de la période déficitaire en eau.

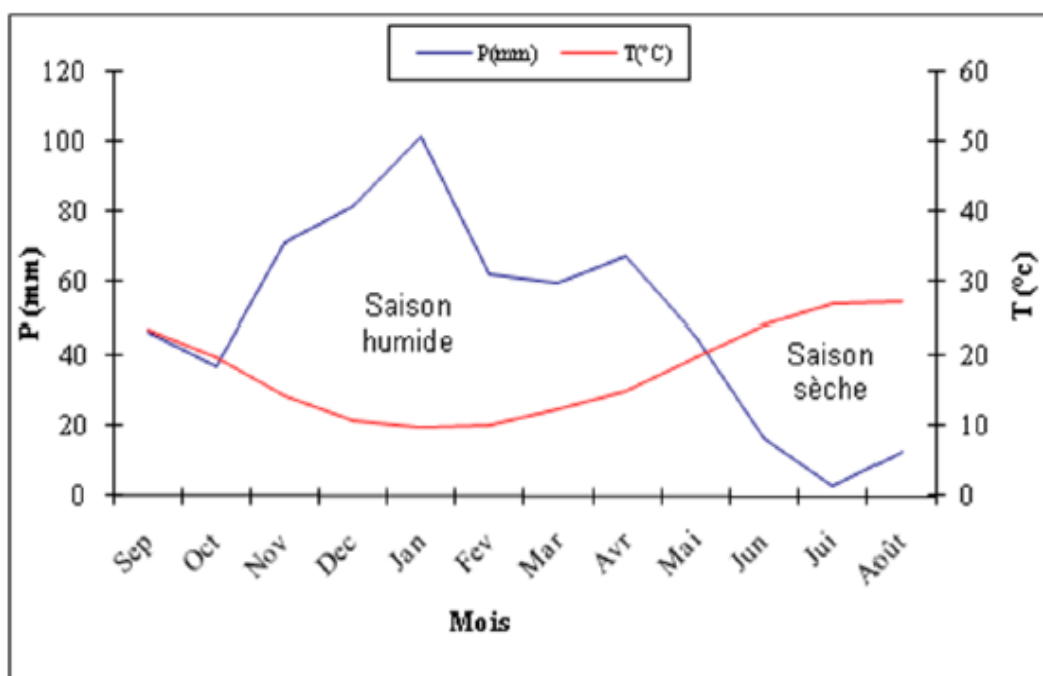


Figure 07:Diagramme Ombrothermique de la région de Guelma de 1994 à 2008(Aouissi, 2010).

4.3.2. Synthèse climatique

Selon Emberger (1963), la région méditerranéenne est subdivisée en cinq étages bioclimatiques. Pour déterminer l'étage bioclimatique de la zone d'étude (Guelma), il faut procéder au calcul du quotient pluviométrique d'Emberger (Q2) (Dajoz, 2000).

$$Q2 = 1000. P / \frac{(M+m).(M-m)}{2}$$

D'où :

M : Température maximale du mois le plus chaud (M = 36,34°C = 309,34 K).

m : Température minimale du mois le plus froid (m = 4,62°C = 277,62 K).

P : Précipitation moyenne annuelle P = 606,1 mm.

Notre région (Guelma) présente un Q2 = 65.10 ce qui la classe dans l'étage bioclimatique à végétation semi-aride à hiver frais (Figure 08).

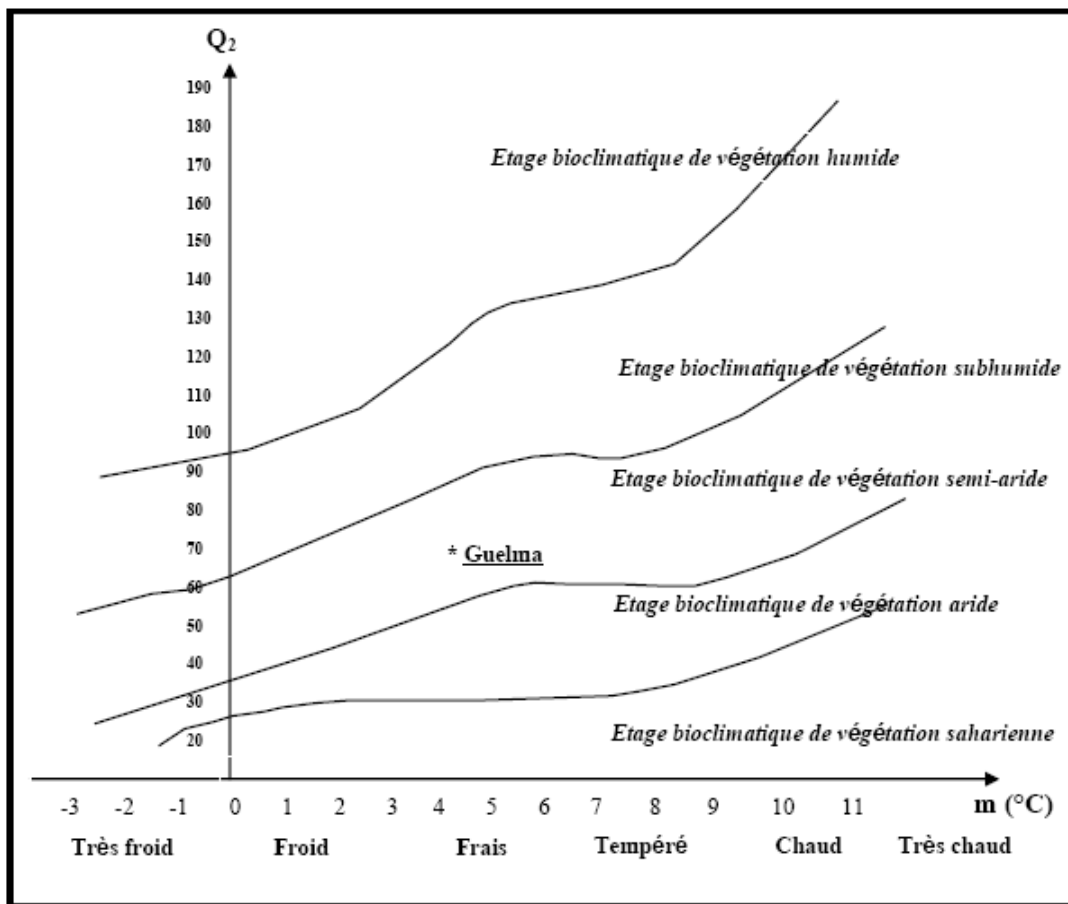


Figure 08 : Situation de la région de Guelma dans le climagramme d’Emberger de 1994 à 2008 (Aouissi, 2010).

Les analyses bactériologiques et physico-chimiques de nos échantillons ont été réalisées en dehors de l'université de Guelma, les analyses physico-chimiques, ont été réalisées dans le laboratoire de chimie de la station de traitement des eaux potables de Hammam Debagh (ADE) et au niveau de l'Office Nationale d'Assainissement (ONA), alors que les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire d'analyses microbiologiques de la Direction De Santé de Guelma (DDS).

L'ensemble des milieux de cultures, réactifs, instruments et appareillages seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations

1. Echantillonnage

1.1. Présentation des points de prélèvement

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau d'Oued Zénati, on a choisi trois sites de prélèvement le long de l'oued (Tableau 06) (Figure 09), dont les échantillons d'eau ont été prélevés durant deux mois (mars et avril 2013). Le premier point est situé à l'entrée de la commune d'Oued Zénati (Figure 10), le deuxième point est choisi au centre de la commune, où se trouve les rejets de l'hôpital et les rejets domestiques (Figure 11) et enfin, le dernier point se trouve à la sortie de la commune (2 km de la ville) (Figure 12)

Tableau 06: Présentation des points de prélèvement.

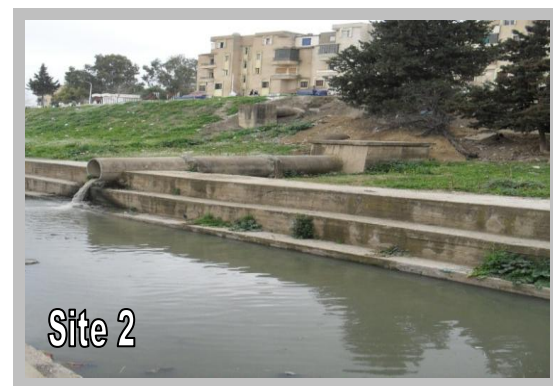
Points de prélèvement		Date de prélèvement	Heure de prélèvement	Localisation
Site 1	Prélèvement 1	24-03-2013	08 :17	Entrée de la commune
	Prélèvement 2	21-04-2013	08 :11	36°18'27.90"N 7° 9'49.52"E
Site 2	Prélèvement 1	24-03-2013	08 :44	Au centre de la commune
	Prélèvement 2	21-04-2013	08 :27	36°18'58.15"N 7° 9'49.01"E
Site 3	Prélèvement 1	24-03-2013	09 :03	2 Km de la commune
	Prélèvement 2	21-04-2013	08 :56	36°20'7.38"N 7° 9'34.38"E



Figure 09 : Situation géographique des sites de prélèvement (Google earth, 2012)



A



B



C

Figure 10: Localisation des sites de prélèvement: A: Entrée de la ville; B: Au centre; C: 2 Km de la ville (Photos prise par Sekfali et Bouras, 2013).

1.2. Méthodes de prélèvement

Pour les analyses physico-chimique on a utilisé des bouteilles en plastique d'un litre et demi qui doivent être propres et préalablement rincées par l'eau à prélever alors que le prélèvement pour les analyses bactériologique nécessite des flacons stériles en verre d'une contenance égale à 250 ml.

L'échantillon destiné à l'analyse bactériologique doit être prélevé dans des conditions d'asepsies rigoureuses et doit être le plus représentatif possible du milieu d'où il provient (**derwich et al., 2008**).

Le flacon est débouché et immergé complètement à une profondeur de 30 cm en position oblique renversée en le tenant par le fond et dans le sens contraire du courant (**Guiraud, 1998**). Les flacons sont ouverts sous l'eau et sont remplis jusqu'aux bords, ensuite les bouchons sont également placés sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air, (**Boucherit et al., 2009**). Les échantillons prélevés soit clairement étiquetés en notant avec précision; la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales (**Light food, 2002**).

1.3. Transport et conservation des échantillons

Si la durée du transport dépasse une heure et si la température extérieure est supérieure à 10°C, les prélèvements sont transportés dans des glacières (4 à 6°C) jusqu'à leur arrivée au laboratoire, même dans ces conditions l'analyse bactériologique doit débiter dans un délai maximal de huit heures après la récolte des échantillons (**Boucherit et al., 2009**).

2. Méthodes analytiques utilisés

2.1. Méthodes d'analyses physico-chimiques

2.1.1. Mesures *in situ*

Certains paramètres physico-chimiques ont été mesurés directement sur site en utilisant un multi paramètre de marque HANNA (HI 9829). Ces paramètres incluent : Le pH, La température, l'oxygène dissous, La conductivité, TDS et Salinité

❖ Le pH

Le potentiel hydrogène, plus connu sous le nom de pH est la valeur qui détermine si une substance est acide, neutre ou de base, il est calculé à partir du nombre d'ions hydrogène présents. Sa mesure était à l'aide d'un pH- mètre (**Rodier, 1996**).

❖ La température

La température est un paramètre important parce qu'elle a beaucoup d'effet sur le processus biologiques et physico-chimiques (**Guarino, 1975**). Elle joue un rôle dans la solubilité des sels et des gaz, en particulier dans la conductivité électrique et dans la variation du pH (**Leclerc, 1996**).

❖ Oxygène dissous

La réduction de l'O₂ au niveau d'une cathode convenable engendre un courant proportionnel à la pression partielle d'O₂ dans l'eau (**Rejsek, 2002**).

❖ La conductivité électrique

C'est la propriété qui possède une eau de favoriser le passage d'un courant électrique, La température et la viscosité influent également sur la conductivité car la mobilité des ions augment avec l'augmentation de la température et diminue avec celle de la viscosité (**Rejsek, 2002**).

❖ TDS

La quantité des sels minéraux influence la conductivité. La minéralisation est fonction de la géologie des terrains traversés. D'une façon générale, elle est plus élevée dans les eaux souterraines que dans les eaux superficielles (**Rodier, 1996**).

❖ Salinité

Désigne la quantité de sels dissous dans un liquide, notamment l'eau qui est un puissant solvant pour de nombreux minéraux (**Rodier, 1996**).

2.1.2. Mesures au laboratoire

2.1.2.1. Méthodes spectrométriques

❖ Détermination des orthophosphates PO₄³⁻

- Principe

✓ Formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium.

✓ Réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption l'une vers 700 nm, l'autre plus importante à 880 nm (**Rodier, 1996**) (Voire l'annexe II).

❖ **Dosage des ions nitrites**

• **Principe**

Les ions nitrites réagissent en milieu acide (PH=1,9) avec la sulfanilade en formant un sel de di-azonium (diazotation) qui forme avec le N-(1-naphtyl)-éthylènediamine-dichlorohydraté un colorant azoïque rouge (**Rodier, 2005**) (Voire l'annexe II).

❖ **Dosage des nitrates NO₃⁻**

• **Principe**

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosnylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique. (**Rodier, 2005**) (Voire l'annexe II).

❖ **Dosage de l'ammonium**

• **Principe**

Mesure spectrométrique à environ 655 nm du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et Hypochlorite en présence de nitrosopentacyanoferrate (III) de sodium (**Aminot et Chaussepied, 1983**) (Voire l'annexe II).

❖ **La Turbidité**

• **Principe**

La turbidité traduit la présence de particules en suspension dans l'eau (débris organiques, argiles, organismes microscopiques (**Aouissi, 2010**) (Voire l'annexe II).

2.1.2.2. Méthodes volumétriques

❖ **Dureté de l'eau (TH)**

• **Principe**

La dureté d'une eau est due principalement à la présence de sels de calcium et de magnésium sous forme de bicarbonates, de sulfates et de chlorures. C'est donc la concentration en ions alcalino-terreux, que l'on mesure globalement par le titre hydrotimétrique TH. La dureté s'exprime souvent en degré français (F°) (**Detay, 1993**) (Voire l'annexe II).

❖ Détermination du calcium (Ca^{2+})**• Principe**

Le calcium est un métal alcalino-terreux extrêmement répandu dans la nature ; c'est le cation le plus commun trouvé dans les eaux de surfaces, sa teneur est liée directement à la nature géologique des terrains traversés. (Rodier, 1996) (Voire l'annexe II).

❖ Détermination du magnésium (Mg^{2+})**• Principe**

- ✓ Titrage molaire des ions magnésium avec une solution de sel disodique d'EDTA à pH 10.
- ✓ Utilisation de noir érichrome T, qui donne une couleur rouge foncé ou violette en présence des ions calcium et magnésium comme indicateur. (Hakmi, 2002) (Voire l'annexe II).

❖ Détermination du résidu sec (RS)**• Principe**

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières par litre d'eau. Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans un bécher taré de résidu dessèche est ensuite pesé. (Rodier, 1996; Aminot et Chaussepied, 1983) (Voire l'annexe II).

❖ Détermination des matières en suspension (MES)**• Principe**

L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle. (Rodier, 1996; Hakmi, 2002) (Voire l'annexe II).

❖ Détermination de la demande biochimique en oxygène DBO**• Principe**

- La DBO est mesuré au bout de cinq jours à 20°C et à l'obscurité
- Deux échantillons sont nécessaire ; le 1^{er} sert à la mesure de la concentration initiale en O_2 , et le second à la mesure de la résiduaire en O_2 au bout de 5 jours (Rejsek, 2002).

❖ 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 réductrices contenues dans l'eau par un excès de dichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). et la deuxième au dosage de l'excès de dichromate de potassium par le sel de Mohr après refroidissement (Rejsek, 2002). (Voire l'annexe II).

2.2. Méthodes de détermination des caractéristiques bactériologiques

2.2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux

La recherche et le dénombrement des germes totaux se réalise à deux températures différentes afin de cibler à la fois les micro-organismes à tendance psychrophile à 22°C et ceux franchement mésophiles à 37°C (Labres *et al.*, 2006).

- **Mode opératoire**

A partir de la solution mère et des dilutions décimales (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}):

- Porter aseptiquement deux fois, 1ml dans deux boites de Pétri vides préparées à cet usage ;
- Compléter ensuite chacune des boites avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$;
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose (Figure 11).

- **Incubation**

- La première série est incubée, couvercle en bas à 22°C pendant 24 heures ;
- La seconde est incubée, couvercle en bas à 37°C pendant 72 heures.

- **Lecture**

- La première lecture après 24 heures.
- La deuxième lecture après 48 heures.
- La troisième lecture après 72 heures.

- **Dénombrement**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies des boites contenant entre 15 et 300 colonies (Rejsek, 2002).

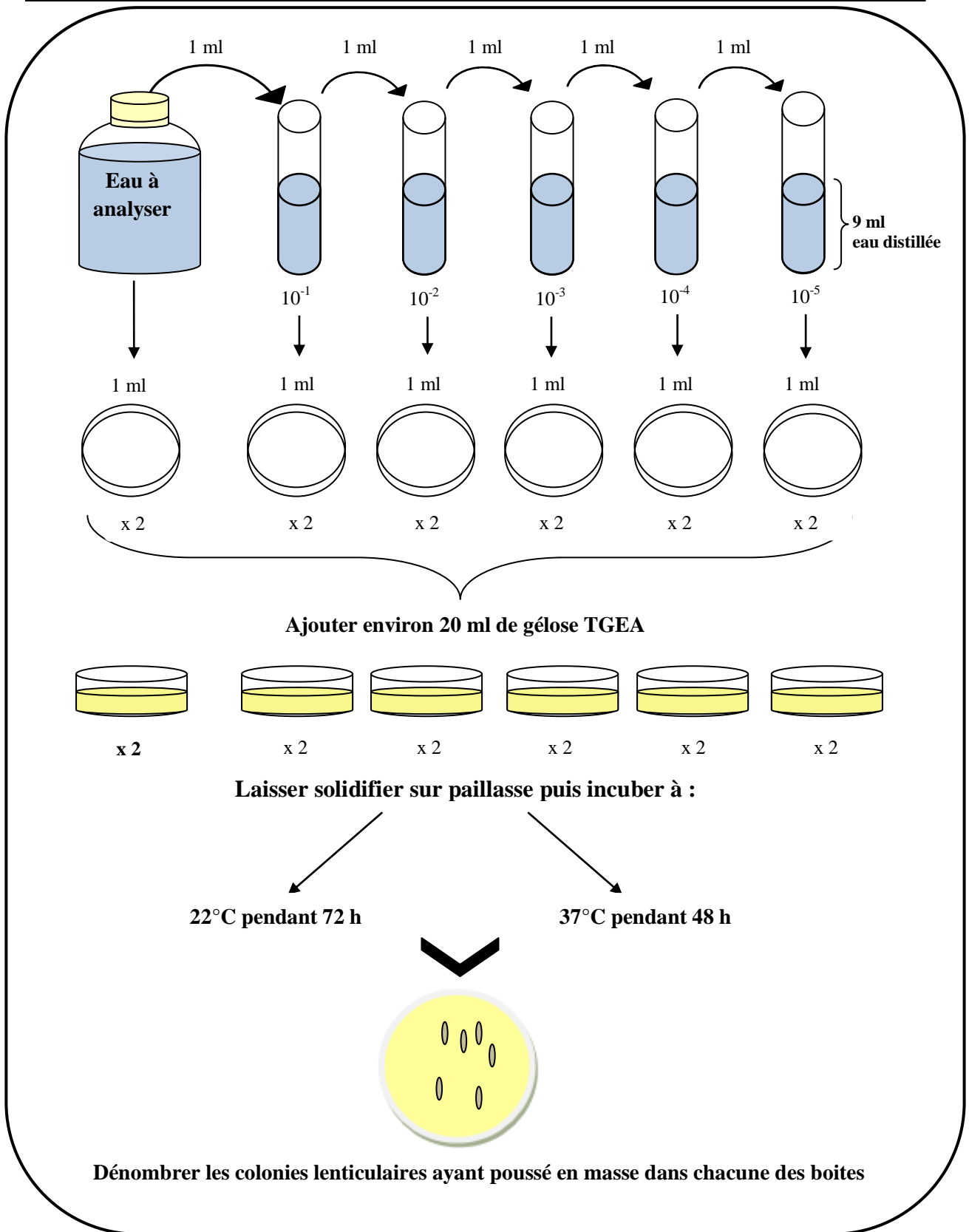


Figure 11: Recherche et dénombrement des germes totaux.

2.2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

a) Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants

Les coliformes regroupent différentes espèces bactériennes appartenant à la famille des Entérobactériaceae, en forme de bâtonnets, non sporogènes, Gram négatif (**Rajonson et al., 1992**), ne possédant pas d'oxydase, aérobies ou anaérobies facultatifs et capable de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaire (**El Blidi et al., 2006**).

Les coliformes totaux sont des microorganismes ayant la caractéristique de fermentation du lactose avec production de gaz à 37°C (**Champiat et Larpent, 1988 ; Guiraud et Rosec, 2004**). Les principaux genres inclus ce groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*, ainsi la presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représente pas de risque directe pour la santé, à l'exception de certaines souches d'*E. coli* et de rares bactéries pathogènes opportunistes (**Chevalier et al., 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. L'espèce la plus fréquemment associées à ce groupe est *Escherichia Coli* (**Roux, 2003**).

• Mode opératoire

La recherche et le dénombrement des coliformes dans les eaux ont été réalisées selon la technique du Nombre le Plus Probable (NPP) (Figure 12).

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir:

- Le test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- Le test de confirmation : encore appelé test de MacKenzie est réservé à la recherche des coliformes thermotolérants et *Escherichia coli*.

➤ Test de présomption

Il est effectué en utilisant le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol simple concentration munis d'une cloche de Durham (BCPL S/C).

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) avec trois répétitions par dilution (**Rejsek, 2002**).

- A partir de l'eau à analyser porter aseptiquement 1 ml dans le premier tube de la série pour obtenir la dilution 10^{-1} .

- Transférer 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter dans le deuxième tube de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-2} ; et ainsi de suite jusqu'au tube 10^{-5} .
- Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.
- Incuber à 37°C pendant 24 h à 48 h (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

- **Lecture**

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

- Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (la fermentation du lactose se manifeste par la production d'acide entraînant le virage du bromocrésol pourpre au jaune).

➤ **Test de confirmation**

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans un tube contenant le milieu Schubert ou bien Eau Peptonée exempte d'Indole; Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois ci à 44°C pendant 24 à 48 heures.

- **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 kovacs (**Rejsek, 2002**).

La lecture finale s'effectue selon les prescriptions de la table de Mac Grady pour les deux tests (Annexe III).

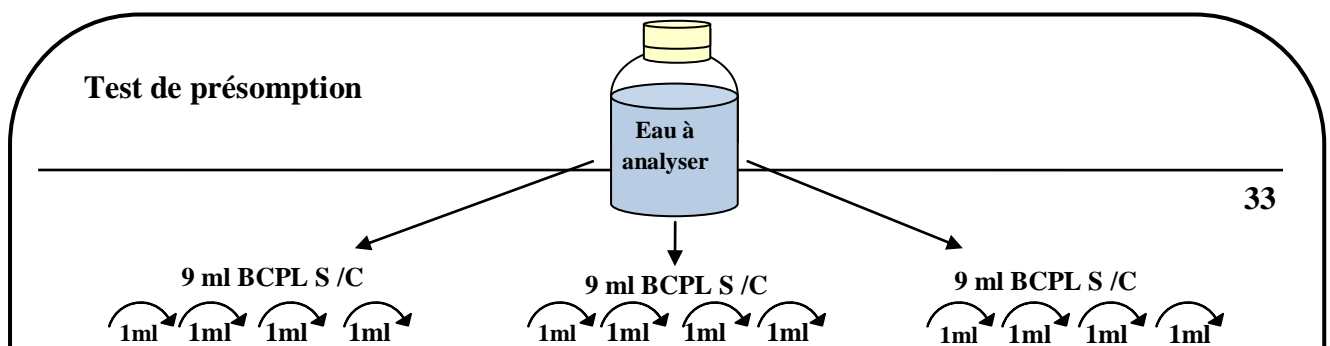


Figure 12: Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes Thermotolérants

b) Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe « D » de la classification de Lancefield, ou encore les entérocoques intestinaux, sont des bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chainettes, (**Bourgeois et Leveau, 1980**) Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37°C sur un milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques réduisant le TTC et qui de plus hydrolysent l'esculine en 2 heures à 44°C (**Labres et al., 2006**)

- **Mode opératoire**

La recherche et le dénombrement des streptocoques du groupe (D) dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP (Figure 13), se fait aussi en deux étapes consécutives :

- Le test présomptif : réservé à la recherche des streptocoques
- Le test confirmatif : réservé à la confirmation réelle des streptocoques du groupe «D»

- **Test de présomption**

Leur recherche est effectuée sur le milieu Rothe, suivant le même procédé décrits pour les coliformes totaux et l'incubation à 37°C pendant 24 h.

- **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien (**Rejsek, 2002**)

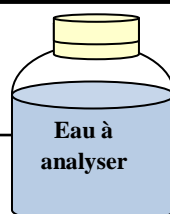
- **Test de confirmation**

Les tubes de Rothe trouvés positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans des tubes contenant le milieu Eva-Litsky, bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 heures. (**Délaras, 2008**).

- **Lecture**

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond de tube (**Lebres, 2006**). La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady (Annexe III).



2.2.3. Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR)

Les Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR) se développent en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. (Lebres, 2006).

- **Mode opératoire**

À partir des dilutions décimales ($10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$) :

- Prendre environ 5 ml de chaque dilution dans des tubes stériles, qui seront par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Refroidir immédiatement les tubes sous l'eau de robinet.
- Ajouter environ 15 ml de gélose VF, fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C , pendant 24 à 48 heures (Figure 14).

Lecture

- La lecture se fera après 16 - 24 puis 48 heures.
- Dénombrer toute colonie noire d'environ 0,5 mm de diamètre, poussant en masse.

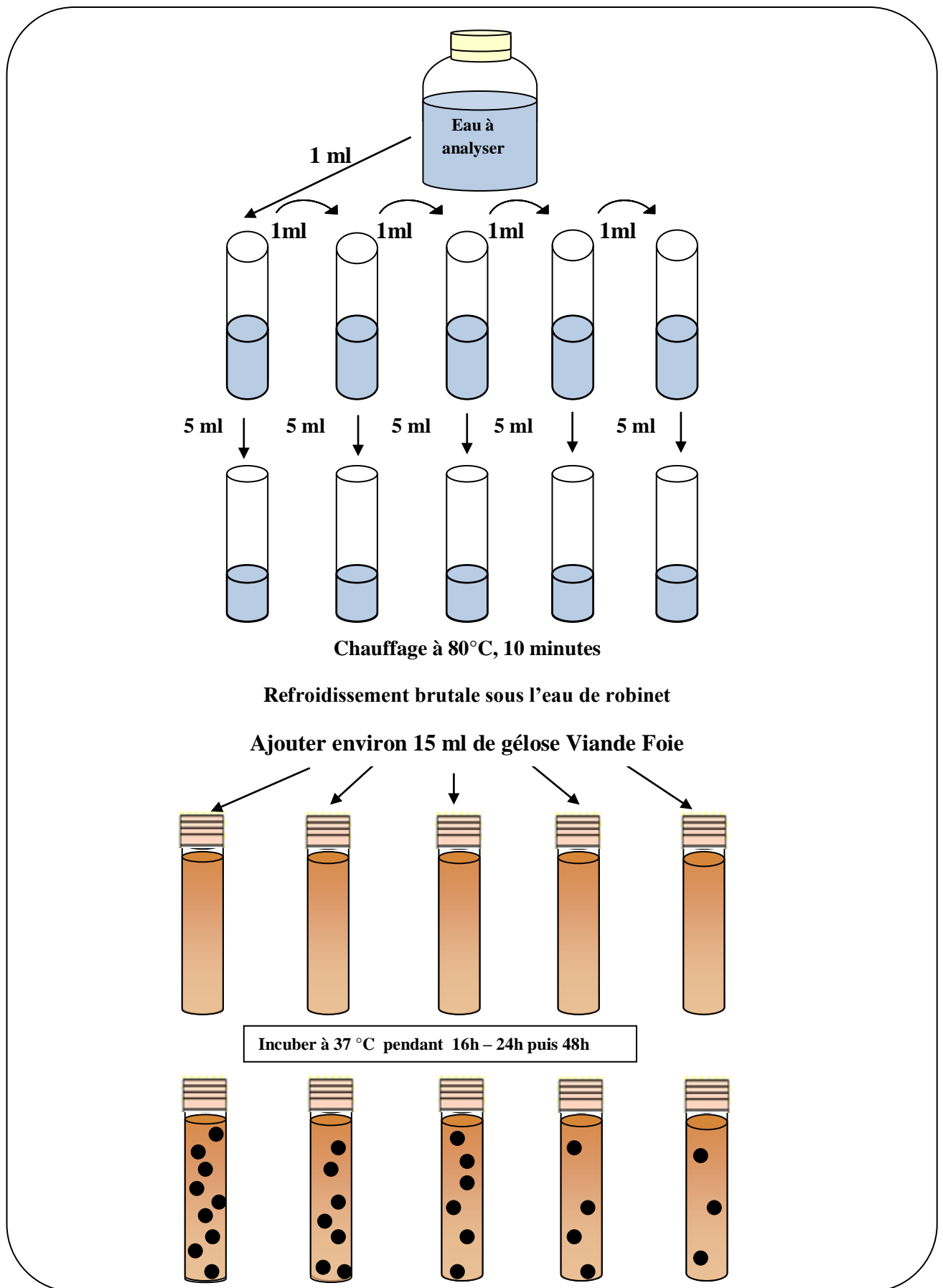


Figure 14: Recherche et dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs (ASR)

2.2.4. Recherche des germes pathogènes

a) Recherche des entérobactéries pathogènes

- **Mode opératoire**

- **Premier enrichissement**

Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu de SFB S/C réparti à raison de 10 ml par tube, puis on ensemence ce milieu par 2 ml d'eau à analyser, on incube par la suite à 37 °C pendant 16 à 24 heures (**Lebres et al., 2002**).

- **Deuxième enrichissement**

Le bouillon sélénite cystéine incubé la veille fera l'objet d'un enrichissement secondaire sur bouillon sélénite-cystéine en tubes à raison de 10 ml par tube. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. (**Lebres et al., 2002**)

- **Isolement**

Les géloses Hektoen et SS ont été ensemencés d'une part avec 0.1 ml de culture prélevée en milieu d'enrichissement et d'autre part avec 0.1 ml de chaque échantillon mère sans enrichissement préalable (**Lebres, 2006**) (Figure 15).

L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- **Identification morphologique et biochimique**

Les colonies obtenues feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

- Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S) (**Lebres, 2006**).

- Ensemencement :

- ✓ Soit d'une galerie biochimique classique (ONPG, oxydase, Urée-Indole, TDA, LDC, ODC, ADH, ...).
- ✓ Ou d'une galerie biochimique API 20 E.

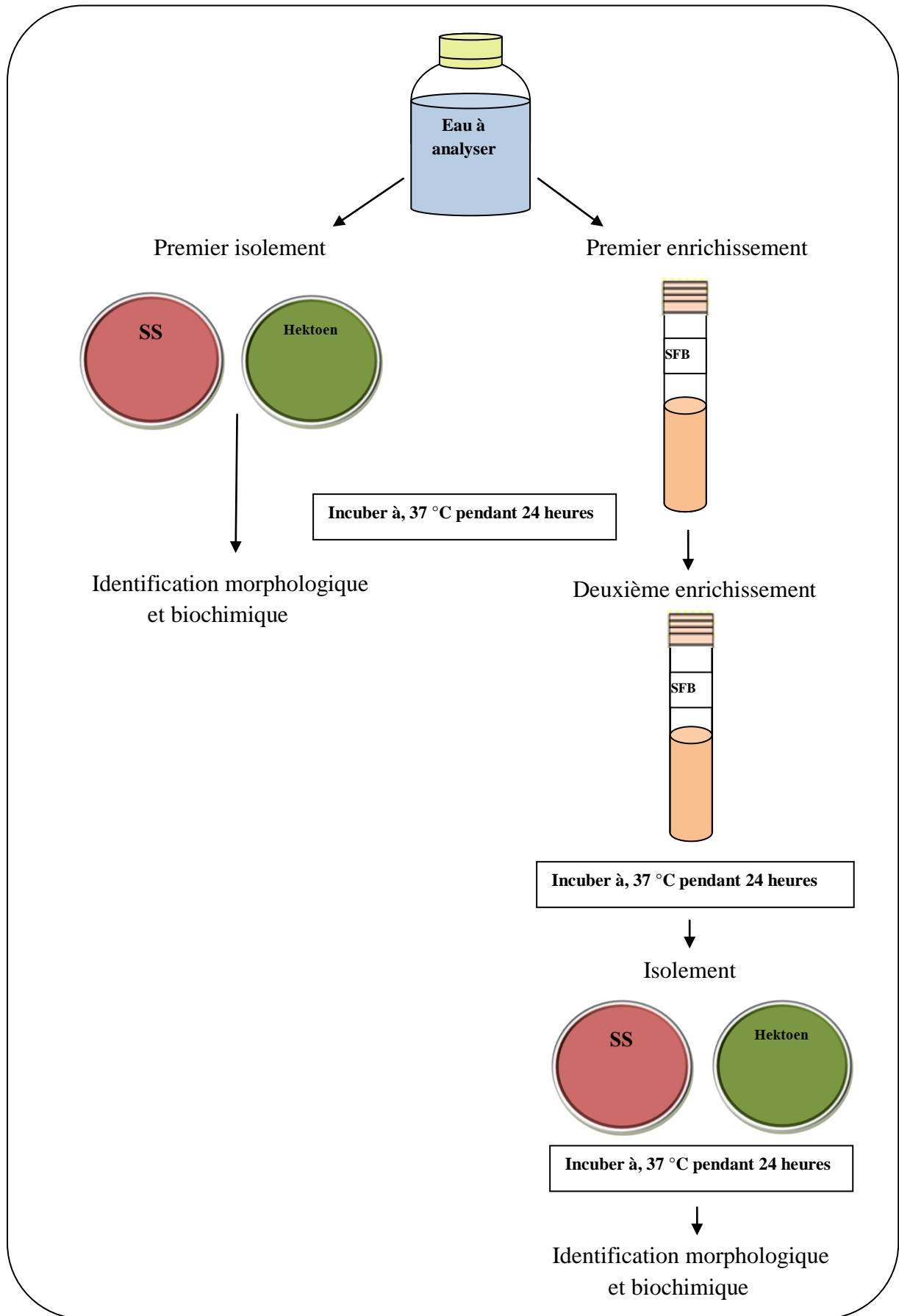


Figure 15 : Recherche des entérobactéries pathogènes.

b) Recherche des vibrions cholériques

Les Vibrionaceae se présentent sous forme de Bacilles Gram Négatifs droits ou incurvés, très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d'H₂S.

- **Mode opératoire**

- **Premier enrichissement**

Ajouter 2 ml d'eau à analyser dans un milieu Eau Peptonée Alcaline 10 fois concentré réparti à raison de 10 ml par tube

Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- **Deuxième enrichissement**

Le bouillon Eau Peptonée Alcaline incubé la veille fera l'objet d'un deuxième enrichissement sur milieu EPA en tubes à raison de 1ml

- **Isolement**

A partir du dernier milieu d'enrichissement ensemercer par stries toute la surface d'une boîte de gélose GNAB (Figure 16)

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

- **Identification morphologique et biochimique.**

Les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques.

Une identification morphologique et biochimique est basée essentiellement sur :

- Etat frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Oxydase (+),
- Ensemencement d'un tube de KIA qui sera incubé à 37°C, 24 h (Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S),
- Ensemencement d'un tube de gélose nutritive inclinée qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures qui servira à l'agglutination sur lame.

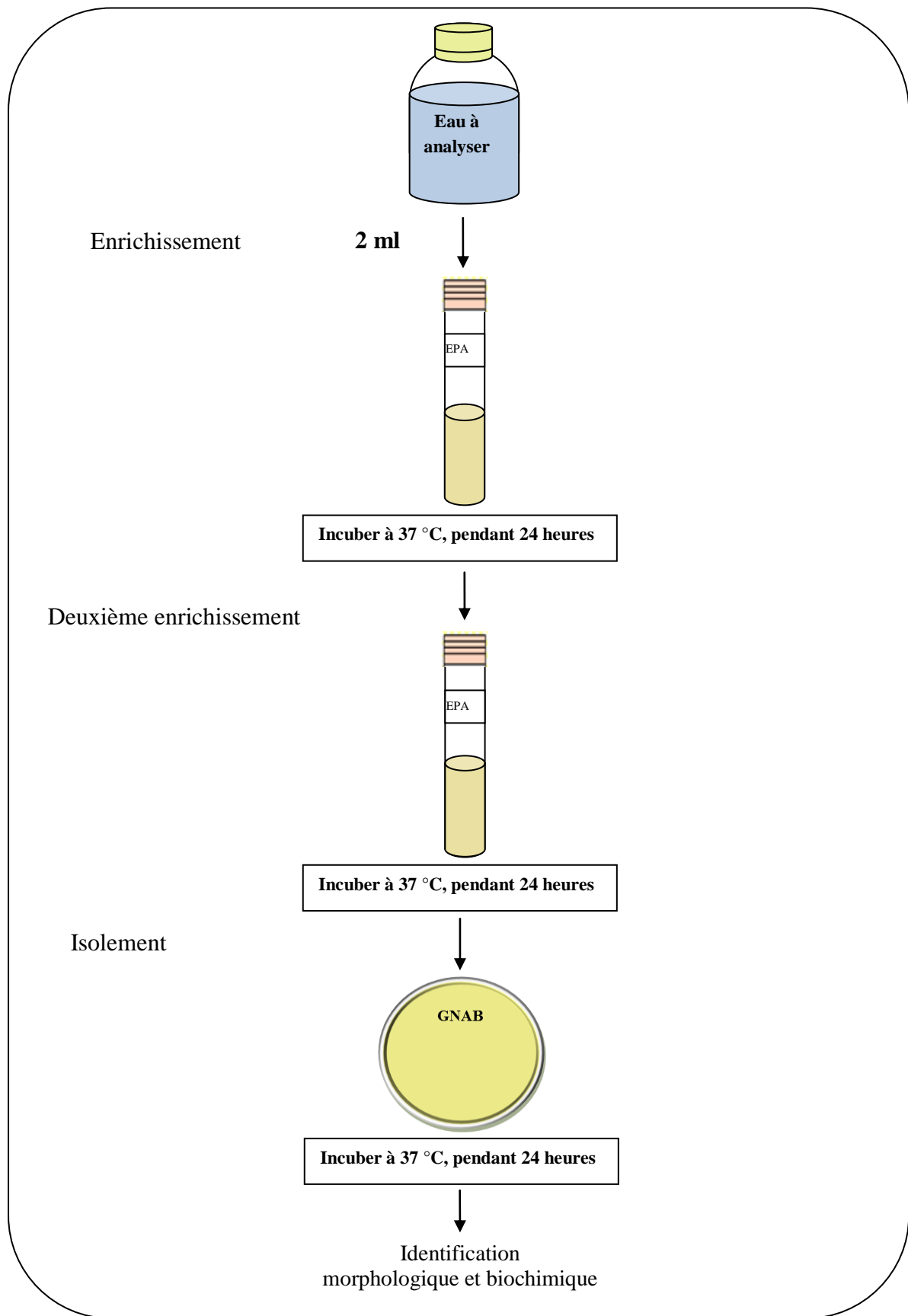


Figure 16 : Recherche des *vibrions cholériques*

c) Recherche des *Staphylocoques* pathogènes

Les *Staphylocoques* sont des cocci à Gram positif, très répandus dans la nature (air, eau, sol) et vivent souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux (Délarras, 2008).

- **Mode opératoire**

A partir de la solution mère, on ensemence par des stries toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu Chapman, Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h (Rodier, 2005).

- **Lecture**

Les colonies mannitol (+) apparaissent en jaune, ce qui indique la fermentation du mannitol (Figure 17).

- **Identification**

Les colonies suspectes sont confirmées par :

- Un examen microscopique après coloration de Gram
- Un test de la catalase et Un test de la coagulase

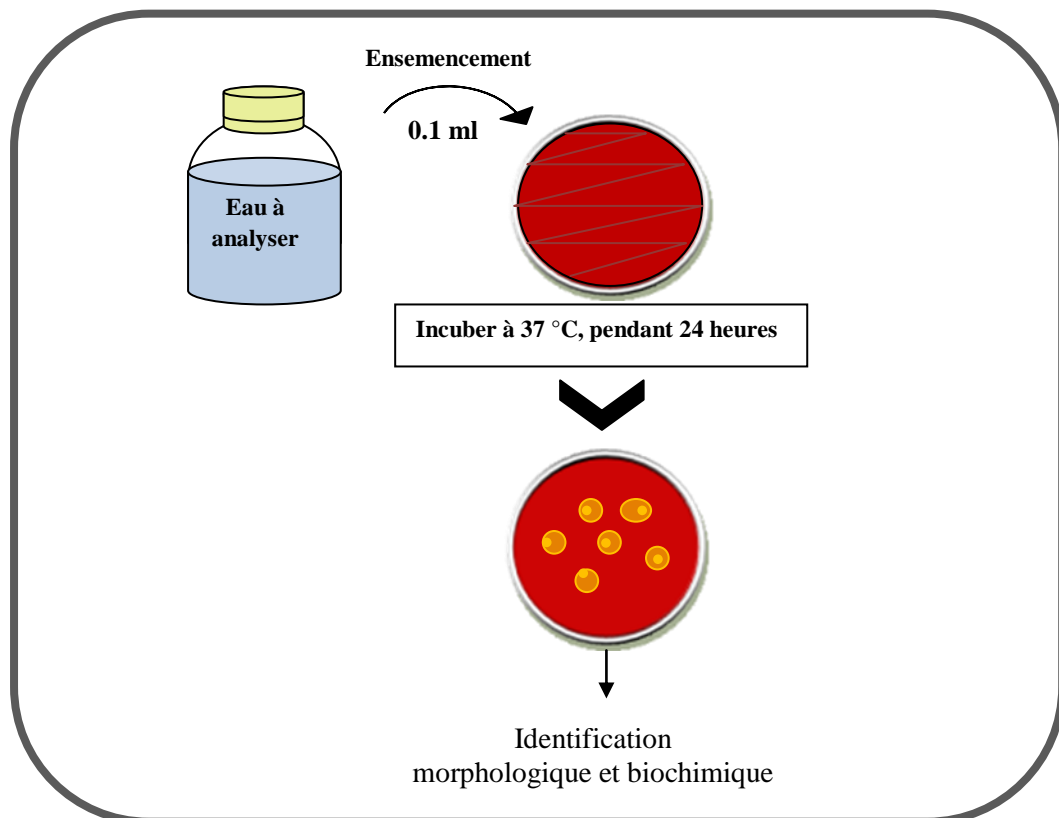


Figure 17 : Recherche des *Staphylocoques* pathogènes

2.2.5. Tests d'identification

2.2.5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux

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
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface: lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation (**Joffin et Leyrol, 2001**).

2.2.5.2. Examen microscopique

A partir des colonies distinctes isolées sur les milieux de cultures, nous avons réalisé une coloration de Gram

La coloration de Gram ou coloration différentielle s'effectue de la manière suivante :

- Préparation d'un frottis bactérien.
- Coloration par le violet : laisser agir la solution de cristal violet pendant 1mn et laver à l'eau.
- Mordantage : laisser agir le Lugol pendant 1mn et laver à l'eau.
- Décoloration : laisser agir l'alcool pendant 30 secondes et laver à l'eau.
- Recoloration : laisser agir la solution de Fuschine pendant 30 à 40 secondes, laver à l'eau et sécher (**Delarras et Trebaol, 2003**).
- Observation au microscope à immersion : Les bactéries Gram (+) sont colorées en violet, par contre les Gram (-) en rose (**Mamadou, 2005**).

2.2.5.3. Identification biochimique

a) Réalisation d'une galerie biochimique classique

L'identification et la classification des espèces, sont basées essentiellement sur l'étude des caractères suivants :

❖ Recherche de l'ONPG (orthonitrophényl-beta-D-galactopyranoside)

- **Technique**

Réaliser une suspension du germe à étudier dans de l'eau physiologique contenant un disque d'ONPG. Incuber à 37°C pendant 24 heures (Denis, 2007).

- **Lecture**

- Apparition d'une coloration jaune : bactérie ONPG positive.
- Absence de coloration : bactérie ONPG négative (Denis, 2007).

Recherche de l'Oxydase

- **Technique**

Cette réaction est simple, il suffit de prendre une colonie caractéristique puis la déposer sur un disque d'oxydase préalablement imbibé à l'aide d'une goutte d'eau distillée stérile (Lebres, 2006).

- **Lecture**

Le virage spontané au violet indique une réaction positive (Lebres, 2006).

❖ Recherche de la catalase

- **Technique**

La technique consiste à déposer une colonie de la culture à tester sur une goutte d'eau oxygénée (Joffin et Leyrol, 2001).

- **Lecture**

Si les bactéries examinées possèdent une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses (Joffin et Leyrol, 2001).

❖ Recherche de la coagulase

Les souches *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma oxalaté du lapin en 24 heures, ainsi que des espèces de staphylocoques animale (*S. intermedius*). Les autres espèces d'origine animale et humaine sont à coagulase négative (Karaali et al., 2003).

- **Technique**

On ensemence un bouillon cœur cervelle par les colonies isolées sur milieu Chapman puis on incube à 37°C pendant 24h. Par la suite, on ajoute 0.1ml du bouillon cœur cervelle au plasma du lapin. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h (**Bourgois et Leveau, 2008**).

- **Lecture**

Le résultat positif se traduit par la coagulation du plasma qui occupe plus de 3/4 du volume du liquide initial (**Bourgois et Leveau, 1980**).

❖ **Milieu Mannitol-Mobilité**

Sur ce milieu on peut étudier :

- La mobilité des bactéries
- Et la fermentation du mannitol

- **Technique**

Ensemencer les tubes par piqure centrale dans la gélose en culot avec les souches à tester. Incuber à 37 °C pendant 24 heures (**Derwich et al., 2008**).

- **Lecture**

- La mobilité se caractérise par une migration des bactéries de la piqure centrale vers le reste du milieu entraînant ainsi une turbidité.
- La fermentation du mannitol se traduit par le virage de la couleur rouge du milieu au jaune (**Derwich et al., 2008**).

❖ **Milieu au Citrate de Simmons**

Le milieu de Citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH (**Denis, 2007**).

- **Technique**

Ensemencer en surface le milieu au Citrate de Simmons à partir d'une culture prélevée sur un milieu gélosé. Incuber à 37 °C pendant 24 heures (**Denis, 2007**).

- **Lecture**

- Présence d'une coloration bleue (même localisée uniquement en surface) : réaction positive.
- Présence d'une coloration verte dans tout le milieu: réaction négative (même en présence d'une culture) (**Denis, 2007**).

- ❖ **Recherche de la Nitrate réductase**

- **Technique**

- Cultiver la bactérie dans un bouillon nitraté et incuber à 37 °C jusqu'à l'obtention d'une culture abondante.

- Ajouter une ou deux gouttes d'acide parasulfanilique en milieu acétique (réactif NIT 1) puis une à deux gouttes d'alpha-naphtylamine en milieu acétique (réactif NIT 2) (**Bourgois et Leveau, 2008**).

- **Lecture**

- Apparition en quelques secondes d'une coloration rose ou rouge : réaction positive (la bactérie réduit les nitrates en nitrites).
- lorsqu'il y a absence de coloration, ajouter la poudre de zinc :
 - Apparition en cinq minutes d'une coloration rose ou rouge : réaction négative.
 - Absence de coloration : réaction positive (bactérie réduisant les nitrites jusqu'au stade azote gazeux) (**Bourgois et Leveau, 2008**).

- ❖ **Milieu Urée-Indole**

Ce milieu donne trois caractères : Urée, TDA et Indole

- **Technique**

- **Hydrolyse de l'urée (uréase)**

Ensemencer un milieu Urée-Indole contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge de phénol puis recouvrir la surface du milieu d'huile de paraffine pour éviter la libération d'ammoniac. Incuber 18 à 24 heures à 37°C (**Karaali et al., 2003**).

- **Lecture**

- le milieu a une coloration rouge violacée ou orange foncée: Uréase positive.
- le milieu a une teinte jaune: Uréase négative (**Karaali et al., 2003**).

➤ **Recherche de l'Indole**

Ensemencer le milieu Urée-Indole, et incubé 24 heures à 37 °C. Ajouter 2 gouttes du réactif Kowacks (**Bourgois et Leveau, 2008**).

• **Lecture**

- Réaction positive : Apparition instantanée d'un anneau rouge.
- Réaction négative : Anneau brunâtre (teinte originale du réactif) (**Bourgois et Leveau, 2008**).

➤ **La recherche de la TDA**

Ensemencer un milieu Urée-Indole et incubé 24 heures à 37 °C puis ajouter 2 à 3 gouttes de réactif TDA (**Lerbres, 2006**).

• **Lecture**

- Réaction positive : virage instantané du milieu au rouge brique.
- Réaction négative : milieu non changé (**Lerbres, 2006**).

❖ **Quelques acides aminés essentiels (LDC, ODC, ADH)**

• **Technique**

Ensemencer chacun des trois tubes avec une suspension bactérienne puis réaliser une anaérobiose en recouvrant la surface du milieu d'huile de paraffine. Incuber à 37°C pendant 24 heures (**Lerbres, 2006**).

• **Lecture**

- Apparition d'une coloration orange foncée ou rouge (alcalinisation du milieu) : réaction positive.
- Apparition d'une coloration jaune (acidification du milieu) : réaction négative (**Lerbres, 2006**).

b) Inoculation de la galerie API 20E

Le système API 20E est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles Gram négatif, il comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne effectuée en eau physiologique (milieu

"Suspension Medium"). Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs (**Bara et al., 2011**).

- **Mode opératoire**

- **Préparation de la galerie**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, ensuite déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation (**Bara et al., 2011**).

- **Préparation de l'inoculum**

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé (**Bara et al., 2011**).

- **Inoculation de la galerie**

En posant la pipette contre la paroi de la cupule :

- Lorsque le sigle du test est encadré, ce qui est le cas des tests CIT, VP et GEL, Remplir les tubes et les cupules avec la suspension bactérienne.
- Lorsque que le sigle du test est souligné (ADH, LDC, ODC, URE, H2S), remplir uniquement le tube et créer une anaérobiose en remplissant leur, cupules avec l'huile de paraffine.
- Lorsque le sigle du test n'est ni encadré ni souligné (ONPG, TDA, IND, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA), remplir uniquement les tubes.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

Révéler par la suite les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- Test VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive (**Bara et al., 2011**).

- La lecture doit se faire selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E ou d'un logiciel d'identification API web.

1. Résultats des analyses physico-chimiques

Les résultats des paramètres physico-chimiques déterminés au niveau des trois sites de prélèvements des eaux d'Oued Zénati pendant les deux mois, mars et avril 2013, sont représentés dans le tableau 07.

Tableau 07: Résultats des analyses physico-chimiques des eaux d'Oued Zénati

Paramètres	Mois	Mars			Avril		
		Site 1	Site 2	Site 3	Site 1	Site 2	Site 3
Température (°C)		10.3	13.5	11.7	11.3	14.1	13.4
Ph		8.8	8.7	8.9	9.1	8.9	9.2
Oxygène dissous (mg/l)		15,6	5,1	13,2	14	3,2	11,5
Conductivité électrique (µs /cm)		1287	1390	1294	1769	1944	1846
Salinité (mg/l)		0.7	0.8	0.7	0.8	0.9	0.8
TDS (mg/l)		814	879	817	923	1018	968
Turbidité (NTU)		12.1	33.3	23.6	5.89	42.1	10.5
Nitrate (mg/l)		1.401	0.620	1.327	0.305	0.175	0.325
Nitrite (mg/l)		0.044	0.339	0.395	0.143	0.025	1.6
Ammonium (mg/l)		0.368	0.79	1.28	0.87	2.5	2.69
Orthophosphate (mg/l)		0.091	0.768	0.803	1.36	3.32	3.72
Calcium (mg/l)		154.44	151.31	145.82	174.04	170.91	163.85
Magnésium (mg/l)		64.44	70.56	62.56	76.67	77.14	70.08
Dureté totale (mg/l)		690	660	620	760	750	750
Matières en suspension (mg/l)		13	35.5	27.5	6	31	16.5
Résidu sec (mg/l)		1401	1494.5	1351	1487.5	1650.5	1471.5
Demande biochimique en oxygène (mg/l)		10.82	27	20	28	100	55
Demande chimique en oxygène (mg/l)		38.8	48	38.4	60	180	98.12

1.1. La température

La température maximale enregistrée est 14.1 °C au niveau du site 2 durant le mois d'avril, cependant, le minimale est notée dans le site 1 avec une valeur de 10.3 °C Pendant le mois de mars (Figure 18).

Les températures enregistrées durant la période d'étude indique que les eaux d'Oued Zénati sont de qualité normale et ceci selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux superficielles d'après Monod (1989) (< 20°C = qualité normale).

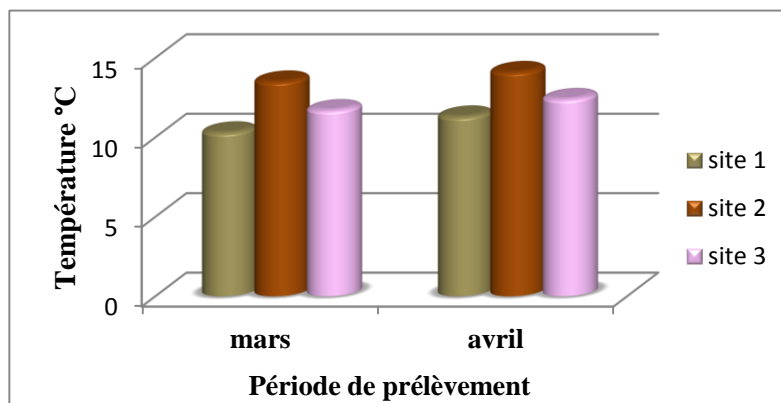


Figure 18: Evolution spatio-temporelle de la température dans l'eau de l'Oued Zénati.

1.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)

Pendant le mois de mars; la valeur de pH la plus élevée est 8.9, enregistrée au niveau du site 3, alors que la valeur la plus faible est 8.7; enregistrée au niveau du site 2.

Même chose a été observé dans le mois d'avril; les valeurs maximale (9.2) et minimale (8.9) sont enregistrés dans les sites 3 et 2 (Figure 19).

L'augmentation de pH peut être expliquée par la diminution de la précipitation.

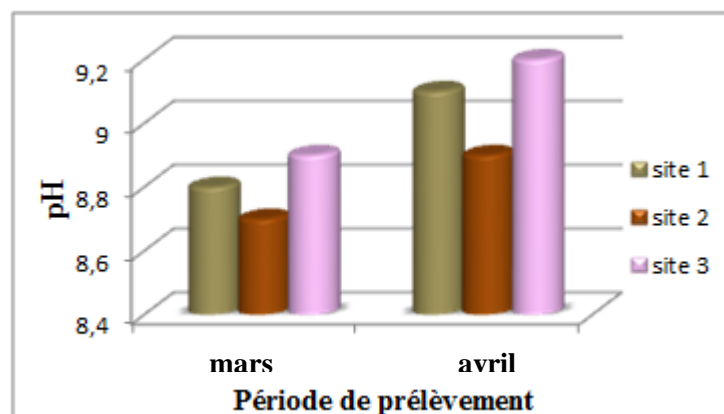


Figure 19: Evolution spatio-temporelle du pH dans l'eau de l'Oued Zénati.

1.3. L'oxygène dissous

Les teneurs en oxygène déterminées pour la période d'étude présente des variations saisonnières ainsi que spatiales remarquables. On note que les taux obtenus pour l'oxygène dissous au niveau du site 2 sont les plus faibles, Ils oscillent entre 5,1 mg/l dans le mois de mars et 3,2 mg/l au mois d'avril. Cette diminution du taux d'oxygène dissous est en relation avec le métabolisme bactérien qui utilise cet élément pour dégrader les matières organiques très abondante (l'arrivée des eaux usées dans le site 2 est riche en matières organiques et en microorganismes); Cependant les deux autres sites présentent un taux élevés en oxygène dissous, avec un maximum de 15,1 mg/l enregistré dans le premier site en Mois de mars et 14 mg/l enregistré dans le même site durant le mois d'avril (Figure 20).

L'accroissement du taux d'oxygène au niveau des sites 1 et 3 par rapport au site 2 est probablement dû à la diminution du taux de la pollution et/ou à l'arrivée des eaux des affluents (chaabats) alimentant l'oued et qui sont riches en oxygène dissous surtout en période de pluies.

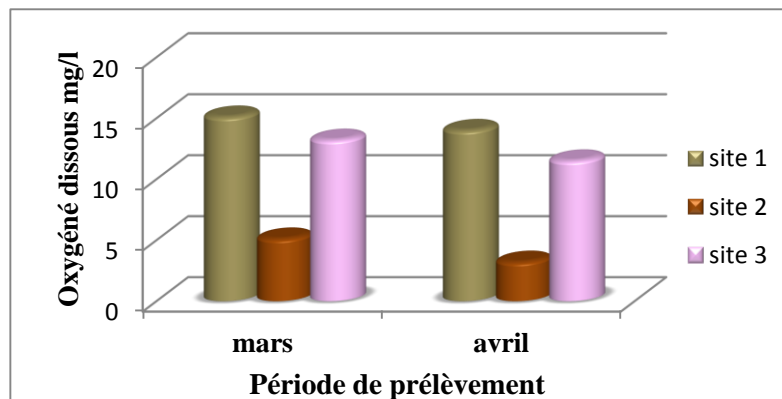


Figure 20: Evolution spatio-temporelle de l'oxygène dissous dans l'eau de l'Oued Zénati.

1.4. La conductivités électriques, la salinité et la TDS

Les valeurs obtenues montrent des variations temporelles plus importantes, mais on ne remarque pas de grandes variations spatiales.

On a enregistré une conductivité maximale de 1944 $\mu\text{s}/\text{cm}$ au mois d'avril dans le site 2 alors que la valeur minimale est de l'ordre de 1287 $\mu\text{s}/\text{cm}$ au niveau du site 3 pendant le mois de mars (Figure 21).

Concernant la salinité, le maximum est enregistré au niveau du site 2 durant le mois d'Avril soit 0,9 psu et le minimum de 0,7 psu est enregistré dans les sites 1 et 3 pendant le mois de mars (Figure 22).

Pour la TDS, on a enregistré un maximum de 1018 mg/l dans le site 2 pendant le mois d'avril et un minimum de 814 mg/l dans le site 1 pendant le mois de mars (Figure 23).

Les valeurs élevées traduisant ainsi une forte minéralisation des eaux de la région et peuvent être expliquées au fait qu'il n'y a pas assez de précipitation et aussi à cause de l'élévation de la température et l'augmentation de l'évaporation et par l'apport des rejets des eaux usées.

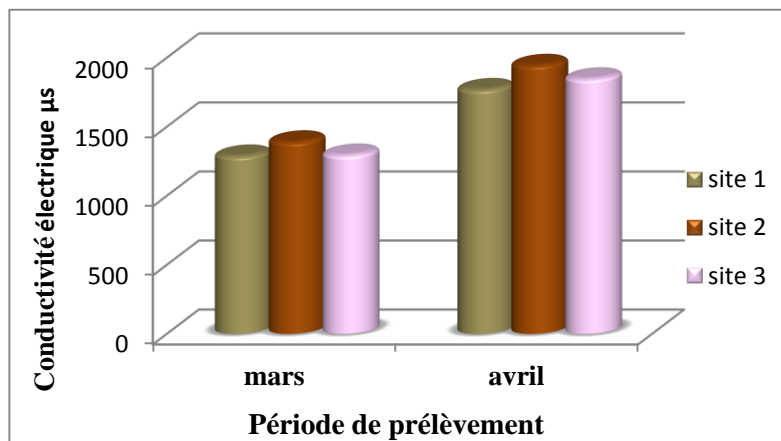


Figure 21 : Evolution spatio-temporelle de la conductivité dans l'eau d'Oued Zénati.

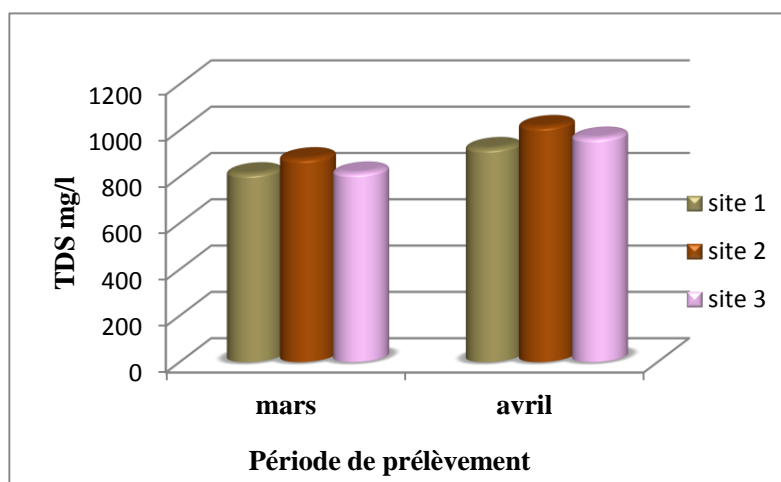


Figure 22: Evolution spatio-temporelle du TDS dans l'eau d'Oued Zénati.

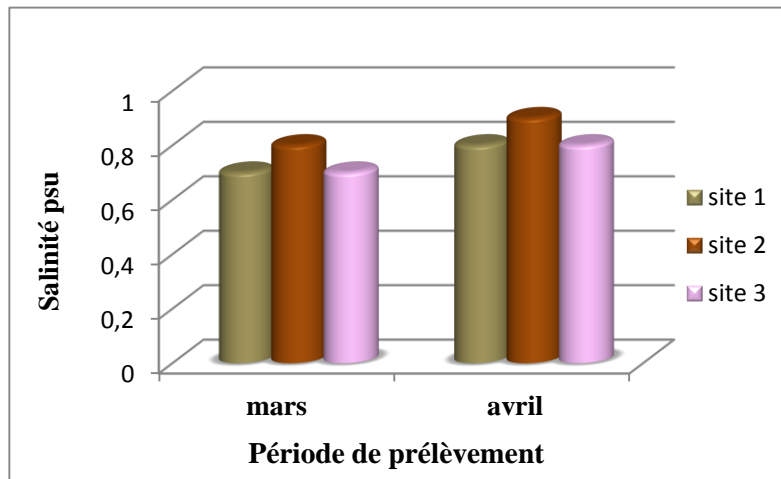


Figure 23: Evolution spatio-temporelle de la salinité dans l'eau de l'Oued Zénati.

1.5. La turbidité

Pendant le mois de mars, on a observé une valeur maximale de 33.3 NTU dans le site 2, tandis que la valeur minimale est de 12.1 NTU, enregistrée au niveau du site 1

Pendant le mois d'avril; on a enregistré un pic de 42.1 NTU dans le site 2, ainsi la valeur minimale est de 6.1 dans le site 1 (Figure 24).

Ces résultats (comprise entre 6.1 et 42.1 NTU) nous amène à conclure que cette eau de surface est légèrement trouble et cela d'après la grille d'appréciation des eaux superficielles selon Monod (1989).

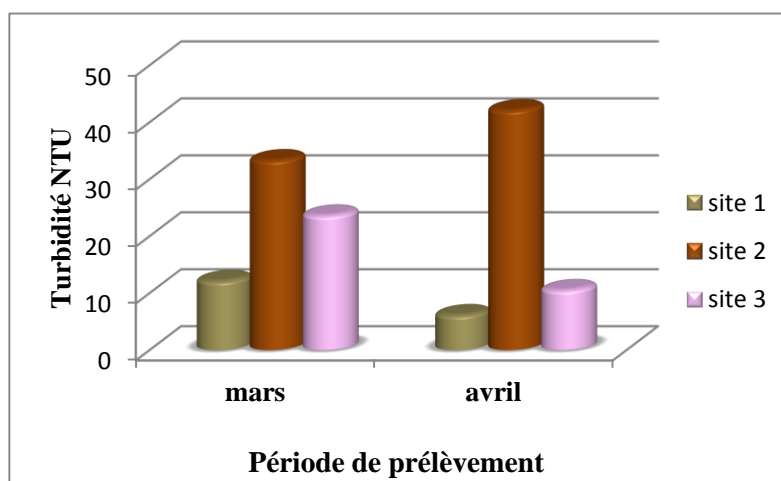


Figure 24: Evolution spatio-temporelle de la turbidité dans l'eau d'Oued Zénati.

1.6. Nitrates (NO_3^-)

Les nitrates sont enregistrés avec une valeur maximale de 1.401 mg/l; au niveau du site 1 pendant le mois de mars, alors que la valeur la plus faible est égale à 0.175 mg/l; notée dans le site 2 pendant le mois d'avril (Figure 25).

Les valeurs légèrement élevées du taux de nitrates au mois de mars par rapport au mois d'avril, pourraient être due à la pratique agricole qui consiste à appliquer abondamment des engrais industriels ou du fumier. L'utilisation d'engrais chimique et organique (fumures) pour amender les sols enrichit les champs en azote et sous l'effet des pluies, cet azote est lessivé à l'oued augmentant également sa teneur dans l'eau.

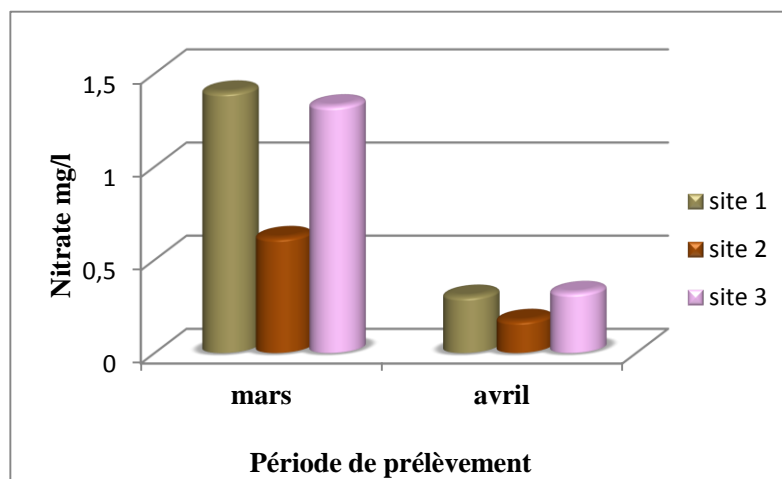


Figure 25 : Evolution spatio-temporelle des nitrates dans l'eau d'Oued Zénati.

1.7. Nitrites (NO_2^-)

Pendant le mois de mars, la teneur en nitrites est obtenue avec un maximum de 0.395 mg/l on dans le site 3, alors que la valeur minimale est de 0.044 mg/l, enregistrée au niveau du site 1.

Pendant le mois d'avril, les nitrites atteints la valeur maximale de 1.6 mg/l dans le site 3, cependant, la valeur minimale est de 0.025 mg/l au niveau du site 2 (Figure 26).

Les valeurs oscillent entre 0.025 et 1.6 mg/l (moyenne de 0,424 mg/l) montre que l'eau d'Oued Zénati est de qualité passable (selon Monod (1989)).

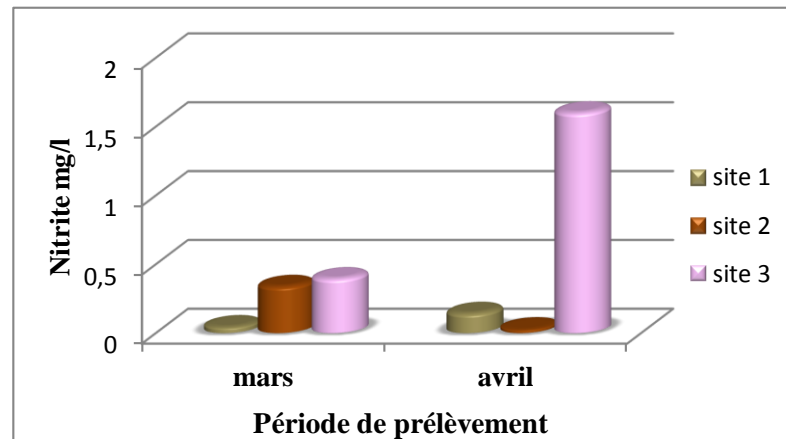


Figure 26: Evolution spatio-temporelle des nitrites dans l'eau d'Oued-Zénati.

1.8. Ammonium (NH_4^+)

La valeur d'ammonium la plus élevée est 2.69 mg/l; enregistrée au niveau du site 3 pendant le mois d'avril, alors que la valeur la plus faible est 0.368 mg/l; enregistrée au niveau du site 1 durant le mois de mars (Figure 27).

Les valeurs élevées d'ammonium sont dus à la diminution des apports en eaux (apports météorologique), à l'évaporation qui augmente la concentration des ions dissous et à l'augmentation de l'activité bactérienne. En effet, en présence de microorganismes, l'azote organique contenu dans les matières organiques est oxydé en ion ammonium. La nitrification convertit l'ammonium en nitrate en passant par le nitrite. Cette biotransformation s'effectue en deux étapes, en présence de *Nitrosomas* et de *Nitrobacter*. Le nitrate formé peut subir la dénitrification par réduction, essentiellement en nitrites.

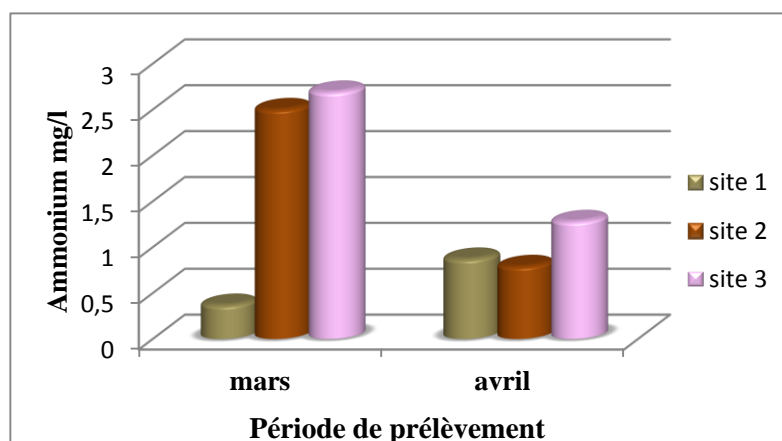


Figure 27: Evolution spatio-temporelle de l'ammonium dans l'eau d'Oued Zénati.

1.9. Orthophosphate (PO^{4-})

Les teneurs en orthophosphates sont marquées avec un maximum de 3.72 mg/l au niveau du site 2 durant le mois d'avril et un minimum de 0.091 mg/l au niveau du site 1 Durant le mois de mars (Figure 28).

L'augmentation de la pollution urbaine et le grand diversement des eaux usées sont les principales causes de l'élévation remarquée des teneurs en phosphate.

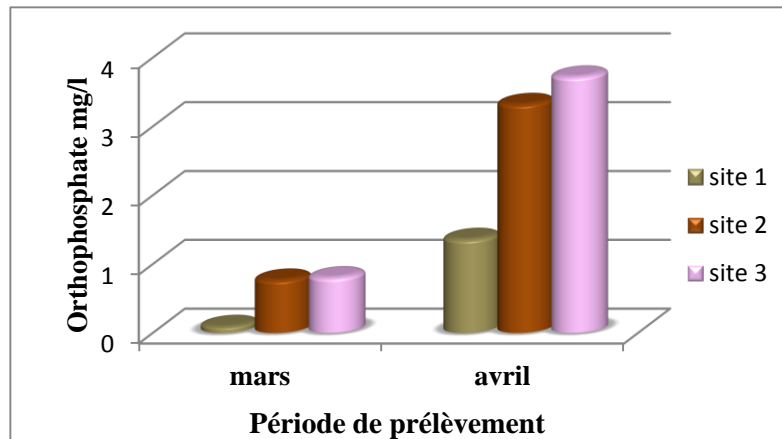


Figure 28: Evolution spatio-temporelle des orthophosphates dans l'eau d'Oued-Zénati.

1.10. Le calcium (Ca^{2+})

Le calcium est enregistré avec un maximum de 174.04 mg/l on dans le site 1 pendant le mois d'avril, alors que la valeur minimale de 145.82mg/l est enregistrée au niveau du site 3 durant le mois de mars (Figure 29). Ceci est lié directement à la nature des terrains traversés.

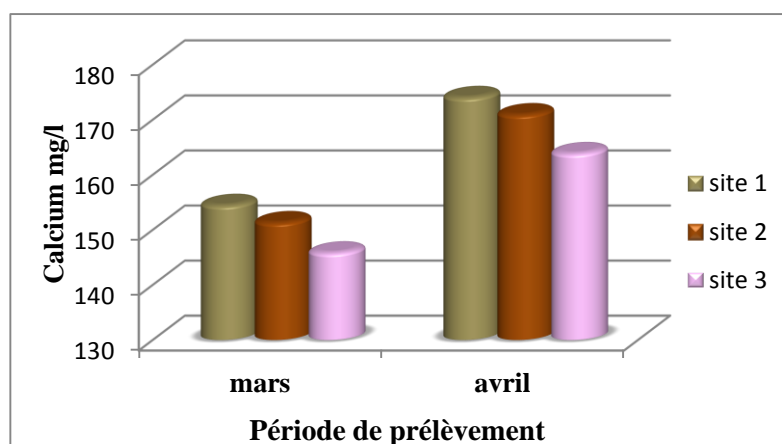


Figure 29: Evolution spatio-temporelle du calcium dans l'eau d'Oued Zénati.

1.11. Le magnésium (Mg^{2+})

La teneur en magnésium est obtenue avec un maximum de 77.14 mg/l dans le site 2 Pendant le mois d'avril, alors que la valeur minimale est de 62.56 mg/l, enregistrée au niveau du site 3 Pendant le mois de mars (Figure 30).

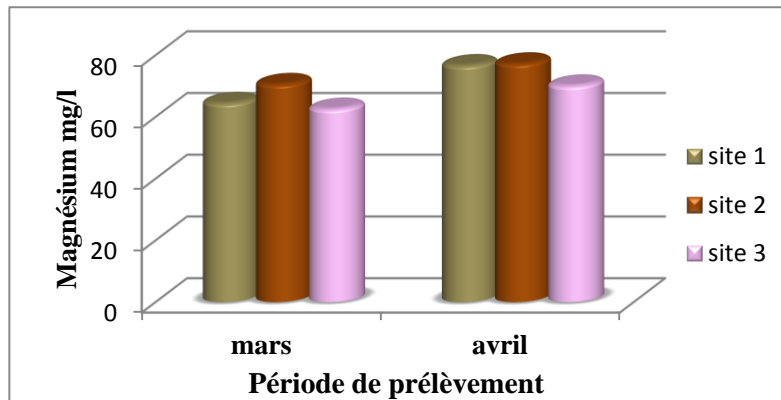


Figure 30: Evolution spatio-temporelle du magnésium dans l'eau d'Oued Zénati ;

1.12. La dureté de l'eau

On a enregistré une valeur maximale de 760 mg/l (76°F) dans le site 1 durant le mois d'avril, tandis que la valeur minimale est de 620 mg/l (62°F), enregistrée au niveau du site 3 durant le mois de mars (Figure 31).

Donc selon le classement français et la norme (ISO, 13395) cette eau est très dure.

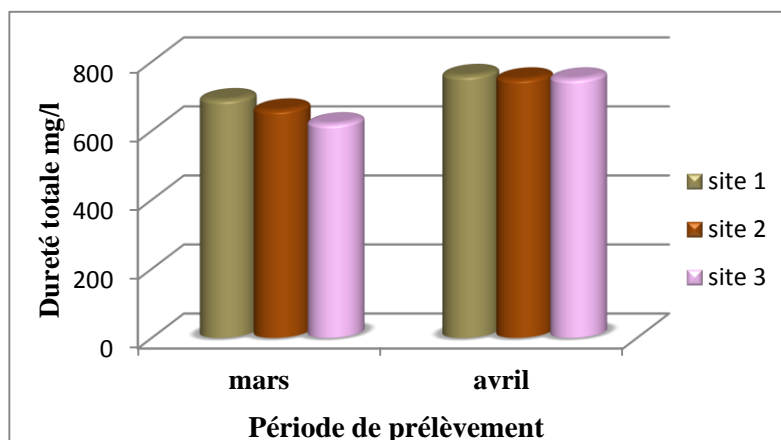


Figure 31: Evolution spatio-temporelle de la dureté de l'eau d'Oued Zénati.

1.13. Matières en suspension (MES)

Les valeurs enregistrées montrent des variations spatio-temporelles très importantes. Le maximum noté est de 35.5 mg/l dans de site 3, pendant le mois de mars et le minimum de 6 mg/l dans le site 1 durant le mois d'avril (Figure 32).

Cela est dû à l'augmentation des sels dans cette eau.

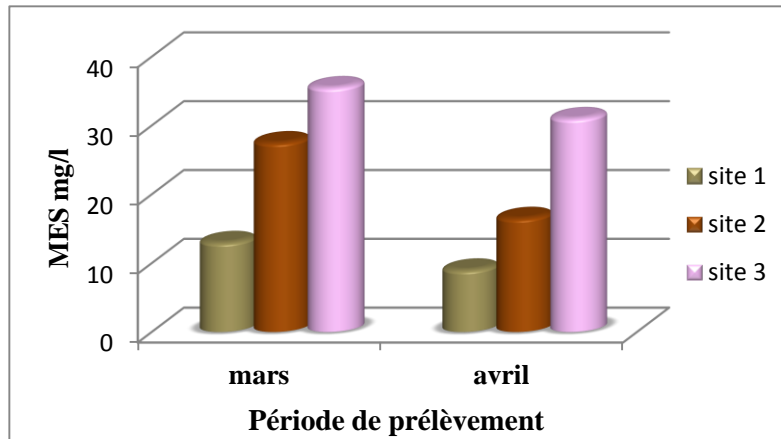


Figure 32: Evolution spatio-temporelle des matières en suspension dans l'eau d'Oued Zénati.

1.14. Le résidu sec

Les résultats obtenues montre que les valeurs du résidu sec sont enregistrés avec un maximum de 1650.5 mg/l dans le site 2 durant le mois d'avril, et un minimum de 1351 mg/l au niveau du site 3 durant le mois de mars (Figure 33). Cela est expliqué aussi par la grande quantité des sels.

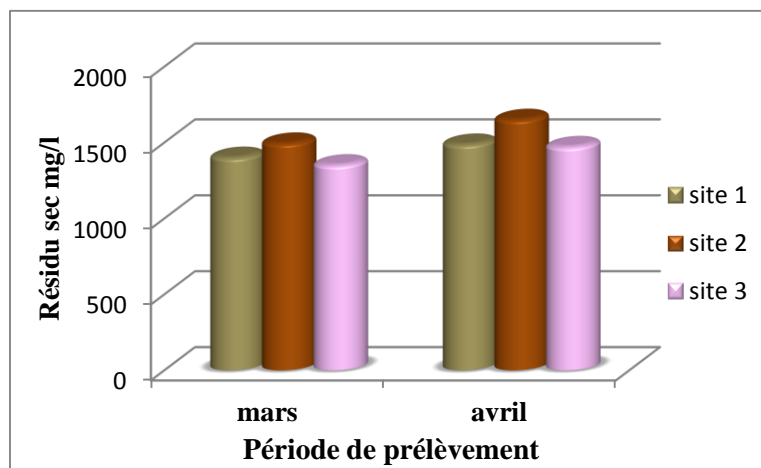


Figure 33: Evolution spatio-temporelle du résidu sec dans l'eau d'Oued Zénati.

1.15. La Demande Biochimique en Oxygène DBO5

La DBO5 est observé avec une valeur maximale de 100 mg/l dans le site 2 pendant le mois d'avril et une valeur minimale de 10.82 mg/l au niveau du site 1 pendant le mois de mars (Figure 34). Cela est dû principalement à l'augmentation de la pollution organique surtout dans le site 2 où se trouve les rejets hospitaliers.

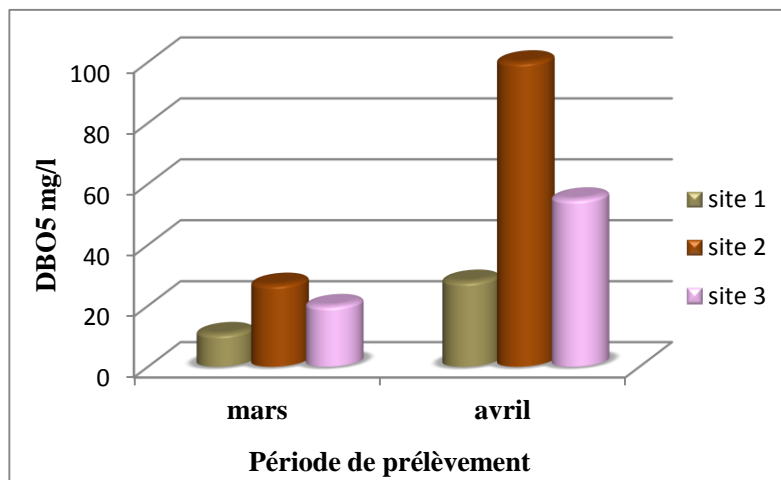


Figure 34: Evolution spatio-temporelle de la DBO5 dans l'eau d'Oued Zénati.

1.16. Demande chimique en oxygène DCO

La DCO est observée avec une valeur maximale de 180 mg/l dans le site 2 pendant le mois d'avril, et une valeur minimale de 38.4 mg/l au niveau du site 1 durant le mois de mars (Figure 35). Les valeurs élevées de la DCO augmentent ainsi le risque de l'asphyxie du milieu et la prolifération des bactéries anaérobies.

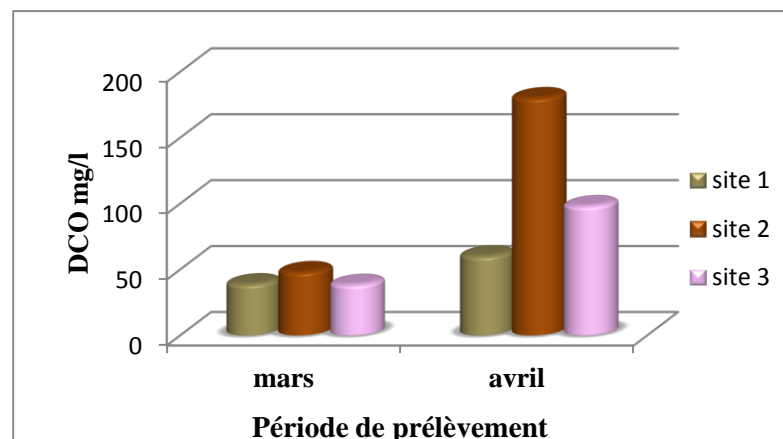


Figure 35: Evolution spatio-temporelle de la DCO dans l'eau d'Oued-Zénati.

2. Résultats de l'analyse bactériologique

2.1. Dénombrement des germes totaux

- **Variation spatio-temporelle à 22°C**

Les germes totaux dénombrés dans le mois de mars ont arrivés à la valeur maximale de 240 UFC/ml dans le site 2 (Tableau 8), par contre la valeur minimale est enregistrée dans le site 3 avec 60 UFC/ml, ceci est due principalement aux déversements des rejets domestiques et hospitalier de la localité où se situe notre deuxième point (site 2).

Durant le mois d'avril, toutes les valeurs dans tous sites ont dépassé le seuil de 300 UFC/ml (Figure 36), à cause probablement de l'augmentation de la température et le taux d'évaporation.

- **Variation spatio-temporelle à 37°C**

Les germes dénombrés à 37°C ont donnés presque le même résultat observé chez les germes dénombré à 22°C avec des fluctuations dans le mois de mars où on a enregistré la valeur maximale dépasse les 300 UFC/ml dans le site 2, alors que dans le mois d'avril, cette valeur a été enregistré dans tout les sites.

Tableau 8 : Dénombrement des germes totaux dans l'eau d'Oued Zénati

Prélèvement		Température	
		22°C	37°C
mars	Site 1	80 UFC/ml	35 UFC/ml
	Site 2	240 UFC/ml	> 300 UFC/ml
	Site 3	60 UFC/ml	30 UFC/ml
avril	Site 1	>300 UFC/ml	> 300 UFC/ml
	Site 2	> 300 UFC/ml	> 300 UFC/ml
	Site 3	> 300 UFC/ml	> 300 UFC/ml

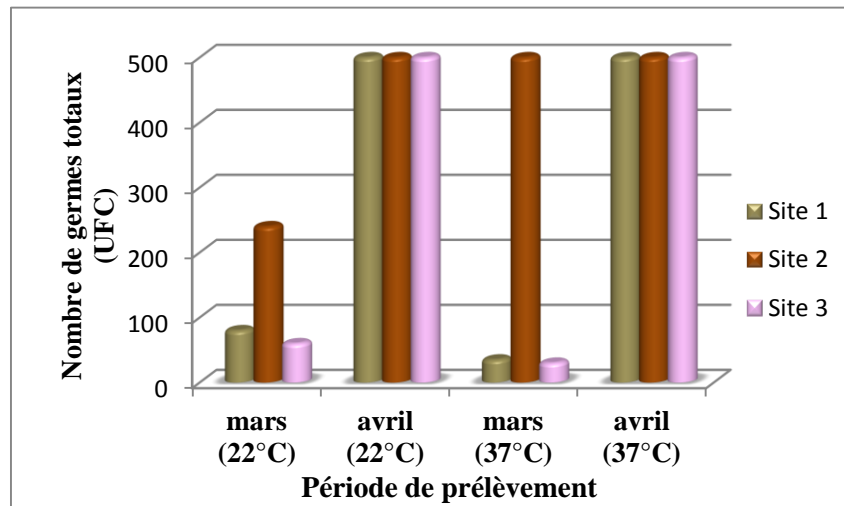


Figure 36: Evolution spatio-temporelle des germes totaux dans l'eau d'Oued-Zénati.

2.2. Dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

a. Variation spatio-temporelle des coliformes totaux

Durant le mois de mars, la valeur maximale des coliformes totaux est enregistrée au niveau du site 2 avec 15000 germes/ml (Tableau 09), tandis que pendant le mois d'avril, on a observé une augmentation notable dans les sites 1 et 2 avec une valeur de 140000 germes/ml. Les valeurs minimales ont atteintes 1500 et 300 germes/ml durant les mois mars (Site 1) et avril (Site 3) respectivement. (Figure 37).

La diminution du taux au niveau du site 3, probablement due aux phénomènes de l'autoépuration et de l'oxydation des bactéries par les cascades des eaux de surfaces et cela grâce à la diminution du niveau d'eau et l'exposition au soleil.

Tableau 09 : Dénombrement des coliformes totaux dans les eaux d'Oued Zénati

Mois / Points de prélèvement	Mars	Avril
Site 1	1500 germes/ml	140000 germes/ml
Site 2	15000germes/ml	140000 germes/ml
Site 3	3000 germes/ml	300 germes/ml

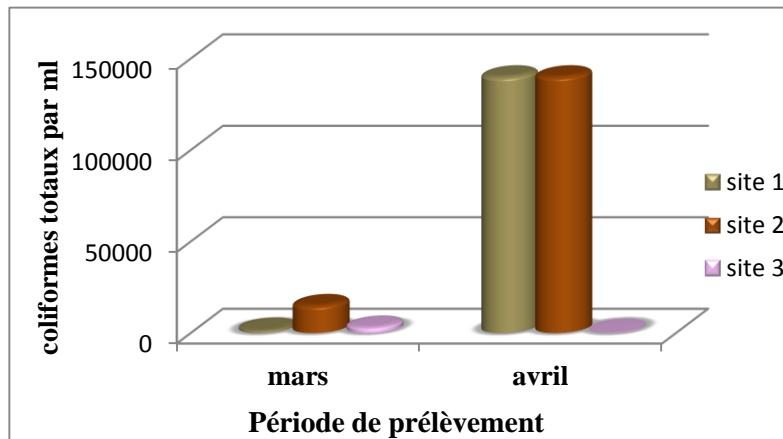


Figure 37: Evolution spatio-temporelle des coliformes totaux dans l'eau d'Oued Zénati.

b. Variation spatio-temporelle des coliformes fécaux

Le nombre maximal des coliformes fécaux a été enregistré au niveau du site 2 avec une valeur de 20000 germes/ml au mois d'avril, alors que le nombre minimal est observé dans le site 3 avec 200 germes/ml durant le même mois (Tableau 10) (Figure 38).

Tableau 10 : Résultat de dénombrement des coliformes fécaux dans les eaux d'Oued Zénati

Mois / Points de prélèvement	Mars	Avril
Site 1	950 germes/ml	7500 germes/ml
Site 2	9500 germes/ml	20000 germes/ml
Site 3	2000 germes/ml	200 germes/ml

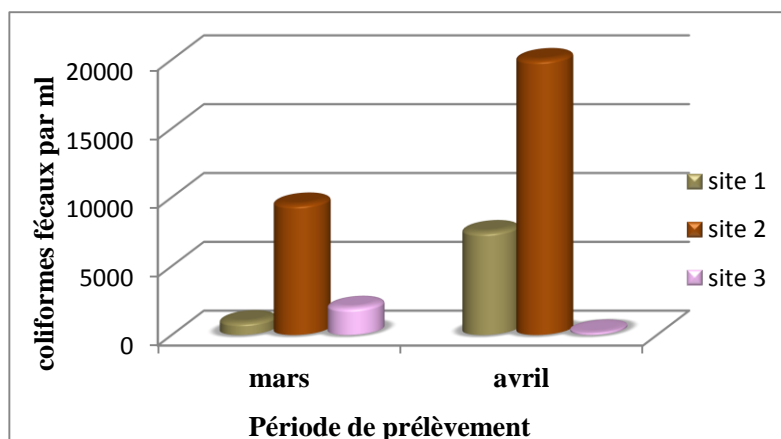


Figure 38: Evolution spatio-temporelle des coliformes fécaux dans l'eau de l'Oued Zénati.

c. Variation spatio-temporelle des streptocoques fécaux

Durant le mois de mars, le nombre des streptocoques fécaux nous montre que l'eau d'Oued-Zénati renferme une valeur maximale de l'ordre de 110000 germes/ml au niveau du site 2, tandis que la valeur minimale est obtenue au niveau du site 3 avec 45 germes/ml.

Durant le mois d'avril la valeur la plus élevée est toujours remarquée dans le site 2 avec 140000 germes/ml, alors que la minimale a atteint 9500 germes/ml, enregistré dans le site 3 (Tableau 11) (Figure 39).

Tableau 11 : Dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux d'Oued Zénati

Mois / Points de prélèvement	Mars	Avril
Site 1	7500germes/ml	11500germes/ml
Site 2	110000germes/ml	140000germes/ml
Site 3	45germes/ml	9500germes/ml

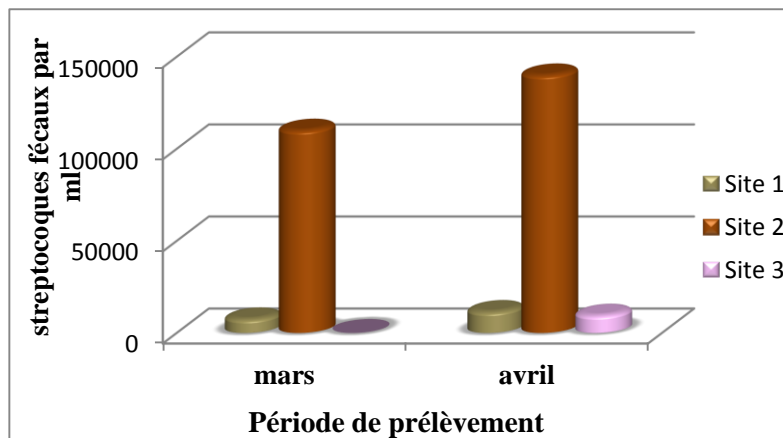


Figure 39: Evolution spatio-temporelle des streptocoques fécaux dans l'eau de l'Oued-Zénati

2.3. Dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réductrices

Les bactéries anaérobies sulfito- réductrices sont d'origine fécale et indiquent une contamination ancienne.

On a observé le nombre le plus élevée au niveau du site 2 avec 300000 germes/ml pendant le mois de mars et le nombre le plus faible au niveau du site 1 durant le mois d'avril avec 20 germes/ml (Figure 40).

La présence des Anaérobies Sulfito-Réductrices associée également à l'apparition des germes exclusivement fécaux, indique qu'ils proviennent sans doute de la même origine et que l'eau est soumise à une contamination répétée.

Tableau 12 : Dénombrement des ASR dans les eaux de l'Oued Zénati

Mois / Points de prélèvement	Mars	Avril
Site 1	4×10^2 germes/ml	2×10^1 germes/ml
Site 2	3×10^5 germes/ml	2×10^3 germes/ml
Site 3	2×10^3 germes/ml	1×10^2 germes/ml

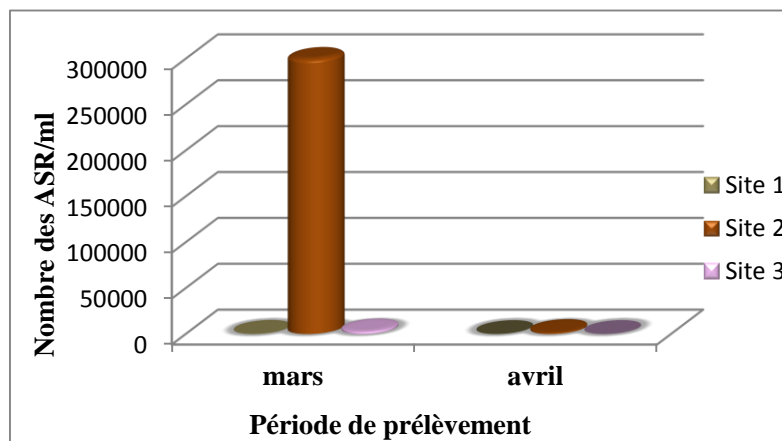


Figure 40: Evolution spatio-temporelle des ASR dans l'eau d'Oued-Zénati.

2.4. Résultats de recherche des bactéries pathogènes

2.4.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram

Les résultats des aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées sont résumés dans le tableau 13 et illustrés dans les figures 41, 42 et 43.

Tableau 13 : Résultat de l'isolement dans les eaux d'Oued Zénati

Type de gélose	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Hektoën	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies jaunes, bombé, lisses, muqueuses, à contour régulier - colonies transparentes, plates, à contour régulier avec ou sans centre noire - Petites colonies, lisses, à contour régulier, pigmentées en vert ou en bleu vert avec ou sans centre noire 	- bacilles isolés, Gram négatif
SS	Colonies transparentes avec ou sans centre noire (Lac -) Petites et moyenne colonies, circulaires, bombées, muqueuses de couleur rose	- Bacilles à Gram négatif
GNAB	-Petites colonies, plates, lisses, circulaires transparentes ou blanches	- Bacilles à Gram négatif
Chapman	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites et moyennes, plus au moins plates, lisses, opaques, crémeuses, à contour régulier, de couleur blanche. - Colonies moyennes, bombées, lisses opaques, crémeuses à contour régulier, de couleur jaune 	Cocci à Gram (+), groupés en amas et en chainettes

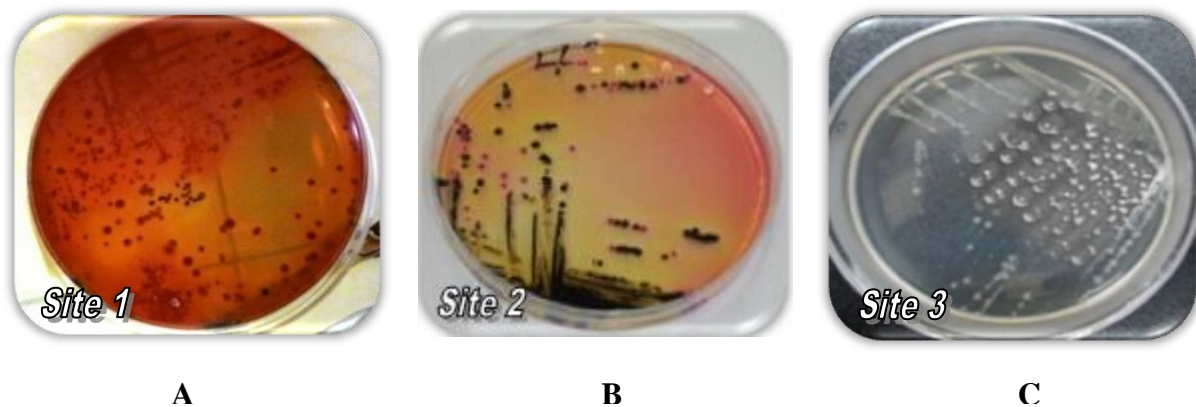


Figure 41 : Aspect macroscopique des colonies sur géloses : **A**: Hektoen, **B**: SS et **C**: GNAB (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013)



Figure 42 : Aspect des colonies sur gélose Chapman (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013)

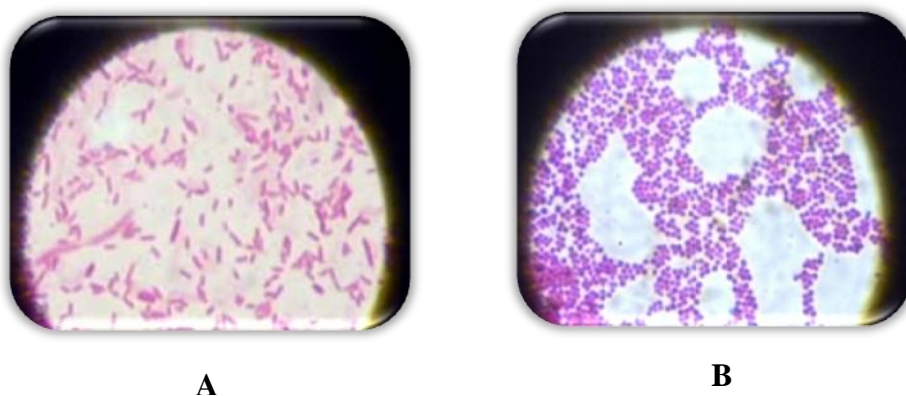


Figure 43 : Aspect microscopique des bactéries : **A**: Bacilles Gram négatif, **B**: Cocci Gram positif (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013)

2.4.2. Résultats de l'identification biochimique

2.4.2.1. Identification biochimique des entérobactéries

➤ Identification par la galerie biochimique classique

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

Tableau14: Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.

Sites	Espèces bactériennes identifiés	
	Mars	avril
Site 1	- <i>Enterobacter cloacae</i>	- <i>Salmonella arizonae</i>
Site 2	- <i>Salmonella paratyphi A</i>	- <i>Salmonella arizonae</i>
Site 3	- <i>Morganella morgani</i>	- <i>Klebsiella oxytoca</i>

➤ Identification par l'API 20E

Les tests biochimiques ont permis l'identification des bactéries décrites dans le tableau 15 et dans les figures 44, 45, 46, 47, 48 et 49.

Tableau 15 : Résultat de l'identification des entérobactéries par l'API 20E

Sites	Espèces identifiés	
	mars	avril
Site 1	<i>Morganella morgani</i>	<i>Serratia ficaria</i>
Site 2	<i>Salmonella spp</i> <i>Providencia rettgeri</i>	<i>Protéus mirabilis</i>
Site 3	<i>Protéus vulgaris</i>	<i>Providencia rettgeri</i>



Figure 44 : Profil biochimique de *Morganella morganii*
(Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).



Figure 45: profil biochimique de *Salmonella spp*
(Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).



Figure 46: profil biochimique de *Providencia rettgeri*
(Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).



Figure 47: profil biochimique de *Serratia ficaria*
(Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).



Figure 48: profil biochimique de *proteus mirabilis* (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).



Figure 49: profil biochimique de *Protéus vulgaris* (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).

2.4.2.2. Identification biochimique des vibron cholérique

On a observé une absence de l'espèce *vibrio cholérea* et l'espèce identifiée par la galerie biochimique API 20NE est *Vibrio vulnificus* (Figure 50).



Figure 50: profil biochimique de *Vibrio vulnificus* (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).

2.4.2.3. Identification biochimique des staphylocoques pathogènes

une absence totale de ces derniers dans tous les sites durant le mois de mars, tandis que, pendant le mois d'avril; on a pu identifier des *staphylococcus aureus* (staphylocoques pathogènes) dans les sites 2 et 3 et une autre espèce non pathogène (staphylocoques blanche) dans le site 1 (Tableau 16) (Figures 51 et 52).

Tableau 16 : Résultatde l'identification des staphylocoques pathogènes

Sites	Espèces identifiés	
	mars	avril
Site 1	Absence	Présence de staphylocoques non pathogènes (staphylocoques blanche)
Site 2	Absence	<i>staphylococcus aureus</i>
Site 3	Absence	<i>staphylococcus sciuri</i>



Figure 51: Profil biochimique des *Staphylococcus sciuri* (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).



Figure 52: Profil biochimique de *staphylococcus aureus* (Photos prises par Bouras et Sekfali, 2013).

Dans cette recherche nous avons étudié la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau d'Oued-Zénati en vue d'évaluer son impact sur l'environnement et sur les risques sanitaires.

Du point de vue bactériologique, les résultats que nous avons obtenus dans les trois sites à travers les dénombrements réalisés le long de nos campagnes de prélèvements nous exposent une contamination bactérienne variable portée principalement par la présence de germes test de contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les Anaérobies Sulfito-Réductrices ainsi que la présence de bactéries pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Serratia*, *proteus*, etc ...).

Les analyses physico-chimiques nous ont montrées une différence notable des taux et des teneurs mesurées de chaque paramètre étudié. Les concentrations en nitrites, ammonium, phosphates dépassent les normes requises et indiquent une pollution organique très nette. Ces résultats corroborent d'une manière générale une intensification des rejets des eaux usées domestiques (urbaines et hospitalières) dans cette région.

L'eau d'Oued-Zénati est utilisée également par les riverains en agriculture, en construction et en édification de nouvelles structures. Les enfants se baignent aussi dans cette eau ce qui augmente le risque de contamination.

Il est cependant important de signaler que les résultats bactériologiques et physico-chimiques bien qu'essentiels, indique que ce cours d'eau est impropre ce qui engendre des conséquences néfastes, causant des nuisances importantes pour les usagers (irrigation).

En recommandation et pour maintenir l'équilibre de cet écosystème lotique il faut veiller à certains points dont les principaux sont :

- ✓ Réaliser des suivis réguliers de la qualité de l'eau, soit procéder aux contrôles des différents paramètres physicochimiques et bactériologiques pour intervenir en cas d'une anomalie.
- ✓ Pour l'agriculture, il est conseillé de ne plus utiliser l'eau de l'oued en irrigation et limiter l'utilisation intensive des engrais chimiques synthétiques.
- ✓ Enfin, l'épuration des eaux usées avant leur évacuation dans les oueds s'avère une nécessité urgente. Il est donc indispensable d'installer une station de traitement biologique et physicochimique des eaux rejetées dans cet écosystème.

- **Aminot A. et Chaussepied M. (1983).** Manuels D'analyses Chimiques En Milieu Marin. 993 p.
- **Aouissi A. (2010)** Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister, université de Guelma. 141p.
- **Aounallah O. (2007)** Caractères chimiques des apports d'Oued Seybouse au littoral d'Annaba. Sels nutritifs et matières organiques. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister, Université Badji Mokhtar, Annaba. 37p.
- **Bara.M,Belhamra.Z,Chettibi.F (2011):** Analyse Bactériologique de L'eau Des Plages du Nord-Est Algérien:Cas D'Annaba Et Taref. Mémoire de Master, Université 08Mai1945, Guelma, 8 p.
- **Berche P. (1999),** Choléra Et Environnement. Méd. Mal. Infect N°29 : 301 – 307.
- **Berche P., Gaillard J-L. et Simouet M. (1988).** Bactériologie, Les Bactéries Des Infections Humaines. Flammarion Médecine Sciences. 660p.
- **Benchaiba L. (2006).** Condition d'écoulement et impact sur la mobilisation des ressources en eau : Bassin versant de l'oued Bouhamdane (W. de Guelma, Est Algérien). Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de : Magister en Hydraulique. Université El Hadj Lakhder, Batna. 213p.
- **Boeglin J.C. (2006)** Propriétés des eaux naturelles. Dans technique de l'ingénieur W1 : Technologie des eaux. Technique de l'ingénieur. Chap. G1 110, pp : 1-8.
- **Bouchaala L. (2010).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zénati (Guelma). Mémoire de Magister université de Guelma 137p.
- **Boucherit K., Kadi K., et Dafri F.Z., (2009)** Caractérisation microbiologique et physico-chimique de l'eau pendant son épuration au niveau de la STEP de la ville de Guelma. Mémoire d'ingénieur d'état. Université 08 Mai 1945, Guelma. 89 p.
- **Bourgeois C.M et Leveau J. Y., (1980)** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. T3. Apria, 331p.
- **Brigitte G., Christian C., Françoise M., (2003)** Cours d'eau et indices biologiques : Pollution-Méthodes-IBGN, 2 ème édition, Educagri .Cedex. 215 p.
- **Cardot C, (1999)** les traitement des eaux (procédés physico-chimiques; cours et problèmes résolus), Ellipses. 247p.

- **Champiat D et Larpent J.P. (1988)**, .Biologie des eaux ; méthodes & techniques. Masson. 375p.
- **Chevalier P. et les membres du groupe scientifique sur l'eau de l'Institut national de santé de Québec (2003)**, Coliformes totaux. Fiches synthèse sur l'eau potable et la santé humaine. Institut national de santé de Québec. 1-4.
- **Chibani S. (2009)**, Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux de surface et souterraine de la région de Ain Makhlouf (Wilaya de Guelma), Mémoire de Magister ; Université de 8 Mai 1945, 104 p)
- **Coulibaly K. (2005)**, Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau des puits de certains quartiers du district de Bamako. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. Université de Bamako. 69p
- **Dajoz R. (2000)**, Précis D'Ecologie: Cours Et Exercices Résolus. 7ème édition. Dunod, Paris. 613p.
- **Delarras C. et Trebaol B. (2003)**, Surveillance Sanitaire Et Microbiologique Des Eaux: Réglementation - Prélèvements - Analyses. TEC & DOC. 269p.
- **Denis F. (2007)** Bactériologie médicale techniques usuelles. Masson. 384p.
- **Derwich E., Beziane Z., Benaabidate L., Belghyti D. (2008)**, Evaluation de la qualité des eaux de surface des oueds Fès et Sebou utilisées en agriculture maraichère au Maroc. Larhyss Journal. (7).59-77.
- **Detay M. (1993)**. Le Forage D'eau ; Réalisation, Entretien Et Réhabilitation. Masson. 379p.
- **El Blidi S., Fekhaoui M., Serghini A. et El Abidi A. (2006)**. Rizières de la plaine du Gharb (Maroc) : qualité des eaux superficielles et profondes. Bulletin de l'Institut Scientifique. (28). 55-60.
- **Emsalem R. (1986)**. Climatologie Générale. Edition. I.P.E.N.A.G. Tome 1. 198p.
- **Faurie C. (1999)**. Ecologie Approche Scientifique Et Pratique. 4ème édition. TEC & DOC. 318p.
- **Fournier J-M. (1996)**. Choléra. Encycl. Méd. Chir (Elsevier). Maladies Infectieuses 8 - 026-F-10 : 1 – 5.
- **Galaf F. et Ghannam S. (2003)**. Contribution à l'élaboration d'un manuel et d'un site web sur la pollution du milieu marin. Mémoire de troisième cycle présenté pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie. Institut agronomique et Vétérinaire Hassan II. 22 p.

- **Guiraud J.P. (1998)**, Microbiologie alimentaire. Dunod. 615p.
- **Guiraud J.P et Rosec J.P. (2004)**, Les pratiques des normes en microbiologie alimentaire. Fluor, France. 300p
- **Habila S.(2008)**, Etude de l'impact du barrage Beni Haroun sur l'environnement: Effets écotoxicologique. Mémoire de Magister. Université de Jijel., 176p.
- **Hakmi A. (2002)**, Traitement des eaux « analyse de l'eau de source de bousfer ORAN, Mémoire de Magister. Université des sciences et de la technologie Oran 71p.
- **Joffin J et Leyrol G., (2001)** Microbiologie technique 1 : dictionnaire des techniques, 3^{ème} édition .CRDP d'aquitaine .320p.
- **Karaali R., Khettal M. et Reggam R., (2009)**, Contribution à l'étude bactériologique et physico-chimique d'une eau usée avant et après épuration (STEP de Guelma). Mémoire d'ingénieur d'état .Univ 08 mai 1945, Guelma.107p
- **Kreisel W. (1991)**, Water Quality and Health. Dunod. 209p.
- **Laveran H. (2000)**, Les Infections Nosocomiales Virales Et Agents Transmissibles Non Conventionnels. John Libbey. 527-539.
- **Lebres E., Azizi D. et Boudjellab B. (2006)**, Cours d'Hygiène et de Microbiologie des Eaux : Microbiologie des eaux et des boissons, Institut Pasteur d'Algérie.
- **Lebres E., Azizi D., Hamza A., Taleb F. et Taouchichet B. (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.
- **Leclerc H., Gailard J.L. et Simon et M., (1995)**, Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edit. Doin. 535p.
- **Leclerc, (1996)**, Microbiologie générale. Doin. 368p.
- **Lightfoot N.F., (2002)**, Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directives pour l'assurance qualité. 387 p.
- **Mamadou L-N. (2005)**, Impacts des eaux usées sur l'évolution chimique et microbiologique des sols : étude de cas à Pikine (Dakar-Sénégal). Diplôme d'étude supérieure en sciences naturel de l'environnement.120p.
- **Monod T. (1989)** , Méharhées géographies (N.A.N.I) normes Algériennes et normes international (2002). Edition France loisir 233p.
- **Niox (2005)**, ALGÉRIE et TUNISIE , 2^{ème} édition. Région de l'est (province de Constantine).Géographie militaire. 47p.

- **Rejsek F. (2002)**, Analyse des eaux : Aspects réglementaires et technique. Sceran. Paris .360 P.
- **Remini B. (2005)**, la problématique de l'eau en Algérie. Collection hydraulique et transport. Blida. 182 p
- **Rodier J. (1996)**, L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer, chimie, physicochimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. Dunod. 1384p.
- **Rodier J. (2005)**, L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mers. 8ème édition. Dunod. Paris .1383 p.
- **Roland V. (2010)**, Eau, Environnement et santé publique: Introduction à l'hydrologie 3^{ème} édition, Tec et Doc
- **Roux. (2003)**, TP de microbiologie : Analyses de l'eau. NOVELLO Célia. IUPSIAL, Université Paris 12p.
- **Soltner D. (1999)**, Les Bases De La Production Végétale. Edition. Sciences & Techniques Agricoles, Tome 2. 396 p.

WEBOGRAPHIE

- [1]. <http://lp.ncdownloader.com/eb3/?q=eauevolution%20synthese2011%20pdf> Consulté le 05/01/2013. L'eau toujours source de vie (Février, 2011).
- [2]. <http://membres.multimania.fr/ouedzenati/geographie.htm> Consulté le 28/12/2012
Géographie et ressources d'Oued-zénati (2009).
- [3]. http://molettamethanisation.fr/documents/CHAP_4%20LA%20POLLUTION%20DE%20L%20EAU.pdf Consulté le 13/01/2013. La pollution de l'eau (2011).
- [4]. [http://whqlibdoc.who.int/monograph/WHO_MONO_42_\(chp5\)_fre.pdf](http://whqlibdoc.who.int/monograph/WHO_MONO_42_(chp5)_fre.pdf) Consulté le 28/12/2012. Cycle de l'eau (2008).
- [5]. <http://www.ademe.fr/partenaires/boues/pages/pluspol.htm> Consulté le 19/10/2012 à 15 :18. Que-ce-que la pollution de l'eau (2007).
- [6]. <http://www.bettembourg.lu/ecologie/eau> Consulté le 30/11/2012. Ecologie des eaux (2008).

- [7]. [http://www.bettembourg.lu/ecologie/eau/\(eau\)%20Eaux%20de%20surface%20.pdf?FileID=publications%2F%2528eau%2529%2520eaux%2520de%2520surface%2520.pdf](http://www.bettembourg.lu/ecologie/eau/(eau)%20Eaux%20de%20surface%20.pdf?FileID=publications%2F%2528eau%2529%2520eaux%2520de%2520surface%2520.pdf)
Consulté le 10/01/2013. Ecologie des eaux de surface (2011)
- [8]. <http://www.lenntech.fr/bibliotheque/maladies/maladie-hydrique/maladie-hydrique.htm>
Consulté le 12/12/2012. Maladies hydriques (1998).
- [9]. <http://www.liberte-algerie.com/algerie-profonde/les-150-familles-sinistrees-relogees-victimes-des-inondations-d-oued-zenati-guelma-168504> Consulté le 08/01/2013. Victimes des inondations d'Oued Zenati (GUELMA), 2011.
- [10]. http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/eco_aqua/rivieres/parties1-2.htm Consulté le 15/01/2013. Suivi de la qualité des eaux de rivières (2010).
- [11]. <http://www.techno-science.net/?onglet=glossaire&definition=5754> Consulté le 10/03/2013. Définition de l'eau (2009).

1. Composition des milieux de culture en boîtes**❖ Milieu de Chapman : pH= 7,5**

Peptone bactériologique.....	10g
Extrait de viande de bœuf.....	1 g
Chlorure de sodium.....	75 g
Mannitol.....	10 g
Gouge de phénol.....	0,025 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000ml

❖ Gélose Hektoen: pH = 7,5

Protéose peptone.....	12 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Thiosulfate de sodium.....	5 g
Sels biliaires.....	9 g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5 g
Salicine.....	2 g
Lactose.....	12 g
Saccharose.....	12 g
Fuschine acide.....	0,1 g
Bleu de bromothymol.....	0,065 g
Agar.....	14 g
Eau distillée.....	1000ml

❖ Gélose Salmonella-Shigella (S.S) : pH = 7

Peptone.....	5 g
Extrait de viande de bœuf.....	5 g
Sels biliaires.....	8,5 g
Citrate de sodium.....	10 g
Thiosulfate de sodium.....	8,5 g
Citrate se fer.....	1 g
Lactose.....	10 g
Rouge neutre.....	0,025 g
Vert brillant.....	0,00033 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000ml

❖ **Gélose gélostryptone-glucose-extrait de levure (TGEA) pH= 7**

Tryptone.....	5 g
Glucose.....	1 g
Extrait de levure.....	2,5 g
Gélose.....	15 g
Eau distillée.....	1000ml

2. Composition milieux de culture en tubes❖ **Bouillon lactose au pourpre de Bromocrésol (BCPL) S/C : pH=7**

Peptone	5 g
Extrait de viande.....	3 g
Lactose	10 g
Pourpre bromocrésol.....	25mg
Eau distillée	1000ml

❖ **Gélose viande foie (VF) : pH=7.1**

Extrait viande foie.....	30 g
Glucose.....	2 g
Amidon.....	2 g
Gélose.....	12 g
Eau distillée	1000 ml

❖ **Eau peptonée exemple d'indole : pH = 7,2**

Peptone exemple d'indole.....	10 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000ml

❖ **Milieu de Litsky : pH = 6.8**

Peptone.....	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate monopotassique.....	2,7 g
Azothydrate de sodium.....	0,3g
Ethyl-violet.....	0,0005g
Eau distillée.....	1000ml

❖ **Milieu mannitol - mobilité – nitrate pH = 7,4**

Peptone.....	20g
Nitrate de potassium.....	2 g
Mannitol.....	2 g
Rouge de phénol à 1%.....	4 g
Agar.....	4 g
Eau distillée.....	1000ml

❖ **Bouillon de Rothe S/C : pH = 6.8**

Peptone.....	20 g
Glucose.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate bipotassique	2,7g
Phosphate monopotassique.....	2,7g
Azohydrate de sodium.....	0,2g
Eau distillée.....	1000ml

❖ **Milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons) pH = 6.8**

Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Citrate de sodium.....	2 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate d'ammonium.....	0,2 g
Phosphate d'ammonium monosodique.....	0,8 g
Bleu de bromothymol.....	0,08 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000ml

❖ **Gélose gélose glucose-lactose- saccharose- H₂S (T.S.I) : pH = 7**

Peptone.....	20 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Citrate de ferrique.....	0,3 g
Thiosulfate de sodium.....	0,3 g
Lactose.....	10 g
Saccharose.....	10 g
Glucose.....	1 g
Rouge de phénol.....	0.024 g
Agar.....	12 g
Eau distillée.....	1000ml

3. Les réactifs utilisés❖ **Réactif de Vosges Proskauer (VP) : Pour la recherche de l'acétoine****VP1**

Hydroxyde de potassium.....	40g
Eau distillée.....	100 ml

VP 2

Alpha naphthol.....	6g
Ethanol	100 ml

❖ **Réactif de Griess pour les nitrites****NIT1**

Acide sulfanilique.....	0.8g.
Acide acétique 5 N.....	100 ml

NIT2

N-N- diméthyl- 1- naphtylamine.....	0.6 g.
Acide acétique 5 N.....	100ml.

❖ **Réactif de Kowacks:** la mise en évidence de la production d'indole.

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....	5g
Alcoolamylique.....	75 g
HCl pur.....	25 ml

❖ **Réactif de TDA :** Pour la recherche du tryptophane désaminase

Peptone de fer.....	3,4 g
Eau distillée.....	100ml (institut Pasteur, 1978).

4. Les colorants❖ **Violet de gentiane**

Violet de gentiane.....	1 g
Ethanol à 90 %.....	10 ml
Phénol.....	2 g
Eau distillée.....	100 ml

❖ **Lugol**

Iode.....	1g
Iodure de potassium.....	2 g
Eau distillée.....	300 ml

❖ **Fushine**

Fushine basique.....	1 g
Alcool éthylique.....	100 ml
Phénol.....	5 g
Eau distillée.....	100 ml

Modes opératoire des analyses physico-chimiques

❖ Dosage des ions nitrites

• Mode opératoire

- La température des échantillons doit être comprise entre 15 et 25°C.
- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un bicher ;
- Ajouté 1 ml du réactif I (solution de sulfanilamide) et mélanger ;
- Laisser reposer 2 à 8 min ;
- Ajouter 1 ml du réactif II (solution de N-naphtyl-ethylenediamine) et mélanger à nouveau ;
- Laissé au repos pendant 10 min pour obtenir le développement de la coloration attendue (rose), pas plus de 2 h et mesurer l'absorbance dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 543 nm (**Amino et Chausspied, 1983**).
- Le résultat est donné directement en mg/l.

❖ Dosage des nitrates NO_3^-

• Mode opératoire

- Prendre 10 ml de l'échantillon à analyser.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30 %.
- Ajouter 1 ml de salicylate de sodium.
- Evaporer à sec au bain marie ou à l'étuve à une température entre 75 et 88°C et laisser refroidir.
- Reprendre le résidu avec 2 ml. H_2SO_4 laisser reposer 10 mn.
- Ajouter 15 ml d'eau distillée.
- Ajouter 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium.
- Le résultat est donné directement en mg/l à une longueur d'onde de 415 nm (**Rodier, 2005**).

❖ Dosage de l'ammonium

• Mode opératoire

- Prendre 40 ml d'eau à analyser dans une fiole de 50 ml.
- Ajouter 4 ml du réactif I.
- Ajouter 4 ml du réactif II, et compléter la fiole jusqu'à la jauge avec de l'eau distillée.
- Attendre 1h30min à l'obscurité.
- L'apparition de la couleur vert indique la présence de l'ammonium.
- Le résultat est donné directement en mg/l (**Amino et Chausspied, 1983**).

❖ Détermination des orthophosphates PO_4^{3-} **• Mode opératoire**

- Prendre 40 ml d'eau à analyser
- 1 ml d'acide ascorbique
- Ajouter 2 ml du réactif-mélange
- attendre 10 mn.
- L'apparition de la coloration bleue indique la présence des PO_4^{3-} .

Le résultat est donné directement en mg/l (**Rodier, 1996**).

b) Méthodes volumétriques**❖ Dureté de l'eau (TH)****• Mode opératoire**

- Prélever 100ml d'eau à analyser.
- Ajouter 2ml de solution tampon (PH=9.5 à 10) et quelques grainer d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rouge vieux au bleu.
- Le résultat est exprimé par l'équation suivante :

$$\text{TH}^{\text{0F}} = V \times 10$$

Soit **V** le volume de solution d'EDTA titré (**Detay, 1993**).

❖ Détermination du calcium (Ca^{2+})**• Mode opératoire**

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large.
- Ajouter 2 ml de solution d'hydroxyde et quelques graines d'indicateur colore.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet.
- Le résultat est exprimé en mg/l (**Rodier, 1996**).

❖ Détermination du magnésium (Mg^{2+})**• Mode opératoire**

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large.
- Ajouter 2 ml de solution de NH_4OH et une pincée de noir euriochrome T.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage de la couleur bleu V_2 .
- Le résultat est exprimé en mg/l (**Hakmi, 2002**).

❖ Détermination du résidu sec (RS)**• Mode opératoire**

- Tarer une capsule préalablement lavée, rincer avec de l'eau distillée et dessécher.
- Prélever 200 ml d'eau à analyser.
- Porter à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.
- Laisser refroidir pendant ¼ heure aux dessiccateurs.
- Peser immédiatement et rapidement.
- Le résultat est exprimé par la formule suivante :

$$\text{RS (mg/l)} = (\text{PP} - \text{PV}) \times 5 \times 1000$$

PP: le poids plein de la capsule.

PV: le poids vide de la capsule (**Rodier, 1996; Amino et Chausspied, 1983**).

❖ Détermination des matières en suspension (MES)**• Mode opératoire**

- Mettre les membranes filtrantes dans une étuve à 105°C pendant 20 minutes.
- Laisser refroidir dans le dessiccateur.
- Ensuite les peser soit p_1 : poids des membranes avant filtration.
- 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 20mn.
- Les laisser refroidir au dessiccateur puis les peser une 2^{ème} fois soit p_2 : poids des membranes après filtration.
- Le résultat est exprimé par la formule suivante :

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

p_1 : poids des membranes avant filtration.

p_2 : poids des membranes après filtration (**Rodier, 1996; Hakmi, 2002**).

❖ Détermination de la demande biochimique en oxygène DBO**• Mode opératoire****✓ Préparation de l'eau de dilution**

Mettre la veille de prélèvement, dans un récipient de 101ml de l'eau du robinet dans laquelle on plonge pendant 24h un aérateur pour la saturation en O₂ laisser reposer 12 h.

✓ **Préparation des flacons de mesure**

- Verser dans le flacon un peu d'eau de dilution puis la quantité prévue d'échantillon puis remplir le reste du flacon avec de l'eau de dilution ;
- Fermer le flacon hermétiquement d'une façon à ne pas laisser l'air pénétrer ;
- Répéter l'opération sur deux autres flacons ;

➤ **Mesure de temps**

- Doser l'O₂ dissous dans le flacon d'échantillon dilué (T° en mg/l).
- Placer les 02 flacons restant au thermostat DBO₅ 20°C et à l'obscurité pendant 5 jours.

➤ **Mesure au temps 5 jours**

Doser l'O₂ dans le flacon d'échantillon dilué restant (T₅ en mg/l).

La lecture se fait comme suit (**Rejsek, 2002**):

$$DBO = F (T_0 - T_5)$$

❖ **La demande chimique en oxygène DCO**

• **Mode opératoire**

Dans les tubes de DCO, on met :

- 10ml d'eau à analyser.
- 5ml de K₂Cr₂O₇.
- 3 à 4 granules régulateurs d'ébullition puis homogénéisé.
- 15 ml d'AgSO₄.
- Agiter soigneusement le tube.

La demande chimique en oxygène DCO est exprimée en mg /L et donnée par la formule suivante :

$$DCO = -8000 C_{fe} (V_t - V_e)/E$$

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

E : Volume d'essai pris en ml.

V_t : Volume du sel de Mohr nécessaire pour le virage de la couleur de l'échantillon témoin.

V_e : Volume du sel de Mohr nécessaire pour le virage de la couleur de l'échantillon (**Rejsek, 2002**).

Tableau 17: Tableau de Mac Grady (in Bouchaala, 2010).

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

Tableau18 :Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (in Bouchaala, 2010).

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultat	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H₂S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/Immédiat	
IND	Tryptophane	Production d'indole	Jaune	Marron foncé
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filter	Cytochrome-oxydase	Ox / 5-10 mn	
			Incolore	Anneau violet

Tableau 19: Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20NE (in Aouissi, 2010).

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
NO ₃	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	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-βD-galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			
MLT	Malate			
CIT	Citate			
PAC	Phényl-acétate			
Ox	Tetraméthyl-p-phenylènediamine	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

Tableau 20: Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api Staph (in Aouissi, 2010).

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	–
GLU	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose	Acidification à partir du carbohydate		
MNE	D-mannose			
MAL	Maltose			
LAC	Lactose			
TRE	D-tréhalose			
MAN	D-mannitol			
XLT	Xylitol			
MEL	D-melibiose			
NIT	Nitrate de potassium		Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 10 mn
			Incolore/rose	Rouge
PAL	β -naphtylac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A + ZYM B / 10 mn	
			Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			Incolore/ rose	Violet/rose
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydate	Rouge	Jaune
XYL	Xylose			
SAC	Saccharose			
MDG	α -méthyl-D- glucosamine			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet

Tableau 21 : Grille d'appréciation de la qualité des eaux superficielles d'après Monod (1989).

Température	Qualité	Classe
< 20°C	Normale	1A
20°C-22°C	Bonne	1B
22°C-25°C	Moyenne	2
25°C-30°C	médiocre	3

Tableau 22 : Grille d'appréciation de la qualité des eaux superficielles d'après Monod (1989).

Turbidité (NTU)	Qualité de l'eau
NTU < 5	Eau clair
5 < NTU < 30	Eau légèrement trouble
NTU > 50	Eau trouble

Tableau 23 : Qualité des eaux en fonction de la dureté d'après Monod (1989).

Dureté totale (°F)	Qualité de l'eau
0 à 7°	Eau très douce
7 à 14°	Eau douce
14 à 20°	Eau moyennement dure
20 à 30°	Eau assez dure
30 à 50°	Eau dure
50 et plus	Eau très dure

Résumé

Le cours d'eau "Oued-Zénati" se situe à la wilaya de Guelma. Il est menacé par une pollution intensive, vu à l'énorme volume des rejets des eaux usées qu'il reçoit de la ville d'Oued-Zenati.

Afin de déterminer la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau d'Oued-Zénati, trois points de prélèvement ont été choisis le long de l'Oued avec un échantillonnage pendant deux mois (mars et avril 2013).

Les résultats des analyses physico-chimiques ont montrés que la variation de la concentration des éléments est étroitement liée à l'interférence de plusieurs facteurs (pluies, substrat géologique, ...), alors que les résultats des analyses bactériologiques nous renseignent sur une pollution importante traduite par une forte charge en bactéries indicatrices de contamination fécale, et en bactéries pathogènes spécifiques. Cette charge bactérienne dans l'oued affecte l'environnement et constitue une menace majeure sur la santé de ses habitants.

Mots clés

Oued Zénati, rejets, pollution, qualité bactériologique, qualité physico-chimique.

ملخص:

مستجمعات المياه "وادي زناتي" تقع في ولاية قالمة و هي مهددة بتلوث مركز نتيجة الحجم الهائل من مياه الصرف التي تتلقاه من بلدية وادي زناتي.

لتحديد النوعية الفيزيائية والكيميائية و البكتريولوجية لمياه وادي زناتي اخترنا ثلاثة نقاط على طول الوادي حيث أن العينات اخذت خلال شهرين (مارس و أبريل 2013).

نتائج التحليل الفيزيائي و الكيميائي المجراة، بينت أن الاختلاف في تركيز العناصر مرتبط ارتباطا وثيقا لعدة عوامل (أمطار، ركيزة جيولوجية.....)، بينما نتائج التحليل البكتريولوجية بينت تواجد تلوث من خلال التراكم العالية للجراثيم البرازية و انواع أخرى ممرضة من البكتيريا هذا التلوث يؤثر على البيئة و يشكل خطرا كبيرا على السكان.

الكلمات المفتاحية

وادي زناتي، مياه الصرف، التلوث، النوعية البكتريولوجية، النوعية الفيزيائية والكيميائية.

Abstract.

The water shed "Oued Zenati" is located in the wilaya of Guelma. It is threatened by an intensive pollution, caused by the huge volume of waste water discharges it receives from the town of Oued Zenati.

To determine the physico-chemical and bacteriological quality of the water of Oued Zenati , three sampling points were selected along this water shed with sampling for two months (March and April 2013).

The results of physico-chemical analyses have shown that the variation of the concentration of elements is closely related to the interference of several factors (rainfall, geological substrate,...) while the results of bacteriological analyses tell us about pollution resulted in a significant high load indicator bacteria of fecal contamination ,and specific pathogen bacteria. The bacterial load in the river affects the environment and is a major threat to the health of people.

Keywords

Oued Zenati, waste water , pollution, bacteriological quality, physico-chemical quality.