

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie et Ecologie

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

Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de Garaet Sidi
Fritis (éco-complexe de zones humides de Guerbes Sanhadja Skikda Nord
Est Algérien).

Présenté par :

Halidi Houmadi

Membres de jury :

Président	: Dr. Kachi Slimen	(M. C.A)	université de Guelma
Examineur	: Mr. Bouchlegem El Hadi	(M.A.A)	université de Guelma
Promoteur	: Mr . Atoussi Sadek	(M.A.A)	université de Guelma

Juin 2013



REMERCIEMENTS

Louange à Dieu le Miséricordieux qui nous a éclairé la voix de la science et de la connaissance et par sa grâce on a réussi à achever ce travail.

*A mes chers parents, frères et sœurs, sans oublier monsieur Mouhouyouidine
Afraitane avec sa femme .*

*Mes vifs remerciements vont également à Monsieur **ATOUSSE Sadek**, maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, qui m'a fait l'honneur de me diriger et me guider avec patience et gentillesse tout au long de la réalisation de ce travail, mais aussi à Mr. Seyf Eddine M. , enseignant à l'université de constantine.*

*Mes reconnaissances, mes vives gratitudees et mes sincères remerciements vont à **Dr. KACHI Slime**, maître de conférences, d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Je tiens à remercier **Mr. BOUCHLEGUEM El Hadi**, maître assistant au département de biologie de l'Université de Guelma pour avoir exprimé leurs entières disponibilités à participer tant qu'examineur à ce mémoire.*

Mes sincères remerciements vont à tous les enseignants du département de Biologie de l'Université de Guelma, et les responsables de laboratoire du département surtout Mme Houria et aussi à tous les personnels de la direction de l'ADE (Guelma), mais aussi les personnels de laboratoire du STEP de Guelma, et sans oublier leur chef hiérarchique

*Enfin, nous souhaitons la chance et bonheur à tous nos collègues de la promotion sortante
2013 du Master Santé Eau et Environnement.*



SOMMAIRE

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : Généralité sur les zones humides et description du site	
1. Généralité sur les zones humides	3
1. Définition	3
2. Hydrologie	3
3. Les sols des milieux humides.....	4
3.1.Les sols minéraux	4
3.2.Les histosols : des sols organiques spécifique des milieux humides	4
4. Biodiversité	5
5. Qualité physicochimique	5
5.1. Les paramètres physiques.....	5
5.1.1.La turbidité.....	5
5.1.2. Le potentiel d'hydrogène (pH).....	5
5.1.3. La température.....	5
5.1.4.La conductivité	6
5.1.5.Le résidus sec.....	6
5.1.6.Les matières en suspensions.....	6
5.1.7.Les principaux paramètres géochimiques	6
5.1.7.1. Le chlorure	6
5.1.7.2. Le sulfate	7
5.1.7.3. Le bicarbonate	7
5.1.7.4. Le sodium	7
5.1.7.5. Le magnésium	7
5.1.7.6. Calcium	7
5.1.8.Paramètres de pollutions	8
5.1.8.1. Les orthophosphates.....	8
5.1.8.2. L'azote ammonical.....	8
5.1.8.3. Le nitrite	8
5.1.8.4. Le nitrate	8
5.1.8.5. Oxygène.....	9
5.1.8.6. Les matières organiques	9

6. Qualité bactériologiques	9
6.1. Les coliformes totaux.....	9
6.2. Les coliformes fécaux.....	10
6.3. Les entérocoques.....	10
6.4. Les germes pathogènes.....	10
7. Impact sanitaire pour la contamination microbienne des eaux de surface.....	11
8. Les valeurs des zones humides	11
8.1. Valeurs d'usage direct	11
8.2. Valeurs d'usage indirect	11
8.3. Les valeurs de non-usages.....	11
9. Enjeux de la dynamique anthropique	12
9.1. Enjeux lie à la qualité de l'eau	
9.2. Enjeux lie à la quantité de l'eau.....	12
I. Description du site	13
1. Introduction	13
2. Situation géographique.....	13
3. Les principaux sites.....	14
3.1. Garaet Béni M'hamed	14
3.2. Garaet El Haouas.....	14
3.3. Garaet Nechaa Khallaba.....	14
3.4. Garaet Boumaiza.....	14
3.5. Garaet Chichaya.....	14
3.6. Garaet Sidi Makhlouf.....	15
3.7. Nechaa Demnat Ataoua.....	15
3.8. Garaet Hadj Taher.....	15
3.9. Présentation du site d'études (Garaet Sidi Fritis).....	16
3.9.1. Caractère géologique.....	16
3.9.2. Caractère hydrologique.....	16
3.9.3. Etude climatique.....	17
3.9.3.1. La température.....	18
3.9.3.2. La précipitation	18
3.9.4. Exploitation du site.....	18
3.9.4.1. L'agriculture	18
3.9.4.2. Le pâturage.....	19
4. Flore et faune de la région	19
4.1. Faune.....	19
4.2. Flore	20

Chapitre II Matériel et méthodes	21
Matériel	22
2. Méthodes	22
2.1. Choix de station et prélèvement.....	22
2.2. Site et période de prélèvement.....	22
2.3. Méthode d'échantillonnage.....	23
2.3.1. Conditionnement et transport des échantillons	23
2.4. Les analyses	23
2.4.1. Les paramètres physicochimiques.....	24
2.4.1.1. Les paramètres mesurés sur terrain (La pH, la conductivité, la température)	24
2.4.1.2. Les analyses de laboratoire.....	24
a) Le residu sec	24
2.4.1.2.1. Paramètres déterminés par méthode volumétrie	24
a) Principe de la méthode	24
b) détermination de l'alcalinité simple (TA) et complexe (TAC).....	25
c) Détermination du chlorure (Cl).....	25
d) Dosage du calcium (Ca).....	25
e) Dosage du magnésium (Mg+).....	26
f) Détermination de la dureté totale (TH)	26
2.4.1.2.2. la spectrométrie d'absorption moléculaire :	26
a) principe de la méthode	26
b) Dosage de l'ammonium.....	27
c) Dosage des nitrites	27
d) Dosage du nitrate.....	27
e) Dosage des orthophosphates	27
f) Détermination des Sulfates.....	28
2.4.1.2.3. Méthodes par oxydoréduction	28
a) Le demande biochimique en oxygène DBO5.....	28
b) Demande chimique en oxygène DCO.....	29
2.4.2. Les analyses bactériologiques.....	29
2.4.2.1. Méthode générale de filtration sur membrane	29
2.4.2.2. Recherche et dénombrement des germes totaux à 22°C et à 37°C.....	30.
2.4.2.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux.....	31
2.4.2.4. Dénombrement des streptocoques fécaux.....	32
2.4.2.5. Recherche et dénombrement des ASR.....	33
2.4.2.6. Recherche des germes pathogènes	34
2.4.2.6.1. Les tests d'orientations et d'identification.....	34
a) Examens macroscopiques	34
b) Examens microscopiques	34
c) Le test catalase	34
d) Test oxydase	35
e) Test de nitrate réductase	35
2.4.2.6.2. La recherche de <i>staphylococcus</i>	35

Chapitre III : Résultats et discussions	36
1. La qualité physico-chimique de l'eau.....	37
1.1. Les analyses préliminaires.....	37
1.1.1. La turbidité.....	37
1.1.2. Les résidus secs.....	37
1.2. Les paramètres physicochimiques.....	38
1.2.1. La température.....	38
1.2.2. Le potentiel d'hydrogène (pH).....	39
1.2.3. La conductivité électrique.....	39
1.2.4. Le potentielle d'oxydoréduction.....	40
1.3. Les paramètres indicateurs de pollutions	40
1.3.1. Les orthophosphateS.....	40
1.3.2. L'ammonium.....	41
1.3.3. Nitrite.....	42
1.3.4. Nitrate.....	42
1.3.5. Demande chimique en oxygène (DCO) et demande biologique en oxygène (DBO5).....	43
1.4. Les paramètres géochimiques	44
1.4.1. Le bicarbonate (HCO ₃ ⁻).....	44
1.4.2. Taux de sels dissouts	45
1.4.3. Titre alcalin (TA) et titre alcalin complet (TAC).....	45
1.4.4. Le Calcium.....	46
1.4.5. Magnésium (Mg ²⁺).....	46
1.4.6. Dureté ou titre hydrotimétrique (TH).....	47
1.4.7. Chlorure (Cl ⁻).....	47
1.4.8. Sulfate.....	48
1.4.9. Le fer (Fe ²⁺).....	48
2. Resultats des analyses bactériologiques.....	49
2.1. La recherche et denombrement des germes.....	49
2.1.1. Germes totaux.....	49
2.1.2. Les coliformes totaux	50
2.1.3. Recherche et dénombrement coliforme thermo-tolérant (<i>E.coli</i>)	50
2.1.4. Les streptocoques	52
2.2. Les germes pathogènes.....	52
2.2.1. Les staphylococcus	52
2.2.2. Les entérobactéries.....	53
Conclusion	56
Références bibliographiques.....	58
Annexes	

Liste des abréviations

- : Caractère négatif	GT : Germes totaux
% : Pour cent	Gtte : Goutte
+ : Caractère positif	h : Heure
± : Plus ou moins	H₂O : Eau
° K : Degré Calvin	H₂O₂ : Eau oxygéné
µm : Micromètre	H₂S : Hydrogène sulfuré
µs : Micro-Siemens	ha : Hectare
µs/cm : Micro-Siemens par centimètre	IPA : Institut Pasteur d'Algérie
ADE : Algérienne des eaux	ISO : Organisation internationale de standardisation
Afnor : Norme française	Km : Kilomètre
Ann : Annexe	m : Mètre
ASR : Anaérobies sulfitoréducteurs	m/s : Mètre par seconde
BEA : Bile Agar Esculine	MES : Matière en suspension
Ca⁺ : Calcium	mg/l : Milligramme par litre
CF : Coliforme fécaux	mg/l : Milligramme par litre
Cl⁻ : Chlorure	Mg⁺ : Magnésium
cm : Centimètre	mm : Millimètre
CSR : Clostridium sulfito-réducteur	mn : Minute
CT : Coliforme totaux	N : Nord
d : Variable	Na cl : Chlorure de sodium
E : Est	Na₂SO₃ : Sulfite de sodium
E. coli : <i>Escherichia coli</i>	NH₃ : Ammoniac
EDS : Eau distillée stérile	NH₄⁺ : Ammonium
ENASEL : Entreprise nationale des sels	nm : Nanomètre
Fig : Figure.	

NO₂⁻ : Dioxyde d'azote

NTU: Nephelometric turbidity unit

° : Degré

O₂ : Oxygène

°C : Degré Celsius

°F : Degré français

OMS : Organisation mondiale de santé

ONA : office national d'assainissement

ONPG: Ortho-Nitrophényl-β-D-Galactosidase

pH: Potentielle Hydrogène

RM : Rouge de méthyle

RN : Route Nationale

S : Station

SF : Streptocoque Fécaux

Sp : Espèce

T : Température

Tab : Tableau

TDA : Tryptophane décarboxylase

TDS : Taux des sels dissous

TGEA : Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar

TH : Dureté totale

TSI : Triple Sagar Iron

TSI : Trophic State Index,

UFC : Unité formant colonie

VF : Viande foie

VP : Voges Proskauer

EDTA : Acide ethylenediamine tetracetique

Liste des figures :

Numéros	Titres	Pages
Figure 1	Relation entre une définition de référence de zones humides et les critères, les indicateurs généraux ou spécifiques liés.	3
Figure 2	Complexe de zones humides de Guerbes Sanhadja.(Boumezbeur,2001)	13
Figure 3	vue générale sur le site d'étude (Garaet Sidi Fritis)	16
Figure 3	Localisation des points de prélèvement:(source, Google earth), S1 : station 1 ; S2: station 2 .	20
Figure 4	Données climatiques de la station météorologique de la Wilaya de Skikda (1997-2011)	17
Figure 5	Moteur de pompage d'eau sur Garaet Sidi Fritis (prise le 20 mars 2013 par H.houmadi)	18
Figure 6	population des oiseaux sur le site de Guaraet Sidi Fritis , 16/03/2013	19
Figure 7	Localisation des points de prélèvement :(source, Google earth), S1 : station 1 ; S2: station 2 .	22
Figure 8	Variation spatio-temporelles de la turbidité de l'eau	37
Figure 9	variation spatio-temporelle des résidus secs	38
Figure 10	Variation de la température	38
Figure 11	Variation spatio-temporelle du pH	39
Figure 12	variation de la conductivité	39
Figure 13	Variation du potentiel d'oxydoréduction	40
Figure 14	variation spatiale de l'orthophosphate	41
Figure 15	Variation de teneur en ammonium dans l'eau	41
Figure 16	Variation de la teneur en nitrite dans l'eau	42
Figure 17	Variation de la teneur en nitrate dans l'eau	43
Figure 18	variation spatiale de la DBO5 et DCO	43
Figure 19	variation spatiale de la DBO5/DCO	43
Figure 20	Variations spatiaux temporelles des hydrogénocarbonates	44
Figure 21	variation spatiaux temporelles du taux de sels dissouts	45
Figure 22	variation de TAC	45
Figure 23	variation de TA	45
Figure 24	Variation spatiaux temporelle de la teneur en calcium	46
Figure 25	Variation du taux de magnésium dans l'eau	46
Figure 26	Variation spatio-temporelle de la dureté	47
Figure 27	variation spatio-temporelle de chlorure	47
Figure 28	variation spatiale de sulfate	48
Figure 29	variation spatiale du fer	48
Figure 30	Recherches et dénombrement des micro-organismes revivifiables de l'eau	49
Figure 31	variation spatio-temporelle des coliformes totaux	50
Figure 32	Evaluation de coliformes thermotolerantes à 44°C	50
Figure 33	galerie classique pour l'identification d' <i>E. coli</i>	51
Figure 34	variation spatio temporelle des streptocoques fécaux	52
Schemas 1	coupe schematique d'un appareil de filtration sur membrane	30

Liste des tableaux :

Numéros	Titres	Pages
Tableau 1	Ensembles de principaux matériels utilisés	22
Tableau 2	Coordonnées géographique des sites de prélèvement	23
Tableau 3	les différents laboratoires et les analyses effectuées	23
Tableau 4	Valeurs enregistrées de DBO5 et DCO pendant le mois de mars et avril	43
Tableau 5	Résultats d'identification biochimique d' <i>E. coli</i>	51
Tableau 6	observation macro et microscopique de staphylocoques	52
Tableau 7	résultat de l'observation macro et microscopique des entérobactéries	53
Tableau 8	Aspect des Entérobactéries courantes sur TSI	Annexe2
Tableau 9	Tableau de lecture de l'APi20E	Annexe2
Tableau 10	Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température	Annexe2
Tableau 11	Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique	Annexe2
Tableau 12	Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit)	Annexe2
Tableau 13	Qualité des eaux en fonction de la quantité de Magnésium	Annexe2
Tableau 14	Grille de qualité des eaux en nitrates.	Annexe2
Tableau 15	Grille de la qualité des eaux en nitrite	Annexe2
Tableau 16	Qualité des eaux en fonction de la dureté	Annexe2
Tab17	Présentation et définition de quatre classes de qualité des eaux de surface (d'après ANRH,2000)	Annexe2
18	Echelle de carlson concluant au state trophique	Annexe2

INTRODUCTION GENERALE

Introduction

Trop souvent, le rôle multifonctionnel et l'interdépendance des zones humides ont été constatés et compris après leur destruction. Les problèmes socio-économiques et écologiques provoqués par la disparition, ou la dégradation de ces milieux vont de l'amplification catastrophique des crues, à l'érosion accélérée du littoral ou des berges, en passant par l'altération de la qualité de l'eau.

Les zones humides contribuent au maintien et à l'amélioration de la qualité de l'eau en agissant comme un filtre épurateur :

- **filtre physique**, car elles favorisent les dépôts de sédiments y compris le piégeage d'éléments toxiques tels que les métaux lourds, la rétention des matières en suspension... ;
- **filtre biologique**, car elles sont aussi le siège privilégié de dégradations biochimiques de composés organiques.

Elles jouent aussi un rôle déterminant dans la régulation des régimes hydrologiques. Le comportement des zones humides à l'échelle d'un bassin versant peut être assimilé à celui d'une éponge. Elles "absorbent" momentanément l'excès d'eau puis le restituent progressivement lors des périodes de sécheresse. Ce faisant, elles diminuent l'intensité des crues et soutiennent les débits des cours d'eau en période d'étiage (basses eaux). Certaines d'entre elles participent à l'alimentation en eau des nappes phréatiques superficielles.

La position géographique de l'Algérie, sa configuration physique et la diversité de son climat lui confèrent une importante richesse de zones humides particulièrement dans la partie nord-est où se rencontrent de nombreux lacs d'eau douce, mares, marais, aulnaies, oueds;... formant une mosaïque de biotopes remarquable.

Le complexe humide de Guerbes-Sanhadja Nord-est Algérien, site classé Ramsar depuis 2002, est l'un des milieux le plus important au niveau Nationale et Internationale. Malgré son importance peu de travaux ont été menés dans cette zone. Thomas (1975), a étudié quelques sites dans la région de Guerbes-Sanhadja : Demnat Ataoua, lac Sidi Freitis, « lac » de la Masardelle et un étang temporaire à l'Est de l'embouchure de l'oued Kébir. Il signale que des botanistes l'ont précédé (Letournaux et la Perraudière en 1861, Ghathier - Lievre en 1927 et Maire en 1934 sur le site du lac Sidi Freitis). Selon de Bélaire (1998) aucune autre visite de botanistes dans cette région n'a été signalé. Par contre, depuis 1975, cette région a fait l'objet d'études hydrogéologiques avec Khamar (1981), poursuivie en 1990 par Majour et Ouelaa.

Notre contribution a pour but la caractérisation physico-chimique et bactériologique de l'eau d'un site de la dépression humide du complexe de Guerbes-Sanhadja (Sidi Fritis).

La démarche adoptée consiste à faire un aperçu générale des zones humides suivi d'une présentation de la zone d'étude ainsi que les techniques d'échantillonnages réalisés sur site et la description des différentes méthodes utilisés, d'une part et d'autre part les résultats analytiques et leurs interprétations. Nous terminerons cette présentation par une conclusion et quelques recommandations.

CHAPITRE I:

GÉNÉRALITÉ SUR LES ZONES

HUMIDES ET DESCRIPTION DU SITE

I. Généralité sur les zones humides :

1. Définitions :

D'après le texte de RAMSAR, « les zones humides sont des étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eau naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres ».(Laurant T. 2003)

Le point commun de ces différents milieux se trouve être leur caractère de transition entre la terre et l'eau, qui leur assure une biodiversité souvent remarquable. (Laurant T. 2003)

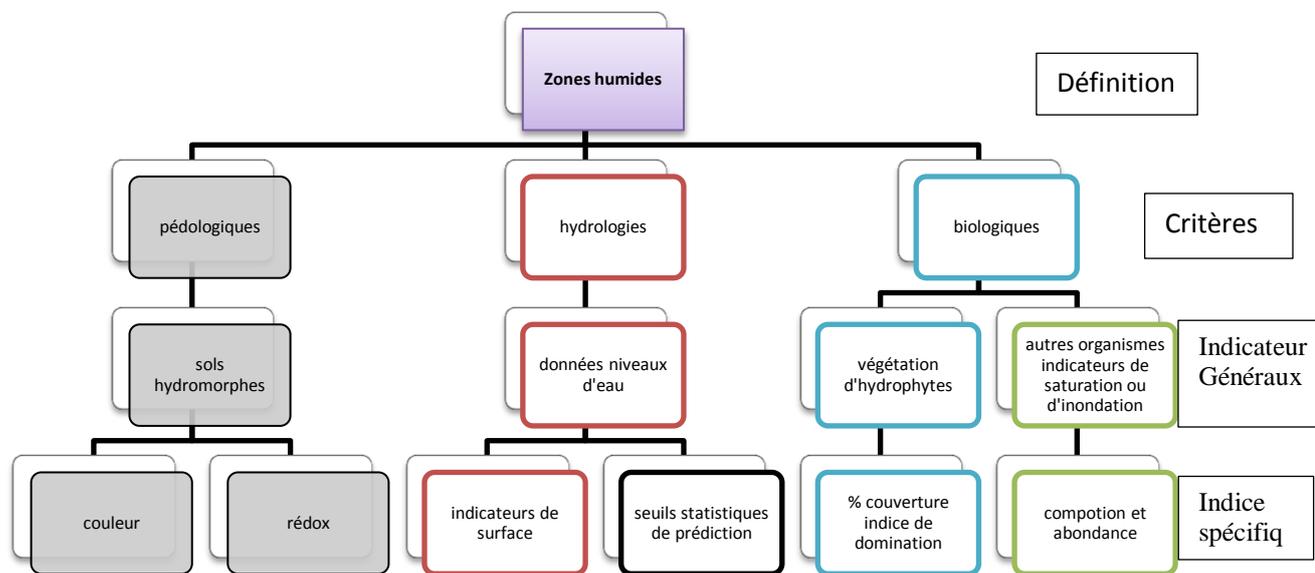


Fig 1: Relation entre une définition de référence de zones humides et les critères, les indicateurs généraux ou spécifiques liés.

2. Hydrologie

Le niveau de l'eau, la fréquence et la durée des submersions, l'importance et la direction des différents flux sont autant de facteurs qui conditionnent la genèse des sols et leur fonctionnement biogéochimique de même que la composition et l'organisation des Peuplements végétaux et animaux.

Les entrées, la rétention et les sorties de l'eau peuvent être très, différentes d'un système à un autre. Ces différences sont liées aux conditions climatiques mais elles sont aussi étroitement assujetties aux caractéristiques géomorphologiques des divers milieux (G. Barnaud, 2007).

Trois types d'apports peuvent prendre part à l'approvisionnement en eau des milieux humides : les précipitations, les eaux de surfaces, et les eaux souterraines. Si les réservoirs qui constituent les milieux humides bénéficient d'apports, ils sont également soumis à des pertes d'eau .celles-ci s'effectuent à différentes échelles de temps et selon plusieurs voies possibles : vers l'atmosphère, vers les eaux de surface et vers les écoulements souterrains.

3. Les sols des milieux humides :

Les sols qui se forment et évoluent dans les conditions spécifiques des milieux humides font partie d'une grande catégorie de sols dits « hydromorphes » en fonction de la nature et de l'âge des formations minérales sur lesquelles ils se développent, de l'amplitude des variations du niveau de l'eau, de la composition chimique de l'eau et du type de couvert végétale. On distingue deux grandes catégories de sols formés en milieu humide : des sols dites minéraux » et des sols « organiques ou histosols » (G. Barnaud, 2007).

3.1. Les sols minéraux :

Dans cette catégorie sont rassemblés différents types de sols dont la teneur en matières organiques dans les horizons qui les caractérisent est au maximum de 30 % environ. Les horizons humifères situés à la partie supérieure de ces sols, comme les horizons organo-minéraux sous-jacents, se différencient principalement par l'intensité et durée des conditions d'engorgement.

3.2. Les histosols : des sols organiques spécifique des milieux humides :

Les sols organiques ou histosols (du grec histos = tissu) ne se développent que dans des milieux humides et contiennent au moins 30 % de matières organiques. Ils sont donc constitués essentiellement de matière organique (tourbe) et d'eau et se forment dans des dépressions d'altitude ou de plaine, dans des lacs ou des étangs en bordure des cours d'eau ou du littoral, en conditions d'eaux stagnantes ou à faible écoulement.

4. Biodiversité

Il existe plusieurs espèces qui dépendent des zones humides au moins pendant une partie de leur vie. Pour un nombre considérable d'entre elles l'eau et les zones humides sont absolument nécessaires pour l'accomplissement du cycle biologique de ces espèces qui en sont donc dépendants. Elles constituent l'une et les autres la biodiversité de ces écosystèmes riches en biomasse.

5. Qualité physicochimique et bactériologique des 'eaux de surface :

Les caractéristiques physico-chimiques des eaux jouent un rôle primordial dans l'établissement des communautés animales et végétales : la température, l'éclairement, la teneur en nitrate et en phosphates, surtout la teneur en oxygénation sont autant de paramètres qui interfèrent sur la présence de telle espèce animale ou végétale. [1]

5.1. Paramètres Physicochimies :

5.1.1. La turbidité :

La turbidité est liée à la présence de particules organiques diverses, d'argile, de colloïdes, de plancton; elle peut être favorisée par la pluviométrie.

5.1.2. Le potentiel d'hydrogène (pH) :

Dans les eaux naturelles, c'est principalement les deux équilibres ; l'acide carbonique qui imposent la valeur du pH, bien que d'autres espèces peuvent avoir un effet non négligeable comme les équilibres de l'acide phosphorique, de l'ion ammonium ou certaines matières organiques. (**J. Rodier, 2009**).

Il est un facteur important qui influence directement sur la prolifération des micro-organismes dans l'eau. Ces dernières vivent normalement à un pH voisin de la neutralité. (Karaali Ryma et al, **2009**)

5.1.3. La température :

La température des eaux de surfaces varie selon plusieurs facteurs saisonniers. Elle est un facteur très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques. Elle influence aussi à la physiologie des organismes aquatiques.

5.1.4. La conductivité (C.E) :

La conductivité électrique constitue un moyen de mesure commode et rapide, utilisé pour évaluer la minéralisation ou la salinité d'une eau. Les valeurs de la conductivité traduisent l'état des milieux. Elle varie en fonction de la quantité de sel dissout mais aussi de la température (Rodier J. 1996).

5.1.5. Le Résidu sec (matière minérale) :

La détermination du résidu sur l'eau non filtrée permet d'évaluer la teneur en matière dissoute et la matière en suspension non volatiles ; la mesure après filtration correspond aux matières dissoutes. Ces valeurs peuvent être recoupées à partir de la mesure de la conductivité. Les valeurs obtenues permettent d'apprécier la minéralisation de l'eau. (J. Rodier, 2009)

5.1.6. La matière en suspension (MES) :

La matière en suspension représente l'un des paramètres globaux de pollution les plus facilement perceptible mais l'un des plus difficilement mesurables en continu. En fonction de la taille des particules, on distingue les matières grossières ou décantables (diamètre supérieur à 100µm) et les matières en suspension (A. Bissakett et al, 2012). ses particules sont d'origine organique ou sédimentaire.(AG. Boudinard,2009)

5.1.7. Les principaux paramètres géochimiques :

5.1.7.1.Le chlorure:

Les teneurs en chlorures des eaux sont principalement liées à la nature des terrains traversés. Ainsi, les eaux courantes exemptes de pollution ont une teneur généralement inférieure à 25 mg/L.

L'OMS recommande une teneur en chlorures dans l'eau destinée à la consommation humaine une valeur guide de 250 mg/l, pour des considérations gustatives et des risques de corrosion.

Pour l'usage agricole, les teneurs en chlorures peuvent limiter certaines cultures. Dès que la teneur en chlore de la solution du sol dépasse une certaine valeur, le chlore est absorbé par les racines et s'accumule dans les feuilles. Il provoque des brûlures débutant à la pointe des feuilles âgées et progressant vers l'arrière en suivant les bords du limbe. (J. Rodier, 2009)

5.1.7.2. Les sulfates

La concentration en ion sulfate des eaux naturelles est très variable. Dans les terrains ne contenant pas une proportion importante de sulfates minéraux, elle peut atteindre 30 à 50 mg/l.

Sous l'action des bactéries sulfato-réductrices, cet élément peut se former des sulfures donnant lieu à des précipités de sulfure de fer.

En ce qui concerne l'écotoxicité éventuelle des sulfates, certains auteurs qualifient de « normales » les eaux présentant une concentration en sulfates inférieure ou égale à 20 mg/l et « particulières, plus ou moins séléniteuses ou polluées » les eaux de concentration comprise entre 20 et 120 mg/L.

5.1.7.3. Bicarbonates :

Les carbonates totaux dissous dans les eaux sont liés par des équilibres acides-base à l'acide carboniques. (AG. Bissakett, 2012)

5.1.7.4. Le sodium :

Le sodium est un élément constant dans l'eau, toutefois, les concentrations peuvent être extrêmement variables allant de quelques dizaines de milligrammes à 500 mg/L et même au-delà.

5.1.7.5. Le magnésium :

L'abondance géologique, sa grande solubilité, sa large utilisation industrielle font que les teneurs dans l'eau peuvent être importantes, allant de quelques milligrammes à, quelquefois, plusieurs centaines de milligrammes par litre.

La teneur dépend de la composition des roches sédimentaires rencontrées. Le magnésium constitue un élément significatif de la dureté de l'eau ; sa teneur dépasse rarement 15 mg/L en Europe. Il est présent sous forme de carbonates et d'hydrogénocarbonates.

5.1.7.6. Le calcium :

Le calcium est un métal alcalinoterreux extrêmement répandu dans la nature et en particulier dans les roches calcaires sous forme de carbonates. Composant majeur de la dureté de l'eau, le calcium est généralement l'élément dominant des eaux potables. Sa teneur varie essentiellement suivant la nature des terrains traversés. Il existe surtout à l'état d'hydrogénocarbonates et en quantité moindre, sous forme de sulfates, chlorures, etc. (J. Rodier, 2009)

5.1.8. Les paramètres de pollution :

5.1.8.1. phosphates (PO_4^{3-}) :

La présence naturelle du phosphate dans les eaux est liée aux caractéristiques des terrains traversés et à la décomposition de la matière organique. Des teneurs supérieures à 0,5 mg/L doivent constituer un indice de pollution.

Les eaux de surface ou de nappes peuvent être contaminées par des rejets industriels et domestiques ou par le lessivage des terres cultivées renfermant des engrais phosphatés ou traités par certains pesticides.

Le phosphore joue un rôle important dans le développement des algues, dans les eaux des lacs, où il contribue à l'eutrophisation. Les sources d'éléments « eutrophisants » peuvent être diffuses ou ponctuelles.

5.1.8.2.L'azote ammoniacal :

L'azote ammoniacal des eaux superficielles peut avoir pour origine la matière organique, les rejets industriels, les engrais, etc. Sa présence est à rapprocher des autres éléments azotés identifiés dans l'eau : nitrites et nitrates, et des résultats de l'analyse bactériologique.

En ce qui concerne la toxicité de l'ammoniaque pour la faune piscicole d'eau douce, c'est la forme ammoniacale non ionisée (NH_3) dont la proportion dépend du pH et de la température. Le seuil de sensibilité à long terme quelle que soit la vie piscicole serait de 0,3 mg/L de NH_3 . (J. Rodier, 2009)

5.1.8.3.Le nitrite :

En l'absence de pollution, il n'y a pas ou très peu de nitrites dans les eaux et dans les zones où l'autoépuration est active ; les teneurs se maintiennent à des niveaux très faibles (de l'ordre de 0,01 mg/L). En présence de quelques dixièmes de mg/l la pollution est sensible, celle-ci devient significative au-delà de 1 mg/l.

Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiant. Une eau qui renferme des nitrites est à considérer comme suspecte car lui est souvent associée une détérioration de la qualité microbiologique. (J. Rodier, 2009)

5.1.8.4. Nitrate :

Toutes les formes d'azote sont susceptibles d'être à l'origine des nitrates par un processus d'oxydation biologique. Dans les eaux naturelles non polluées, le taux de nitrates est très

variable suivant la saison et l'origine des eaux ; il peut varier de 1 à 15 mg/l et une concentration de 2 ou 3 mg/l peut être considérée comme normale.

Les rejets des collectivités et occasionnellement de certaines industries peuvent aussi concourir à l'enrichissement en nitrates des eaux superficielles. Les nitrates participent aux phénomènes d'eutrophisation; en période de faible oxygénation (période estivale) les nitrates peuvent jouer le rôle de donneurs d'oxygène et éviter l'anaérobiose. (J. Rodier, 2009)

5.1.8.5. Oxygène dissout :

L'oxygène, toujours présent dans l'eau, n'en est pas un élément constitutif. Sa solubilité est fonction de la température, de la pression partielle dans l'atmosphère et de la salinité. Il est nécessaire de chercher la cause de toute variation ; celle-ci pouvant être fonction de la présence des végétaux et des phénomènes de photosynthèse, des matières organiques oxydables, des organismes et des germes aérobies, ainsi que de la perturbation des échanges atmosphériques à l'interface. (J. Rodier, 2009)

5.1.8.6. La matière organique :

La matière organique des eaux naturelles est souvent assimilée en totalité à la matière organique naturelle (MON), bien que certains micropolluants présents dans les milieux aquatiques soient d'origine anthropique. En fait, c'est au moins 90 % de la charge en matières organiques des eaux naturelles qui est représentée par la MON et son intérêt est primordial pour la production d'eau potable.

D'une façon générale, une teneur élevée en matières organiques devra toujours faire suspecter une contamination microbienne ou autre. (J. Rodier, 2009)

6. Qualité bactériologique

Smith (1895) a prouvé que la présence de la bactérie, alors connue sous le nom de coli bacille communs, pourrait être considérée comme indication ou symptôme valable de pollution.

6.1. Coliformes totaux :

La définition suivante a été adoptée par l'Organisation internationale de standardisation (ISO). Le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, asporogènes, Gram négatifs, oxydase négatifs, anaérobies facultatives, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents possédant des activités inhibitrices de

croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C. (J. Rodier, 2009)

Ce groupe comprend entre autres les genres : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia*. Ces coliformes sont déchargés dans des nombres élevés en résidus humains et animaux, mais ne sont pas tous d'origine fécale. Ces indicateurs sont utiles pour déterminer la qualité des eaux. (G.Bitton, 2005)

6.2. Coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux ou les coliformes thermotolérantes incluent toutes les coliformes qui peuvent fermenter le lactose à 44.5° C.

Les coliformes sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance. (G. Bitton, 2005)

Cependant, des sources humaines et animales de contamination ne peuvent pas être différenciées. Quelques investigateurs ont suggéré l'utilisation unique de *E. coli* car un indicateur de pollution fécale pendant qu'il peut être facilement distingué des autres membres du groupe de coliforme fécal. (G. Bitton, 2005)

6.3. Les entérocoques:

Sous cette dénomination générale, il faut entendre l'ensemble des streptocoques possédant la substance (acide teichoïque) antigénique caractéristique du groupe D de Lancefield, c'est-à-dire essentiellement : *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae*, *Streptococcus bovis*, *S. suis* et *S. equinus*.

Ces streptocoques du groupe D sont généralement pris globalement en compte comme des témoins de pollution fécale, car tous ont un habitat fécal.

6.4. Les germes pathogènes

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

7. Impact sanitaire des contaminations microbiennes :

Les impacts associés à la contamination microbiologique des eaux de Garaet affectent la qualité de l'eau elle-même mais aussi celle des cheptels présents sur les sites soumis aux contaminations. C'est l'homme : l'usager de ces eaux pour les batailles ou l'agriculture. L'eau souillée contient une large gamme de germes, virus et bactéries susceptibles de provoquer des troubles infectieux. Certaines espèces de bactéries peuvent être à l'origine de trouble infectieux, de gastro-entérites ou d'intoxication. (Duncan Mara et Nigel Horan, 2003)

8. La valeur des zones humides

Classiquement, les démarches d'évaluation économique séparent les valeurs d'« usage » et les valeurs de « non-usage ». Les valeurs d'usage comprennent des valeurs d'« usage » directe et des valeurs d'« usage indirect ».

8.1. Les valeurs d'usage direct :

Correspondent aux bénéfices retirés des biens prélevés dans les milieux humides tels que les productions agricoles, le bois, les produits de la pêche et de la chasse. Certains de ces produits constituent des ressources renouvelables, leur renouvellement étant assuré par des processus naturels à condition que les conditions qu'ils requièrent soient maintenues.

D'autres sont non renouvelables, comme les matériaux alluvionnaires extractibles dans les lits majeurs des cours d'eau ou la tourbe dont les stocks, en cas d'exploitation intensive, ne peuvent pas se reconstituer à l'échelle des temps humains.

8.2. Les valeurs d'usage indirect :

S'appliquent aux différents services rendus par les milieux humides tels que le contrôle des crues, l'épuration des eaux...

8.3. Les valeurs de non-usage

Sont affectées à des propriétés ou des qualités des milieux auxquelles des individus peuvent être attachés sans pour autant en faire usage. Elles recouvrent habituellement trois catégories de valeurs :

- une valeur d'option, attribuée au fait de pouvoir conserver des biens et des services actuels ou potentiels (usages médicaux de certaines plantes, par exemple) en gardant la possibilité de choisir l'usage que l'on fera de la ressource dans le futur.

- une valeur d'existence qui reconnaît de la valeur à l'existence même d'un milieu humide ou à la préservation d'une de ses ressources ou services, sans envisager pour autant d'en faire usage.
- Une valeur de legs qui correspond à celle que l'on attribue au fait de pouvoir laisser un environnement naturel en bon état aux générations futures.

9. Enjeu de la dynamique anthropique :

9.1. Enjeu lié à la qualité de l'eau :

Le caractère nuisible des rejets anthropiques dans l'eau est double : soit une destruction directe de la chaîne alimentaire par la pollution, soit un dérèglement subséquent par l'eutrophisation. (Laurant T. 2003) :

Au fil des siècles et surtout au cours des dernières décennies, les usages traditionnels des milieux humides ont évolué : l'abandon, l'artificialisation de la végétation, l'intensification des pratiques agricoles, la pollution sont autant de facteurs qui ont entraîné une dégradation de la structure du fonctionnement de ces écosystèmes (G. Barnaud, 2007).

9.2. Enjeu lié à la quantité de l'eau :

Les risques d'origine anthropique peuvent concerner le manque d'eau, en particulier dans les régions semi-arides, où le prélèvement humain est compté, ou bien, à l'inverse, l'excès d'eau, soit par accident, soit par augmentation chronique des crues, qui concerne spécialement les pays industriels. (Laurant T. 2003)

Le comblement et le remblaiement sont deux types d'interventions qui aboutissent à la destruction ou à de graves dégradations de milieux humides à l'intérieur des terres comme sur le littoral. La poldérisation et le drainage artificiel sont également destinés à étendre les superficies de terres cultivables (G. Barnaud, 2007).

II. Description du site

1. Introduction :

Le complexe de zones humides de la plaine de Guerbes Sanhadja est une grande plaine littorale d'une superficie de 42100 ha, bordée à l'ouest par les collines côtières de Skikda et à l'Est par le massif forestier côtier de Chetaïbi. Les altitudes de la zone se situent entre 0 et 200 mètres, 48,5% des terres ont une pente inférieure ou égale à 3%. Les principales unités lithologiques sont essentiellement formées de dépôts éoliens et alluviaux. Le caractère remarquable de la flore et de la faune de cette région a pour origine : la diversité géomorphologique, et son emplacement en un carrefour bioclimatique, entraînant une richesse élevée de la biodiversité. Le site est classé Ramsar depuis 2002.

2. Situation géographique

Complexe de zones humides de la plaine de Guerbes-Sanhadja, est de superficie 42.100 hectares, et une altitude de 0-200 mètres, avec les Coordonnées géographiques : x : 7°8'E à 7°25'E (longitude) y : 36°46' à 37° N (latitude).

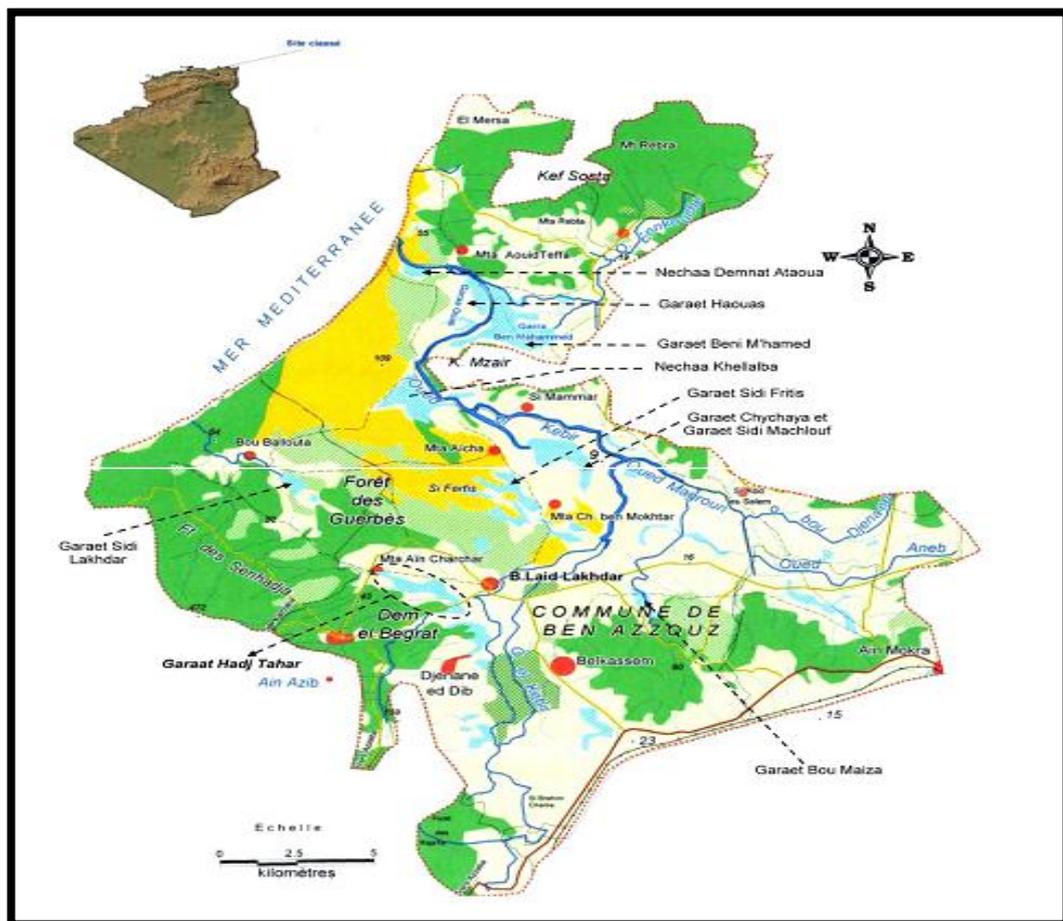


Fig 2 : Complexe de zones humides de Guerbes Sanhadja. (Boumezbeur,2001)

3. Principaux sites :

3.1. Garaet Béni M'hamed:

Ce marais salé (36° 57' N, 7° 16' E) occupe une surface d'environ 380ha, il est situé sur la rive droite de l'estuaire de Oued El Kébir . Il est dominé par des plantes halophytes et il est alimenté régulièrement par Oued El Kébir. Son sol est composé principalement d'alluvions. (Samraoui et De Belair, 1997).

3.2. Garaet El Haouas

Cette Garaet (36° 58' N ,7° 18' E) occupe une surface d'environ 260ha. Elle est située dans la rive gauche d'Oued El Kébir. Elle s'étend entre les dunes de Guerbes du coté Ouest et les rives de Oued El Kébir au coté Est (Fig.3). Le substratum est formé par le sédiment et le sable dunaire. (Samraoui et De Belair, 1997).

3.3. Nechaa Khallaba :

Ce site (36° 5' 516 N, 7° 17' 576 E) s'étend sur une surface d'environ 75ha (Fig.3), elle est constituée exclusivement presque d'*Alnus glutinose*, et présente une largeur de deux à trois cent mètres et une longueur de trois à quatre km. Le substrat de ces aulnes est exclusivement composé de tourbe et de sable à cause de l'abondance de la matière organique laissée par cette forêt humide. (Samraoui et De Belair, 1997).

3.4. Garaet Boumaiza :

Cette Garaet (36° 49' 155 N, 7° 18' 975 E) occupe une surface d'environ 70 ha. La plaine occupée par ce marais est traversée par une dépression Sud Est / Nord Ouest vers Oued El Kébir. Cette dépression était probablement un affluent ou une forme de ce lit de cet Oued. La composition des dépôts alluviaux a entraîné la formation de sols salés impropres à l'agriculture. (Samraoui et De Belair, 1997).

3.5. Garaet Chichaya :

Ce marais (36° 53' 791 N, 7° 18' 230 E) occupe une surface d'environ 50 ha orienté Nord Ouest / Sud Est, alimenté par les eaux dunaires souterraines et les dépressions

ouvertes vers le Sud Est, près de la plaine alluviale de Oued El Kébir. Il présente une continuité avec Garaet Sidi Makhlouf .:

Son substrat est constitué dans le Nord-Ouest par des sables dunaires mélangés à la tourbe, ce sol est remplacé dans la partie Sud par une boue argileuse de la plaine, le Nord-Ouest est entièrement occupé par une aulnaie et il est composé des espèces habituelles à ce type de formation. (Samraoui et De Belair, 1997).

3.6. Garaet Sidi Makhlouf

Ce site (36° 53' 094 N, 7° 18' 248 E) occupe une superficie d'environ 50ha. La situation géomorphologique et le substrat de ce site sont identiques à ceux de Garaet Chichaya. Elle est orientée Nord Ouest / Sud Est vers la plaine alluviale. (Samraoui et De Belair, 1997).

3.7. Nechaa Demnat Ataoua

Ce site remarquable pour ces aulnes et son marais, (36° 56' N, 7° 14' 780 E) occupe une superficie d'environ 280ha. Il est localisé à l'Ouest du mont de l'Edough, dans le côté gauche de l'Oued El Kébir adoptant la direction Nord Ouest / Sud Est. Le sol est sableux dans le Nord Ouest en raison des dépôts dunaires, et devient graduellement argileux dans le Sud Est à cause des dépôts alluviaux d'Oued El Kébir. Le marais est alimenté par deux oueds (Oued Ras El ma et Oued El Kébir) qui trouvent leurs sources à base des dunes. (Samraoui et De Belair, 1997).

3.8. Garaet Hadj Taher

Garaet Hadj-Tahar (– 36°51'50'' N, 07°15'57'' E) est un étang côtier de 112 ha désigné comme site Ramsar depuis le 2 février 2001. formé de lagunes salées comme Garaet Dahria, de lacs d'eau douce, comme Garaet Sidi Makhlouf, et de marais d'eau douce, a une forme ovale très allongée . La végétation est abondante et diversifiée, comprenant des espèces rares en Algérie.

La profondeur moyenne de l'eau varie entre 0,8 et 1,20 m ; elle augmente subitement suite aux pluies torrentielles, du fait que la Garaet constitue une cuvette alimentée par les ruissellements des eaux de pluie depuis les montagnes environnantes.

3.9. Présentation du site d'études (Garaet Sidi Fritis)

Le lac (36° 53' 957 N, 7° 17' 437 E) occupe une superficie d'environ 40 ha. Il est situé dans une dépression inter dunaire orientée Nord Ouest / Sud Est, il est bordé à l'ouest par des dunes et à l'est par une prairie sèche. Son alimentation en eau provient essentiellement des nappes phréatiques. Il est composé de deux unités: une broussaille marécageuse d'environ 36 ha située au Nord Ouest et un petit lac de 13h situé du Sud Est. A cause du pompage d'eau pour l'irrigation, il est souvent sec en été. Sa profondeur n'excède pas les 1,5m. L'éloignement de cette Garaet a favorisé sa présentation ce qui explique sa grande richesse floristique. (Samraoui et De Belair, 1997).



Fig.3 : vue générale sur le site d'étude (Garaet Sidi Fritis, 16/03/2013)

3.9.1. Caractère géologique :

Les sols peu évolués sont d'apports éoliens associés à des sols peu évolués d'apports alluviaux. La majorité des sols sont situés en zones relativement plane, quoique de texture variable ils soient favorables à une mise en valeur intensive ou semi intensive. Mais ils présentent des contraintes relatives aux dépôts éoliens généralement instables et pauvres chimiquement. (Thomas, J.P. 1975)

3.9.2. Caractères hydrologique :

La plaine de Guerbès se trouve dans l'étage bioclimatique subhumide avec deux variantes : subhumide chaud sur 96,5% de la superficie totale, subhumide doux sur les 3,5% restants. Globalement on y trouve 4 classes pluviométriques : (Atlas 3, 2002)

- > la classe 1 comprenant 72,3% de la superficie totale reçoit entre 700 et 800 mm de pluie annuellement ;
- > la classe 2 comprenant 9,9% de la superficie totale reçoit entre 600 et 700 mm de pluie annuellement ;
- > la classe 3 comprenant 17,4% de la superficie totale reçoit entre 800 et 900 mm de pluie annuellement ;
- > la classe 4 comprenant 0,4% de la superficie totale reçoit entre 900 et 1000 mm de pluie annuellement.

3.9.3. Etude climatique :

Les facteurs climatiques jouent un rôle déterminant dans le régime des cours d'eau, et dans l'alimentation éventuelle des nappes souterraines. (Soltner, 1999)

La commune de Ben Azzouz, est sous le contrôle par de la station météorologique de Skikda. D'une manière générale notre zone est caractérisée par un climat de types méditerranéen avec un hiver pluvieux et un été chaud et sec.

Les données météorologiques de 14 ans (1997-2011) récoltées de la station météorologique de la ville de Skikda sont résumées dans la figure 4.

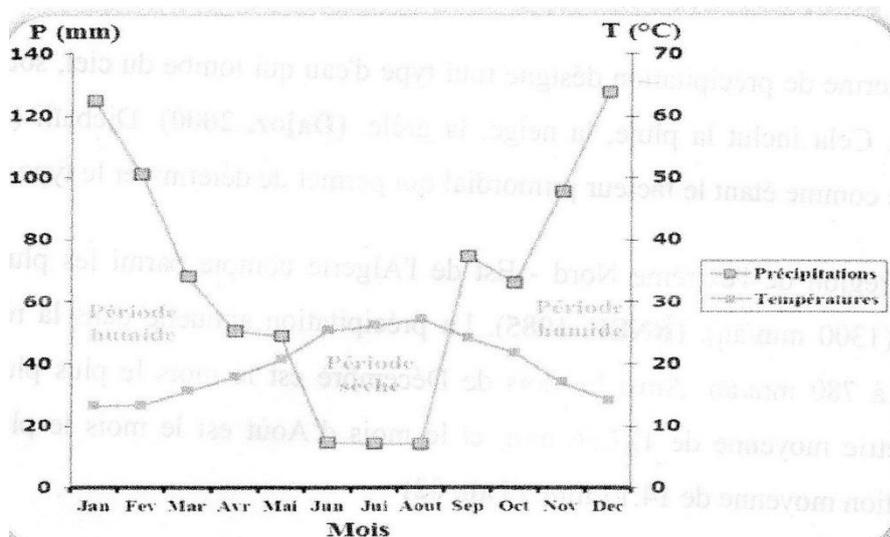


Fig 4 : données climatiques de la station météorologique de la Wilaya de Skikda (1997-2011)

3.9.3.1. La température :

A partir des données présentées dans la fig 4, nous constatons que les moyennes mensuelles les plus élevées sont observées essentiellement pendant la période estivale (Juin à Septembre) dont le mois le plus chaud est le mois d'Août avec une température maximale de 33.2 °C. Par contre, les températures les plus basses sont observées pendant la période d'hiver (Décembre à Mars) dont le mois de Janvier est le mois le plus froid avec une température minimale de 7.37 °C.

3.9.3.2. La précipitation :

La région de l'extrême Nord - Est de l'Algérie compte parmi les plus abondamment arrosées (1300 mm/an). La précipitation annuelle dans la région de Skikda équivaut à 780 mm/an. Ainsi le mois de Décembre est le mois le plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 127.56 mm, et le mois d'Août est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 14.17 mm.

3.9.4. Exploitation du site :

3.9.4.1. L'agriculture :

Les terres qui entourent le lac sont exploitées par les agriculteurs pour la culture maraîchère (tomate, melon et pastèque). Ses cultures sont très exigeantes en eau de sorte qu'il utilise l'eau du lac pour l'irrigation et c'est dès le mois d'avril. Il est à noter aussi que la période d'irrigation correspond à la saison sèche ce qui influe considérablement sur le niveau d'eau de la Garaet. (Atoussi S., 2008)



Fig. 5 : Moteur de pompage d'eau Garaet Sidi Frittis (prise le 20 mars 2013 par H. Houmadi).

3.9.4.2. Le pâturage :

La région est réputée être une zone d'élevage par excellence surtout pour les ovins et de ce fait les riverains ont recours au défrichage des abords du lac afin d'augmenter la surface de pâturage pour leur troupeau. A cela s'ajoute l'effet directe du pâturage proprement dit, les bovins broutent la végétation aux abords du lac et pénètrent aussi à l'intérieur du plan d'eau ayant pour effet négatif, la contamination du site par les matières fécales.

4. La faune et flore de la région :

4.1. La faune

La plaine de Guerbès est le site de nidification de deux espèces très rares, l'érismaure à tête blanche (*Oxyura leucocephala*), le fuligule nyroca (*Aythya nyroca*) et probablement d'une troisième, la sarcelle marbrée. Sans oublier la poule sultane, la foulque macroule, le grèbe huppé et castagneux, la poule d'eau et autres oiseaux d'eau passereaux paludicoles.

L'érismaure à tête blanche est considérée comme menacée à l'échelle mondiale et ses effectifs sont en régression en raison des effets climatiques et des impacts humains sur les habitats où se localise l'espèce. De nombreuses autres espèces visitent le lac en hiver.

De nombreuses espèces de poissons peuplent le lac, notamment l'anguille, le barbeau et le mulot. Alors que la zone marine n'est pas encore prospectée. (Boumezbeur, A. 1993)



Fig. 6 : population des oiseaux sur le site de Guaraet Sidi Fritis , 16/03/2013

4.2. La Flore :

L'inventaire floristique de la zone à révéler l'existence de 234 espèces végétales au niveau du lac dont 145 taxons inféodés aux zones humides. Cela représente plus de 14% de la flore du nord de l'Algérie (1800 espèces). Les espèces méditerranéennes représentent le des plantes observées, les espèces cosmopolites ne représentent que 14,4% alors que les Euro-méditerranéennes occupent 9,2%. Parmi les 234 espèces recensées, 19 sont rares et 23 rarissimes (Quezel, P. & Santa, S. 1962,1963).

CHAPITRE II :
MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel :

Les principaux matériaux utilisés sont résumés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 1 : Ensembles de principaux matériels utilisés

Sur terrain	Laboratoire
<ul style="list-style-type: none"> • Multi paramètres wtw : multi 1970 i (oxymètre, pH-mètre, conductivités) • GPS 	<ul style="list-style-type: none"> • Spectrophotomètre HACH 250 • Turbidimètre • Des réactifs et milieux de cultures (voir annexe)

2. Méthodes :

2.1. Choix de stations et prélèvement :

Le choix de station de prélèvement dépend essentiellement des critères qui sont :

- La facilité d'accès
- L'obtention d'un échantillon le plus représentatif possible

2.2. Sites et Période de prélèvement :

L'échantillon destiné à l'analyse est prélevé de façon à être le plus exactement possible représentatif du milieu d'où il provient. Elle a été faite sur deux points opposés du Garaet :

- L'entrée (Station1) de l'eau dans le Garaet : permettant d'avoir des informations concernant la qualité de l'eau avant rentrée du Garaet,
- La sortie (Station 2) qui alimentent un petit lac : permettant de comparer les paramètres avec la sortie afin d'identifier l'origine éventuelle d'une pollution.

Deux fois de prélèvement, pendant la période du mois de mars considéré comme périodes des crues et mois d'avril ; début de la période d'étiage (voir fig :4). Avec un mode manuelle de prélèvement.



Fig 7: Localisation des points de prélèvement :(source, Google earth), S1 : station 1 ; S2: station 2 .

Coordonnées géographiques

Tableau 2: coordonnées géographiques des sites de prélèvement.

	Coordonnées	Date et heures	
		1ere	2eme
Station 1	N 36° 53. 941 E 007° 17. 400	16/03/2013 12h20 mn	20/04/2013 10h25mn
Station 2	N 36° 54. 085 E 007. 17. 345	16/03/2013 12h20 mn	20/04/2013 10h25mn

2.3. Méthodes d'échantillonnage :

2.3.1. Conditionnement et transport des échantillons :

Pour des raisons d'éviter les variations des paramètres physicochimiques et garder la viabilité des microorganismes présentes dans l'eau. Certaines conditions sont nécessaires à les respecter.

En effet les flacons d'eau destinée aux analyses bactériologiques doivent faire l'objet d'une attention particulière pour éviter une contamination, n'est pas remplis complètement les flacons pour faciliter l'homogénéisation. Si la durée de transport dépasse une heure et si la température extérieure est supérieure à 10, les prélèvements doivent être placés en enceinte réfrigérée. Les flacons doivent être maintenus à une température comprise entre 2 et 5 dans un conteneur approprié. L'analyse doit débiter 8 heures au plus tard après le prélèvement.

Les échantillons d'eau destinée aux analyses physicochimie doivent être mis dans des bouteilles en plastiques. Le conditionnement doit se faire à l'abri de la lumière. Un délai d'acheminement n'excédant pas 6 heures doit être respecté s'il n'y a pas de contrôle de température en présence d'un réfrigérant.

2.4. Les analyses

Les analyses physicochimiques et bactériologiques ont été effectuées dans les laboratoires d'analyse des institutions suivant : l'ADE, l'ONA et laboratoire de microbiologie de l'université de Guelma. Le choix d'une méthode a été basé surtout à la disponibilité des matériaux et produits.

Tableau 3: les différents laboratoires et les analyses effectuées

Laboratoires	de microbiologie de l'université de Guelma	ONA	ADE
Analyse effectuées	Les germes pathogènes	PO ₄ , DBO ₅ , DCO	Les restes des analyses
Normes utilisées	Algériennes	Françaises	Standards

2.4.1. Les paramètres physicochimies

On a classé les paramètres physicochimiques selon leur mode et principes d'analyse.

2.4.1.1. Paramètres mesurés sur terrain

Pour la mesure du pH, la température et conductivité nous avons utilisé la méthode électrochimique avec électrode de verre, en utilisant un pH mètre portable de marque Wissenschaftlich Technische Werkstätten « WTW ». Le pH mètre sert aussi à la mesure de la température et la Conductivité électrique

2.4.1.2. Les analyses de laboratoires :

a) Le résidu sec :

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau, une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans une capsule tarée et après les résidus desséchés sont ensuite pesés.

La méthode consiste à prélever 200 ml d'eau à analyser, la porter dans l'étuve à une température de 105°C pendant 2 heures. Puis après le faire sortir et la laisser refroidir pendant un quart d'heure au dessiccateur. Et après l'échantillon est pesé rapidement.

Expression du résultat:

$$R/S \text{ (mg/l)} = (P_p - P_v) \times 5 \times 1000$$

P_p : Poids plein de la capsule

P_v ; Poids vide de la capsule

2.4.1.2.1. Paramètres déterminés par méthode volumétrie :

a) Principe générale de la méthode :

Les méthodes volumétriques consistent à faire réagir des quantités équivalentes de deux réactifs contenus dans des volumes bien déterminés.

L'un des réactifs n'est ajouté au deuxième par goutte à goutte jusqu'à la fin de la réaction. Le point d'équivalence est indiqué par le virage d'un indicateur coloré.

Soit une solution A de concentration C_a et B une solution B de concentration C_b ; à

l'équivalence on a ; $n_a = n_b$, alors : $C_a = \frac{C_b \cdot V_b}{V_a}$

b) Détermination de l'alcalinité simple (TA) et complexe (TAC) :

La détermination de l'alcalinité est basée par la neutralisation d'un volume de 100 ml d'eau à analyser par 2 ml d'acide sulfurique (N/50), en présence d'un indicateur coloré (phénol phtaléine pour le TA et rouge de méthyle pour le TAC). La fin de la réaction est visualisée par l'indicateur devenu libre, de couleur rose pour le TA et couleur rouge orangé pour le TAC.

Expression du résultat :

$$TA \text{ } ^\circ F = V_{\text{titré}}$$

$$TAC \text{ } ^\circ F = V_{\text{titré}} - 0,5$$

c) Détermination du chlorure :

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titré de nitrates d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

Mode opératoire :

Introduire 25 ml d'eau à analyser, dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 2 à 3 gouttes de solution d'argent de chromate de potassium à 10 %. Verser au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rougeâtre qui doit persister 1 à 3 mn. Soit V le nombre de millilitres de nitrate d'argent utilisées.

Expression du résultat :

$$\text{Teneur (mg / l)} = V_{\text{titré}} * 142$$

d) Dosage du calcium:

Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 2 ml de solution de NaOH et quelques graines d'indicateur coloré. Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet. Soit V le volume de solution d'EDTA versé.

Expression du résultat :

$$[Ca^{2+}] \text{ mg / l} = V_{\text{EDTA}} * F * 8$$

F : le rapport entre le titre ainsi mesuré de la solution d'EDTA et le titre théorique

e) Dosage du magnésium :

Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 2 ml de NaOH à pH= 10 et une pincée de noir Eurichrome T. Titrer par EDTA jusqu'au virage de la couleur bleu (V_2).

Expression du résultat :

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

F : le rapport entre le titre ainsi mesuré de la solution d'EDTA et le titre théorique

f) Détermination de la dureté totale (TH) :

La dureté d'une eau ou titre hydrotimétrique (TH) est la somme des cations alcalinoterreux présents dans l'eau, c'est le cas des ions calcium et magnésium. Ces ions présents dans l'eau sous forme de sels de chlorure, de sulfates ou hydrogénocarbonates.

La détermination de ce dernier a été basée par la méthode complexométrique. Le mode opératoire comme suit :

Prélever 100 ml de l'eau à analyser, ajouter 2 ml de solution tampon (hydroxyde d'ammonium 34%) et quelques grain d'indicateur coloré, le titrage s'effectuer par l'addition goutte à goutte l'EDTA. La fin de la réaction est visualisée par l'indicateur devenu libre, de couleur bleu. Expression du résultat :

$$\text{TH } ^\circ\text{F} = V_{\text{titré}} * 10$$

2.4.1.2.2. la spectrométrie d'absorption moléculaire :**a) Principes de dosages du sel nutritifs dans l'eau**

La méthode utilisée pour le dosage des sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, sulfate) est basée sur une réaction de coloration. Ces sels réagissent dans certaines conditions (température, pH, présence de catalyseurs) avec des réactifs pour donner une coloration absorbant la lumière à une certaine longueur d'onde.

L'absorption de l'énergie lumineuse dépend de l'intensité de la coloration. Cette dernière est d'autant plus importante que la solution est concentrée en sel dosé. La quantité de lumière absorbée par la solution, appelée absorbance (A) ou densité optique (D.O), obéit à la loi de Beer Lambert qui est exprimée par l'expression suivante :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon_{\lambda} l C$$

I_0 et I : l'intensité lumineuse incidente et émergente du milieu absorbant.

ϵ : le coefficient d'extinction molaire.

l : la longueur du milieu traversée exprimée en cm.

C : concentration de la solution absorbante exprimée en mol/l.

A : absorbance de la solution. D.O : densité optique de la solution.

b) Dosage de l'ammonium :

Le dosage de l'ammonium (NH_4^+) est réalisé en suivant la méthode Koroleff (1969). En milieu alcalin ($8 < \text{pH} < 11,5$), l'ammonium dissous réagit sur l'hypochlorite pour former une monochloramine.

Ce composé, en présence de phénol et d'un excès d'hypochlorite (milieu oxydant) donne lieu à la formation d'un bleu d'indophénol. La réaction est catalysée par le nitroprussiate de sodium. Le maximum d'absorption se fait sur une longueur d'onde de 630 nm.

c) Dosage des nitrites :

Les nitrites (NO_2^-) forment un diazoïque par action avec la sulfanilamide en milieu acide $\text{pH} < 2$. Ce composé formera ensuite en présence de N-naphtylethylènediamine un composé azoïque de couleur rose absorbant la lumière à 543 nm.

d) Dosage du nitrate

la méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire avec l'acide sulfosalicylique, applicable aux quantités comprises entre 1 et 5 $\mu\text{g N}$ (soit 0,2 à 1 mg/L de nitrates).

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage spectrométrique. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 415 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin.

e) Détermination des phosphates (PO_4^{3-}) :

Il forme en milieu acide 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.

f) Détermination des Sulfates (SO_4^{2-}) :

Le principe a été basé par ; du fait que les ions sulfates sont précipités et passés à l'état de sulfate de baryum en présence de Ba Cl_2 .

Protocole :

On a pris 20 ml d'eau à analyser et compléter à 100 ml d'eau distillée, puis ajouter 5ml de la solution stabilisante, plus 2ml de chlorure de baryum. Agiter énergiquement pendant 1mn et après passer au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 420nm.

Expression du résultat :

$$\text{mg/l SO}_4^{2-} = \text{la valeur lue sur le spectrophotomètre} \times \text{facteur de la dilution}$$

2.4.1.2.3. Méthodes par oxydoréductions :**a) La demande biochimique en oxygène DBO_5 :**

Elle constitue un moyen valable de l'étude des phénomènes naturels de destruction des matières organiques. Elle est représentée par la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes pour dégrader la matière organique dans l'eau (Aminot et Chaussepied, 1983). Il existe deux méthodes permettant de déterminer la DBO :

- une méthode par dilution : pour les eaux chargées
- une méthode sans dilution : destinée aux eaux de faible DBO ($< 6 \text{ mg/L O}_2$)

A cet effet nous allons utiliser la méthode par dilution qui sera mieux adaptée à l'origine de nos échantillons.

Le principe est basé par la mesure de l'oxygène consommé en cinq jours par un échantillon dilué avec une eau saturée en oxygène,ensemencée avec des germes, puis placée dans une enceinte thermostatée à 20°C .

Protocole :

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 sans y laisser d'air pénétrer. Faire ainsi 2 flacons identiques.

Expression du résultat :

$$\text{DBO}_5 = F (T_0 - T_5) - (F - 1) (D_0 - D_5). \text{ mg/l}$$

F = Facteur de dilution

T_0 = Teneur en oxygène début de l'essai en (mg/L)

T_5 = Teneur en oxygène au bout de cinq jours d'incubation en (mg/L)

b) Demande chimique en oxygène (DCO) :

C'est la quantité d'oxygène qui consommée par voie chimique pour oxyder l'ensemble des matières oxydables présentes dans l'eau.

Le principe est basé par ; le fait que les matières oxydables de l'échantillon sont oxydées par le dichromate de potassium dans des conditions précises. Le dichromate de potassium résiduel est dosé par une solution de sulfate de fer et d'ammonium, en présence de ferroïne (indicateur d'oxydo-réduction) :

La réaction globale du dosage est la suivante :



Il est alors possible de déterminer la quantité de dichromate de potassium consommé lors de l'essai et d'en déduire la quantité d'oxygène équivalente, suivant cette formule :

$$\text{DCO} = \left(\frac{V_B - V_E}{P.E} \right) * 8000 * C_{\text{Fe}} = 800 * C_{\text{Fe}} * (V_B - V_E)$$

C_{Fe} : c'est la concentration exprimée en mol/ l de la solution de sel de mohr déterminée par étalonnage.

E : volume prise d'essai en ml.

2.4.2. Analyses bactériologiques :

L'objectif des analyse bactériologiques d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes soit, ce qui est souvent plus aisé, celles qui les accompagnent et qui sont en plus grand nombre souvent présentes dans l'intestin des mammifères et sont par leur présence indicatrices d'une contamination fécale et donc des maladies associées à la contamination fécale.

Le choix d'une technique appliquée pour la recherche et le dénombrement des bactéries, dépendent des moyens et matériels disponible. Pour cela on a opté utiliser la technique de filtration sur membrane pour le dénombrement des bactéries.

2.4.2.1. Méthode générale de filtration sur membrane

C'est la technique de concentration la plus utilisée au laboratoire. On procède à une filtration sur membranes en esters de cellulose, de porosité 0,22 μ m ou 0,45 μ m, susceptibles de retenir les bactéries.

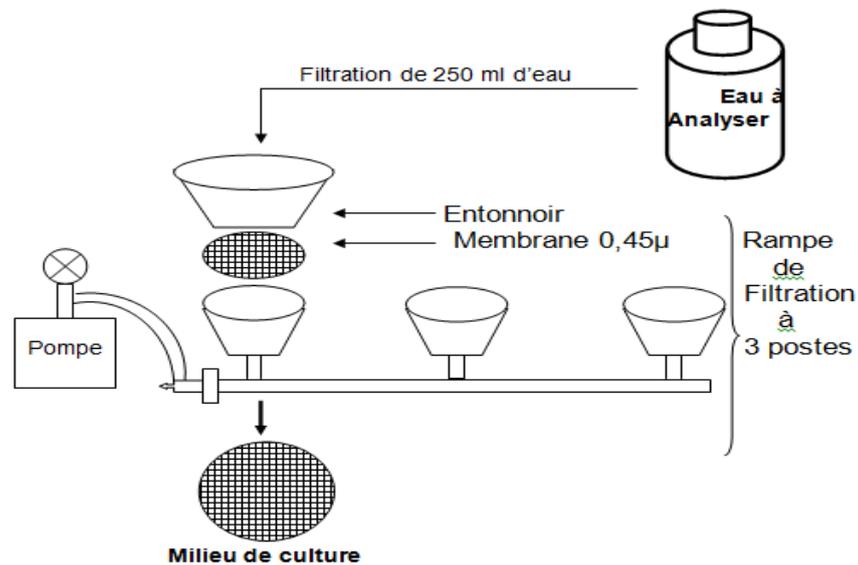
Principes

Cette technique consiste à filtrer sur des membranes, montées dans un appareil à filtration une quantité d'eau brute, puis à appliquer ces membranes sur des milieux sélectifs, coulées en boîtes de pétri.

Après incubation, les colonies développées seront dénombrées et éventuellement prélevées pour être confirmées ou étudiées.

Mode opératoire

- Filtrer le volume d'eau adéquat, en fonction de son origine, sur une membrane filtrante stérile montée dans un appareil.
- Prélever la membrane à l'aide d'une pince flambée et la placer au centre de la boîte de pétri contenant le milieu gélose sélectif, en évitant d'inclure des bulles d'air.
- Placer les boîtes de pétri dans une atmosphère chargée de vapeur d'eau.
- Incuber à la température adéquate, pendant 24 heures à 72 heures
- Observer les colonies recherchées, les confirmer si nécessaire les dénombrer.



Schémas 1: Coupe schématique d'un appareil de filtration sur membranes

2.4.2.2. Recherche et dénombrement des germes totaux à 22°C et à 37°C :

Les microorganismes totaux correspondent à des microorganismes ou à des bactéries revivifiables, encore dénommés « germes totaux » ou « flores totales » (R. Vilaginès, 2010).

▪ **Méthode par incorporation**

Cet examen vise à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre des microorganismes, en particulier de bactéries se développant dans les conditions aérobies habituelles de culture. Le milieu utilisé pour le dénombrement est TGEA.

- Après avoir fait fondre le milieu TGEA dans un bain d'eau à 100°C, laisser refroidir à une température proche de la température de solidification (45°C).
- Préparer et marquer les boîtes de 22°C et de 37°C.
- Agiter bien le prélèvement et inoculer 1 ml de prise d'essai dans chaque boîte, et ajouter immédiatement la gélose fondue et mélanger par des mouvements pour homogénéiser les microorganismes.
- La lecture est faite après 24 heures d'incubation à 37 °C et après 72 heures à 22°C

Lecture :

Les colonies de microorganismes revivifiables apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes. Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Interprétation :

Calculer la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à 22 ± 2°C à part et Celle du nombre N de microorganismes revivifiables à 37 ± 2°C à part, en tant que moyenne Pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma c}{1,1 \times d}$$

Σc : est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

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

2.4.2.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux :

Voir définition chapitre 1, page 9

▪ **Mode opératoire :**

Chaque échantillon est divisé en trois dilution (solution mer, 10⁻¹, 10⁻²) et après on a appris aseptiquement 50 ml de l'eau à analyser (la suspension mer puis les dilutions) et, on la mise dans le pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane. Et puis à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, on a retiré le filtre et, la déposé sur la surface d'une plaque de gélose TTC préalablement préparée.

Cette dernière sera incubée couvercle en bas à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 21 ± 3 heures voir 44 ± 4 heures et servira à la recherche des bactéries coliformes, suivie de l'identification biochimique des *Escherichia coli*.

▪ **Lecture :**

dénombrer les colonies caractéristiques qui se présentent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentés en jaune orangé ou en jaune (lactose positives). Repiquer de façon aléatoire 5 à 10 colonies à des fins de confirmation basée sur le test à l'oxydase d'une part et la production d'indole d'autre part.

▪ **Tests confirmatif :**

La confirmation de la présence de coliformes est réalisée à partir des colonies jaunes ou orangées, sur un milieu de Schubert. L'incubation à 44°C pendant 24 h

A partir des colonies (couleur jaunes ou oranges) nous prélevons à l'aide d'anse de platine stérile quelques colonies et nous les ensemençons à nouveau dans le milieu Schubert (en série de 4 tubes). Puis incubation à 44°C pendant 24 heures.

les tubes ayant apparus un anneau rouge après l'ajout de réactifs Kowacs, avec production de gaz, sont considérés positifs (indole positif). Puis exprimer leur nombre par 100 ml d'eau analysée selon l'équation mathématique suivante :

$$a = \frac{b}{A} \cdot C$$

b : nombre de colonies caractéristiques présumées dans la boîte.

A : nombre de colonies repiquées.

C : nombre total de colonies trouvées dans la boîte

2.4.2.4. Dénombrement des streptocoques fécaux :

Les Streptocoques fécaux ou Streptocoques du groupe D ne possèdent pas de catalase mais possèdent l'antigène du groupe D. 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 hydrolysent l'esculine en 2 heures à 44°C après repiquage d'une colonie sur une gélose biliée à l'esculine gélose (BEA).

- **Mode opératoire**

Déposer aseptiquement 50 ml d'eau à analyser, devant un bec bunsen. Actionner pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane. Retirer l'entonnoir puis transférer aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince stérile, à la surface d'une plaque de gélose SLANETZ et BARTLEY. Cette dernière sera incubée couvercle en bas à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 44 ± 4 heures.

- **Lecture**

Après incubation spécifiée, les entérocoques intestinaux ou Streptocoques du groupe « D » apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en rouge, marron ou rose.

Transférer aseptiquement la membrane du milieu de Slanetz et Bartley sur une plaque de gélose BEA préchauffée préalablement à 44°C . Cette dernière sera incubée à son tour à $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 2 heures.

Les colonies caractéristiques prennent alors une coloration noire traduisant ainsi l'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu. Compter le nombre de colonies et le rapporter à 100 ml d'eau à analyser.

2.4.2.5. Recherche et dénombrement des ASR et le clostridium sulfito-réducteurs

Dans ce test, on utilise la méthode «par incorporation en gélose en tubes profonds »dans le but de rechercher et dénombrer les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de clostridium sulfito-réducteurs dans les eaux.

- **Protocole**

Faire liquéfier au bain-marie bouillant des tubes contenant 20 mL de gélose viande-foie-sulfite-citrate, puis les mettre dans un bain-marie à 55°C environ.

Préparer 5 tubes 18 x 180 stériles avec 5 ml de l'eau à analyser, les déposer au bain-marie à $80 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 10 minutes, puis les refroidir à 55°C environ. Verser doucement 20 ml du milieu précité dans un tube d'eau préparé, sans agiter et sans introduire d'air pour une bonne anaérobiose ; faire solidifier rapidement la gélose en plaçant les tubes sous un courant d'eau froide. Incuber à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 à 48 heures.

▪ Lecture et dénombrement

Une première fois après 24 heures. Une seconde fois après 48 heures d'incubation. Des colonies entourées d'un halo noir proviennent de spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices qui se sont développées. Compter le nombre de colonies typiques et l'exprimer par x mL d'eau en fonction du type d'eau analysée.

▪ Confirmation de *Clostridium* sulfito-réducteurs

Repiquer dans un bouillon viande-foie-glucose des colonies entourées d'un halo noir, en vue de confirmer leur appartenance éventuelle au genre *Clostridium*.

Incuber les tubes en anaérobiose pendant 24 heures à 37 °C. À partir de chaque culture en bouillon viande-foie-glucose obtenue, ensemercer par la méthode des quadrants des boîtes de Pétri contenant de la gélose tryptosesulfite à la D-cyclosérine ou TSC

2.4.2.6. Recherche des germes pathogènes :

2.4.2.6.1. Tests d'orientation et d'identification :

a) Examen macroscopiques

Pour les examens macroscopiques de bactéries communes, aérobies strictes et anaérobies facultatives, les souches bactériennes doivent être cultivées sur un milieu gélosé solide en boîte à petri et dans un milieu en tube, afin de déterminer les caractères cultureux de ces bactéries.

b) Examen microscopique (Coloration de Gram) :

Au cours d'examens bactériologiques, le technicien peut être amené à observer des bactéries vivantes ou tuées et colorées, le plus souvent, à l'aide d'un microscope optique à fond clair. On distingue deux principaux examens microscopiques :

- À l'état frais ; permet l'observation des bactéries vivantes, et la détermination de leur morphologie et de leur mode de groupement et de leur mobilité éventuelle.
- Après coloration sur frottis ; il permet de mieux observer les détails morphologiques des cellules bactériennes et d'orienter l'identification à une bactérie Gram négatif ou Gram positif .

c) Test catalase :

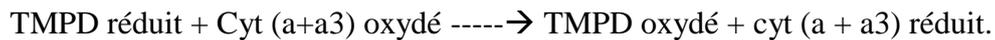
La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage. $2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

La recherche de cette enzyme est utile pour différencier les bactéries appartenant aux familles des *Micrococcaceae*, *Dermaocccaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaccae*, *Enterococcacea* . (voir protocole annexe 1)

d) Test oxydase :

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaine chaîne respiratoires cytochromiques bactériennes.

Le disque « Ox » le TMPD (N-tetra paraphénylène Diamine) se comporte comme un donneur d'électrons et va être oxydé au contact de ces bactéries.



Le TMPD en présence d'O₂ sera oxydé en indophénol colore (violet).

e) Test de nitrate réductase :

Certaines bactéries ont la capacité de réduire les nitrates. Elles peuvent soit seulement assimiler les nitrates soit les assimiler et les respirer suivant deux types de réactions :

- Une réaction assimilatrice sous la dépendance d'une nitrate de type B (NRB) ou nitrate réductase assimilatrice
- Une respiration nitrate s'effectuant en anaérobiose sous la dépendance d'une nitrate-réductase de type B (NRA) ou nitrate réductase dissimulatrice. (voir annexe protocole)

2.4.2.6.2. La recherche de *staphylococcus* :

Après filtration sur membrane, le filtre est déposé aseptiquement dans un milieu Chapman. Ce milieu grâce à des agents sélectifs, il permet de sélectionner seulement certaines bactéries Gram+ à caractère halophile ; tolérantes le NaCl à 7,5 %. On a notamment les *staphylococs*, *micrococcus*. *Enterococcus*.

Après incubation à 37° pendant 48 heures, certaines espèces staphylocoques fermentent le mannitol pour libérer des acides qui font virer le rouge de phénol au jaune en milieu acide. n l'occurrence *staphylococcus aureus*.

Cette espèce à caractère pathogènes est caractérisée par des colonies mannitol positif, entourées d'une auréole jaune. Toutefois le milieu Chapman ne permet qu'une orientation, ainsi des tests complémentaires (catalase +, coagulase +) sont nécessaires et une Api staph permettant de donner l'espèce la plus probable .

2.4.2.6.3. Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes :

- **Pré-enrichissement**

Cette étape a été réalisée uniquement pour la recherche des *Salmonelles* et *Shigelles*. Le pré-enrichissement s'effectue sur le milieu d'eau péptonée tamponnée D/C réparti à raison de 100 ml par flacon. Ce dernier sera doncensemencé à l'aide de 100 ml d'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- **Enrichissement :**

A partir du milieu de pré-enrichissement, nous ensemençons un bouillon au Sélénite-Cystéine avec un volume d'échantillon correspond au 1/10 du volume du bouillon.

- **Isolement**

Deux milieux de culture ont été utilisés :

La gélose Hektoen : c'est le milieu de choix pour l'isolement des Entérobactéries pathogènes. Ce milieu permet une première orientation quant à l'identification de l'espèce isolée sur la base de l'attaque de trois glucides : lactose, salicine et saccharose. Une différenciation supplémentaire (présence de thiosulfate et de citrate de fer dans le milieu) qui se traduit par des colonies à centre noir dû à la formation de sulfure de fer.

La gélose *Salmonella-Shigella* (SS) : c'est le milieu sélectif des *Salmonelles* et des *Shigelles*. Il contient du vert brillant, sels biliaires et de fortes concentrations en thiosulfates et en citrate inhibent totalement la croissance de la microflore secondaire Gram positive ainsi que celle de nombreux coliformes et *Proteus*.

CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1. La qualité physico-chimique de l'eau:

La qualité physico-chimique de l'eau est évaluée au regard de différents types des paramètres. Ces derniers nous les avons caractérisés par des groupes selon leur nature. Ces groupes sont:

- Les paramètres physiques ;
- Paramètres de pollution ;
- Minéralisation globale ;

1.1. Les analyses préliminaires:

1.1.1. La turbidité :

Le résultat maximal obtenu est de 6,35 NTU, enregistré à la station 2 pendant le mois de mars, et le minimal c'est 1,1 NTU à la station 1, pendant le mois d'avril.

L'histogramme nous montre que cette charge varie avec le temps, ceux-ci peuvent y avoir comme origine le régime pluviométrie de la région. Les valeurs enregistrées sont considérées comme modérée par rapport aux normes européens (max 5 NTU) des eaux potables.

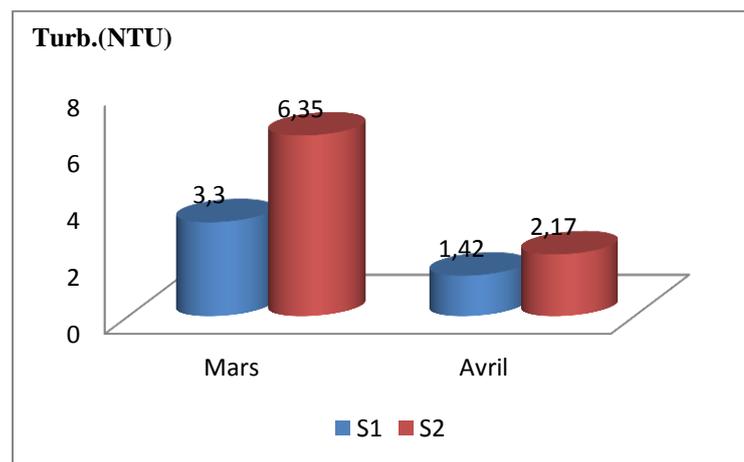


Fig. 8 : Variation spatio-temporelles de la turbidité de l'eau

1.1.2. Les résidus secs :

Pendant le mois de mars on a enregistré une valeur maximale de 381mg/l à la station 1; valeur normal selon la valeur guide aux eaux potable établie par l'OMS (max 1000 mg/l). On a noté une régression de la teneur dans les deux stations, à une

valeur minimum de 203 mg/l à la station 2.

Nous pouvons dire que cette diminution est due à une sédimentation des matières minérales, et une biodégradation des matières organiques, et aussi au fait de la diminution des précipitations.

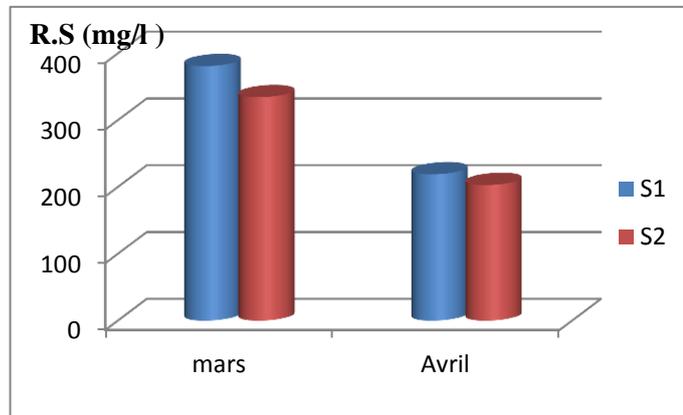


Fig. 9 : variation spatio-temporelle des résidus secs

1.2. Les paramètres physicochimiques :

1.2.1. La température :

Pour les eaux de surface la température a tendance à augmenter avec l'évolution des saisons, de l'hiver au printemps.

En effet, au mois de mars, on a enregistré une valeur minimale de 14°C à la station 2, et une valeur maximale de : 22°C au mois d'avril à la station 1. Ces valeurs se rapprochent de la température minimale de l'air ambiant. elles sont considérées comme des températures normales pour la saison selon les normes OMS (12 à 25°C).

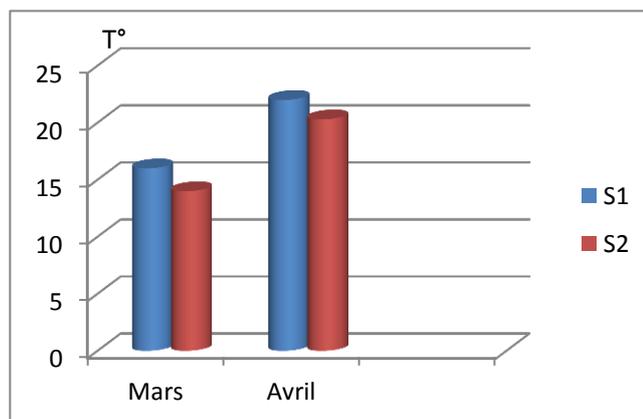


Fig 10 : variation de la température

1.2.2. Le potentiel d'hydrogene (pH)

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés, mais il peut être aussi influencé par d'autres facteurs tels que la température.

Les résultats des analyses nous a donnés un pH maximal de 8,74 à la station 1, pendant le mois d'avril, et une valeur minimal de 6,57 enregistré à la station 2 au mois de mars . Ceci peut avoir une relation indirecte avec la temperature.

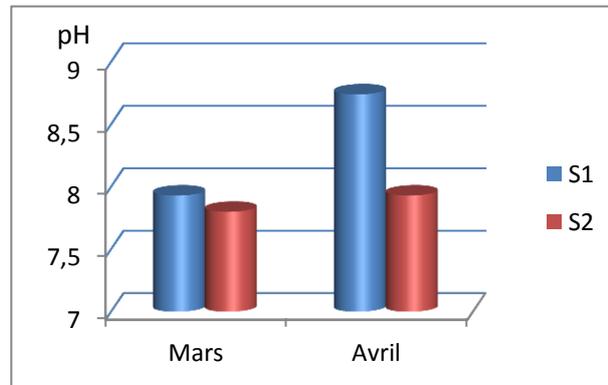


Fig. 11: Variation spatio-temporelle du pH

1.2.3. La conductivité électrique :

On a enregistré une valeur maximale de 381 $\mu\text{s}/\text{cm}$ de la conductivité à la station 1 pendant le mois de mars et respectivement une valeur minimal de 203 $\mu\text{s}/\text{cm}$ au mois d'avril à la station 2 . Bien evidement cette variation est proportionnelle avec le résidu sec (voir fig :) mais contrairement à la temperature.

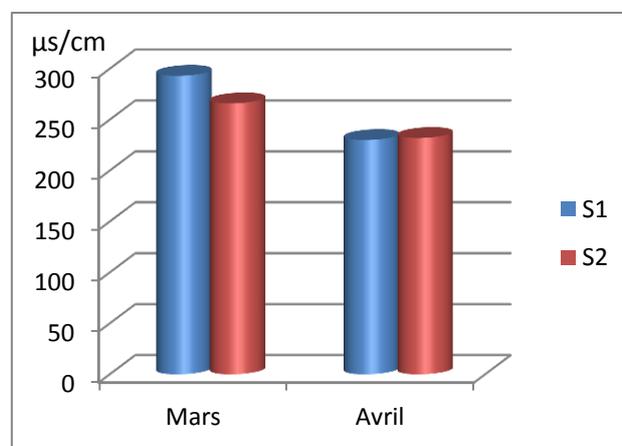


Fig. 12 : variation de la conductivité

1.2.4. Le potentielle d'oxydoréduction :

Ce paramètre était mesuré seulement pendant le mois d'avril. A cet effet on a enregistré -119 mv à la station 1 et -104 mv à la station 2. Ces résultats nous montrent que le milieu est devenu réducteur. Ceux-ci peuvent avoir comme origine l'élévation de la température qui empêche la dissolution de l'oxygène dans l'eau.

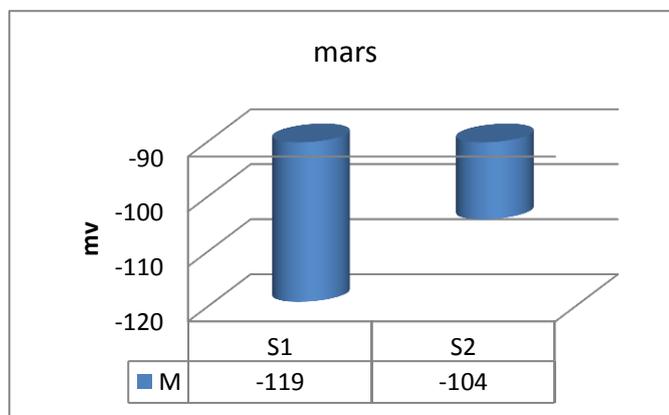


Fig. 13:Variation du potentiel d'oxydoréduction

1.3. Les indicateurs de pollutions :

La détermination des paramètres indicateurs de pollution permet de renseigner l'état de santé d'un écosystème, mais aussi certains paramètres comme la DBO₅ et DCO vont nous indiquer la capacité du milieu à biodégrader les polluants.

1.3.1. L'Orthophosphate :

La présence des phosphates dans le milieu récepteur entraîne un développement massif d'algues qui caractérisent le phénomène d'eutrophisation.

L'analyse de ce paramètre a été faite seulement pour le mois d'avril, pour des raisons particuliers. Les résultats des analyses nous ont donnés 0,2 mg/l comme valeur maximale et 0,08 mg/l comme valeur minimale.

Lorsqu'on calcule la moyenne de ces deux valeurs, on trouve 0,14 mg/l, cette valeur correspond à une indice de TSI 70 à 80 selon l'échelle de Charlson (1987), celle-ci est attribué à un milieu de stade trophique eutrophe (voire annexe 2) . La période de prélèvement correspondais à la saison de plantation de certaines cultures maraichères comme la tomate et la pastèque, et l'utilisation d'engrais a cette période peut expliquer la

teneur élevés de cette élément.

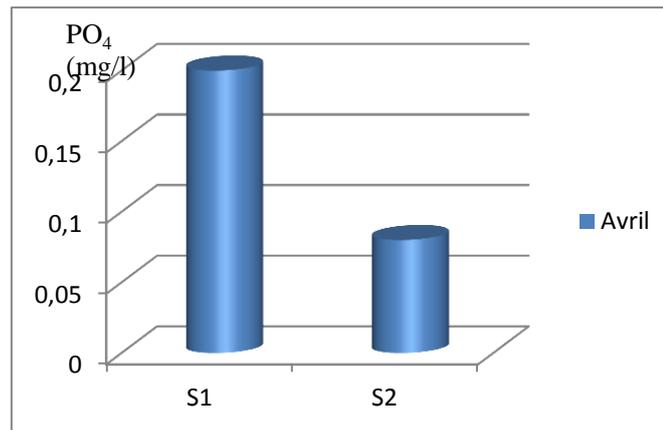


Fig. 14 : variation spatiale de l'orthophosphate

1.3.2. L'ammonium :

La transformation de l'ammonium jusqu'au stade nitrate repose sur un mécanisme fragile qui n'opère que dans une gamme de pH assez étroite, avec un optimum placé vers 7,5-8,5 ; elle cesse avec le froid et la diminution du taux d'oxygène dissout. (Jean Pelmont, 2005). En générale une eau bien oxygénée ne contient que des traces d'ammonium.

Les résultats des analyses nous donnée 0,125 mg/l à la station 2, pendant le mois de mars, et 0,035 mg/l à la station 1 au mois d'avril. L'augmentation de concentration au mois de mars s'explique d'une part par les conditions défavorables à la nitrification (température basse, et pH) et à l'assimilation par les algues qui est moindre mais aussi par la pluviométrie qui lessive les sols.

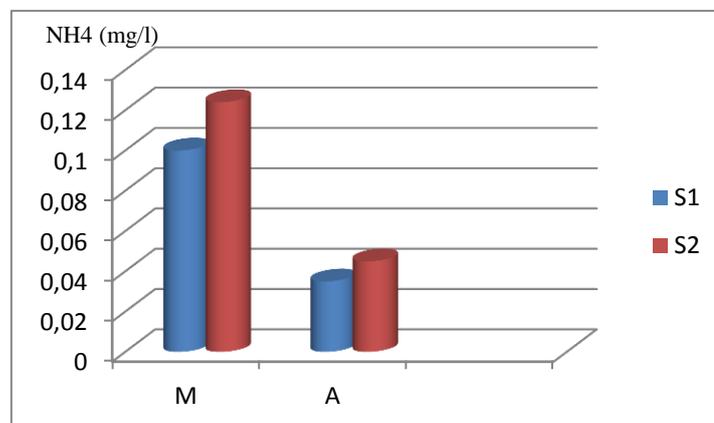


Fig 15 : Variation de teneur en ammonium dans l'eau

1.3.3. Nitrite :

L'ion nitrite est la principale forme d'azote inorganique, trouvée dans les eaux. Il s'oxyde facilement en ion nitrate et se retrouve ainsi rarement en concentration importante dans les eaux, leur présence indique un état critique de pollution organique.

L'histogramme ci-dessous nous montre que les teneurs en nitrites enregistrées dans les deux stations ne dépassent pas les normes requises par l'OMS pour les eaux potables. Le maximum enregistré est de 0.016 mg/l au niveau de la station 2 et un minimum de 0,003 mg / l à la station 1. En plus, ici nous remarquons que les variations spatiaux-temporelles de la teneur en nitrite varient d'une manière linéaire avec ceux de l'ammonium.

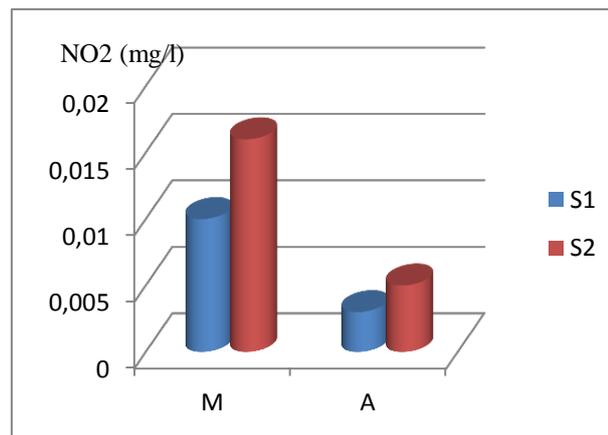


Fig.16 : Variation de la teneur en nitrite dans l'eau

1.3.4. Nitrate :

D'après l'histogramme ci-dessus (fig :) montrant l'évolution de ce paramètre, les concentrations oscillent entre 0,79 mg/l et 0,106 mg/l durant la période ces deux périodes. Selon la grille de classement, l'eau est de bonne qualité. Bien que la teneur n'est pas significative, mais il y a une certaine irrégularité à la station 1 (S1, mars).

Cet élément est réduit en azote atmosphérique par les *Bacillus*, les *Pseudomonas* dans des conditions anaérobioses (G. Barnaud, 2007), et pourtant nous observons sur la fig : (température) que pendant cette période la température n'a pas été favorable pour les conditions anaérobiose, donc une accumulation dans le milieu, mais aussi une partie peut provenir du lessivage des sols.

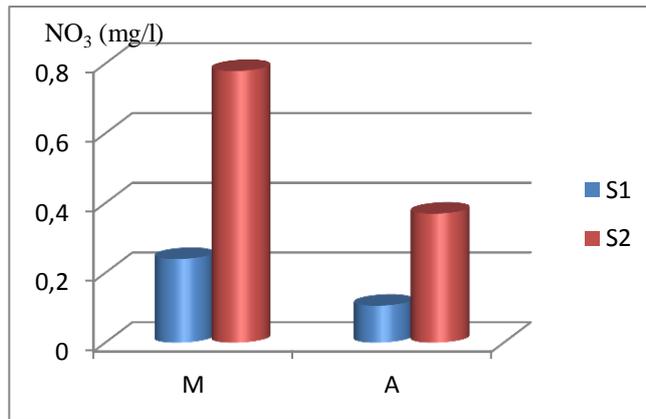


Fig. 17 : Variation de la teneur en nitrate dans l'eau

1.3.5. Demande chimique en oxygène (DCO) et demande biologique en oxygène (DBO₅) :

La combinaison ou le rapport de ces 2 paramètres globaux de pollution DCO et DBO₅ permet une bonne approche de la biodégradabilité. Il s'exprime dans le même système d'unités, à savoir la quantité d'oxygène consommé (mg/L d'oxygène).

Les résultats des analyses sont résumés dans les tableaux ci-dessus :

Tableau 4 : valeurs enregistrées de DBO5 et DCO pendant le mois de mars et avril

	Mars		Avril	
	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2
DCO	61,6 mg/l	52,8 mg/l	100 mg/l	Non disponible
DBO₅	38,4 mg/l	26,4 mg/l	51,7 mg/l	Non disponible
DCO/DBO₅	1,6	2	1,93	Non disponible

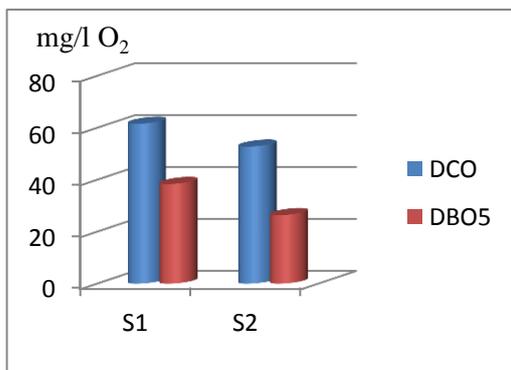


Fig 18 : variation spatiale de la DBO5 et DCO

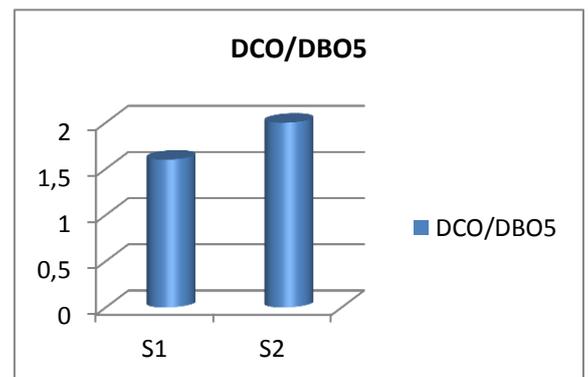


Fig 19: variation spatiale de la DBO5/DCO

La DBO₅, une valeur maximale de 61,6 mg/l d'oxygène à la station 1, pour le mois d'avril et une minimale de 26,4 mg/l d'oxygène consommé par les bactéries enregistrée à la station 2 au mois de mars. Concernant la DCO, une valeur maximal de 100 mg / l d'oxygène au mois d'avril à la station 1 et 26,4 mg/l qui correspond à la valeur minimale enregistré à la station 2 pour le mois de mars. Malheureusement on n'a pas pu faire l'analyse de l'échantillon de la station 2 au mois des mars.

Ces résultats nous montrent que l'eau de Garaet Sidi Fritis est placée dans la grille des eaux à pollution excessive. (Voire annexe 2)

Quant aux pouvoirs épurateurs, après avoir calculé les rapports, nous trouvons que la station 2 au mois de mars était un milieu réducteur (voir fig :) à dominance matière organique. La station 1 le rapport a progressé de 1,6 au mois de mars, à 1,93 au mois d'avril.

1.4. Les paramètres géochimiques

1.4.1. Le bicarbonate (HCO₃⁻) :

On a enregistré une concentration maximale de 91,5 mg/l pendant le mois de mars à la station 1, et une minimale de 40,26 à la station 2 pour le mois d'avril. Au point de vue quantitative c'est une concentration normale. Mais l'évolution temporaire de ce paramètre est étrange car ceci varie avec la température et le pH; dans les conditions normales, néanmoins ce n'est pas le cas.

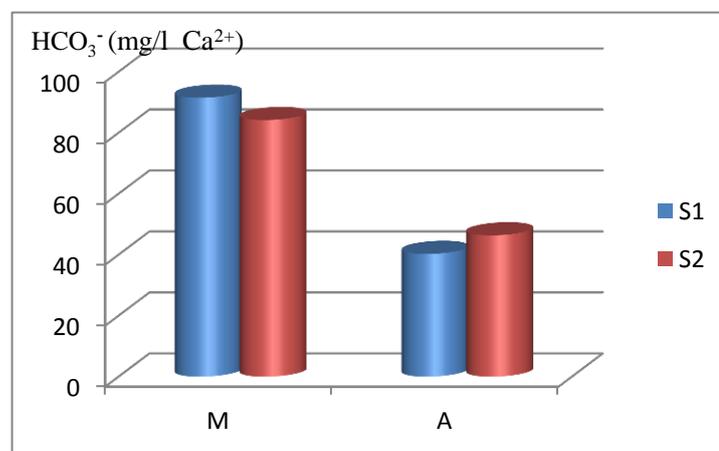


Fig. 20 : Variations spatiaux temporelles des hydrogencarbonates

1.4.2. Taux de sels dissouts

Les résultats de la teneur en sels dissouts nous permettent de confirmer les résultats de la conductivité électrique. En effet le mois de mars on a enregistré une valeur maximale de 174 mg / l à la station 1 et une minimale de 105 mg/l à la station 2, au mois d'avril. Les variations temporaires de TDS et la conductivité (fig : 12) varie d'une manière linéaire.

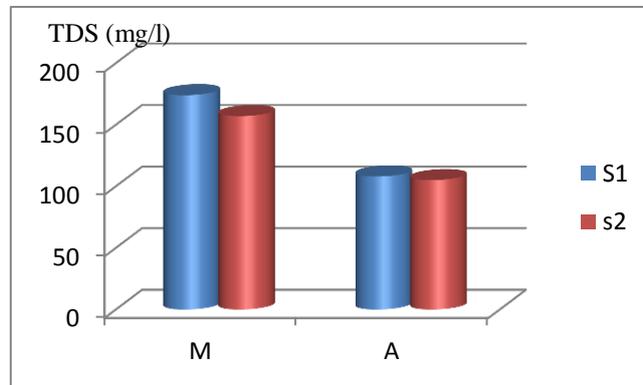


Fig 21 : variation spatiaux temporelles du taux de sels dissouts

1.4.3. Titre alcalin (TA) et titre alcalin complet (TAC)

Dans les eaux naturelles, l'alcalinité résulte le plus généralement à la présence d'hydrogencarbonates, carbonates et hydroxydes. Pour une eau ne contenant que des hydrogencarbonates, $TA = 0$, $TAC = HCO^{-3}$. Ainsi les eaux présentant un pH inférieur à 8,3 ont un TA qui est nul. (J. Rodier, 2009)

Effectivement on a TA égale à 0 °f. Pour le TAC une valeur de 7,5 °f au mois de mars qui correspond à la valeur maximale et 3,8 °f ; le minimale, pour le mois d'avril. En plus cette teneur est à peu près égale à la concentration de l'hydrogencarbonate.

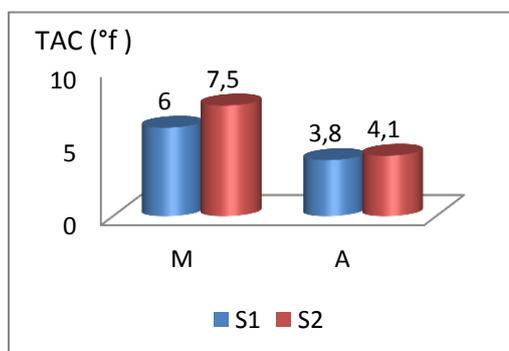


Fig 22 : variation de TAC

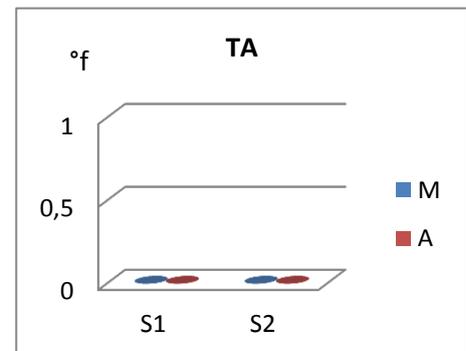


Fig 23 : variation de TA

1.4.4. Le Calcium :

Le calcium est un métal alcalino terreux extrêmement répandu dans la nature et en particulier dans les roches calcaires sous forme de carbonates.

Les analyses de cet élément nous a donné : une valeur maximale de calcium égale à 29 mg / l à la station 2 au mois d'Avril et une valeur minimale égale à 12,54 mg/l dans la station 1 durant le mois d'avril. Ceci peut être lié directement à la nature géologique des terrains traversés par l'eau.

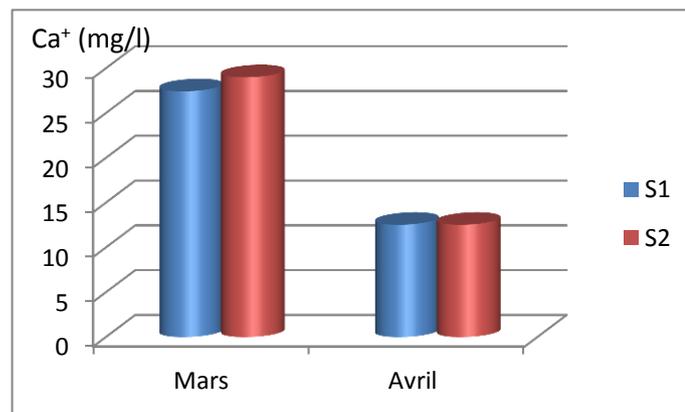


Fig 24: Variation spatiaux temporelle de la teneur en calcium.

1.4.5. Magnesium (Mg^{2+}) :

Les teneurs du magnésium sont assez proches les unes des autres durant les deux mois. La valeur maximale enregistrée pendant le mois d'Avril est de 10,8°f à la station 1 et une valeur minimale de 7,5 °f à la station 1 pour le mois de mars . Nous remarquons que la variation de cet élément n'est pas significative. Ce sont des valeurs dites acceptables

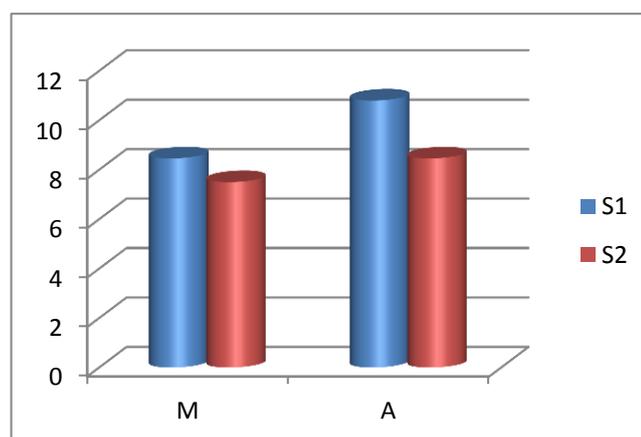


Fig. 25 : Variation du taux de magnésium dans l'eau

1.4.6. Dureté ou titre hydrotimétrique (TH)

Le titre hydrotimétrique total exprime (approximativement) la teneur de l'eau en sels de calcium et de magnésium.

La valeur de la dureté maximal est de 35 °f, il a été enregistré au mois de mars à la station 1, pour le mois d'avril une baisse significative de la concentration jusqu'à une valeur de 8,46 °f pour les deux stations. Selon la grille du classement des eaux en fonction de la dureté, nous sommes face à une eau dure. (Voir annexe 2)

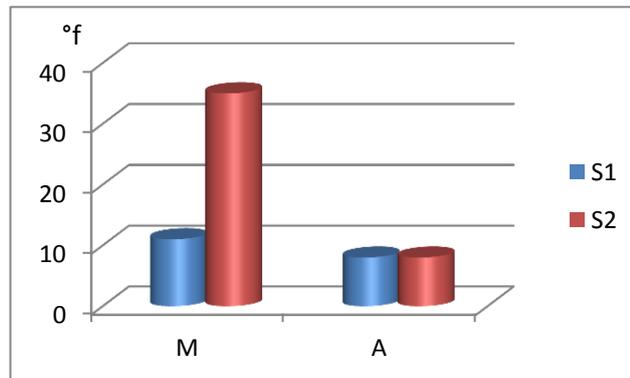


Fig . 26 : Variation spatio-temporelle de la dureté

1.4.7. Chlorure (Cl⁻) :

Nous avons trouvé une concentration de 71 mg /l dans les deux station pour le mois de mars et 56,8 mg / l aux deux station pour le mois d'avril. Nous remarquons qu' il n y a pas une variation spatiale, mais aussi la variation temporelle n'est pas aussi significative, ceux-ci peut s'expliquer par le fait que , aux pH habituels des eaux, ne permet pas de donner de réaction d'hydrolyse, ni de réaction de précipitation. Ainsi leurs concentrations varient de façon indépendante dans les eaux. (J. Rodier, 2009)

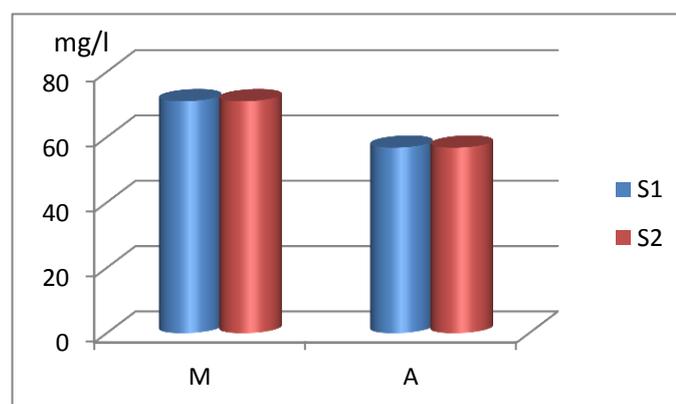


Fig.27 : variation spatio-temporelle de chlorure

1.4.8. Sulfate :

Dans les terrains ne contenant pas une proportion importante de sulfates minéraux, elle peut atteindre 30 à 50 mg/l. En agriculture, des concentrations élevées peuvent poser des problèmes, pour l'irrigation et l'abreuvement. (J. Rodier, 2009)

Les analyse des ions sulfates ont été fait seulement au mois de mars, pour des raisons particulier. On a enregistré une concentration maximal de 33,6 mg/l à la station 2, et 30,75 mg/l. ce qui represnte une legere augmentation au niveau de la station 2, elle peut avoir comme origine l'oxydation chimique ou biologique d'autre composés soufrés, en sulfate

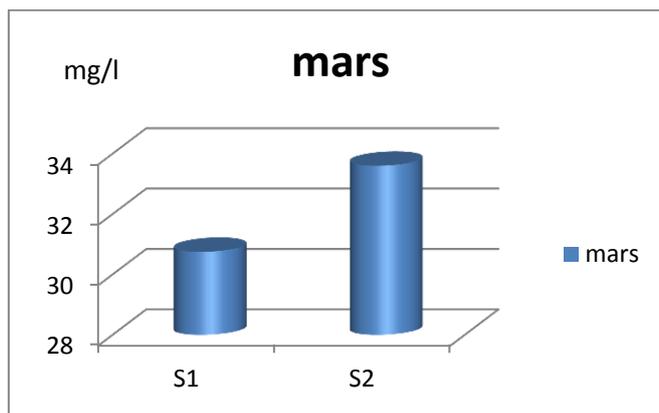


Fig 28: variation spatiale de sulfate

1.4.9. Le fer (Fe^{2+}) :

Le dosage du fer a été fait seulement pour le mois de mars dans les deux station. nous avons enregistré la meme valeur qui est 0,2 mg/l, ceux-ci nous montre que cette eau est de bonne qualité en se referent à la valeur guide (0,3 mg/l) proposée par l'OMS.

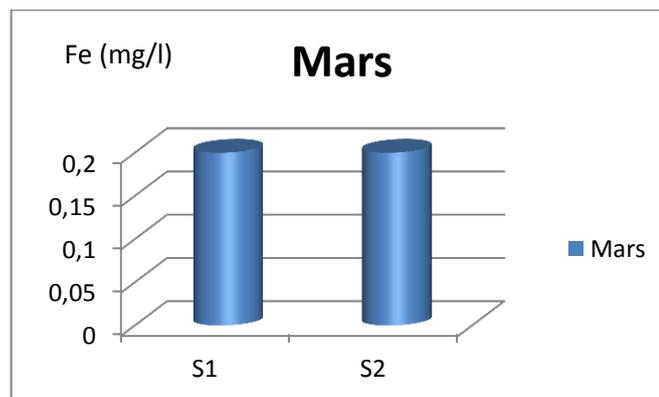


fig 29 : variation spatiale du fer

2. Resultats des analyses bactériologiques :

2.1. La recherche et dénombrement des germes :

2.1.1. Les germes totaux :

Les résultats de nos analyses sont illustrés dans l'histogramme suivant (fig : 30) :

Concernant les germes revivifiables à température de 22°C nous avons dénombrés 15000 UFC, pendant le mois d'avril à la station 2 et un minimum de 1300 UFC à la station 1 au mois de mars. Pour les autres boîtes incubées à 37°C ; 7600 UFC enregistrées à la station 2 au mois de mars et un minimum de 520 UFC à la station 1 au mois d'avril.

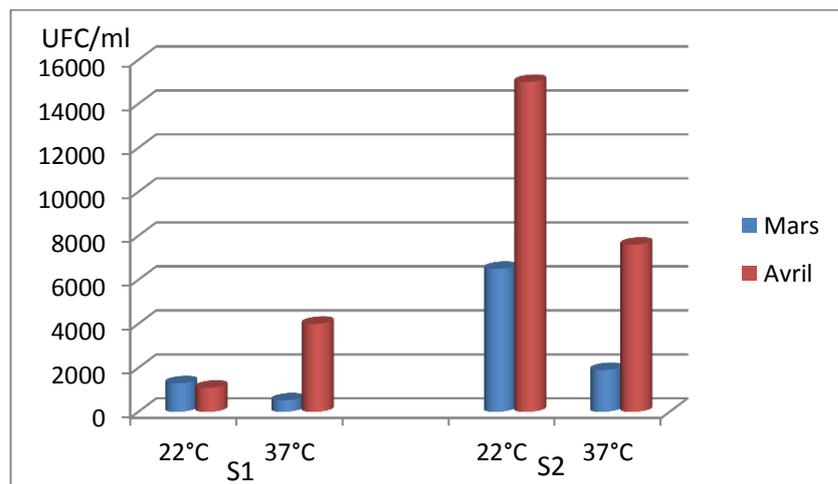


Fig 30 : Recherches et dénombrement des micro-organismes revivifiables dans l'eau

Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique.

2.1.2. Les coliformes totaux :

Des résultats inquiétants sont enregistrés. La station 2, nos analyses ont donné 3000 UFC / 100 ml d'eau analysée pendant le mois de mars, et une valeur minimale de 65 UFC / 100 ml d'eau à la station 1 au mois d'avril. La valeur record à la station 2 peut avoir comme origine d'une contamination fécale. Cette valeur a dépassé la valeur limitée imposée par l'OMS pour les eaux destinées à l'irrigation. (Voir annexe 2)

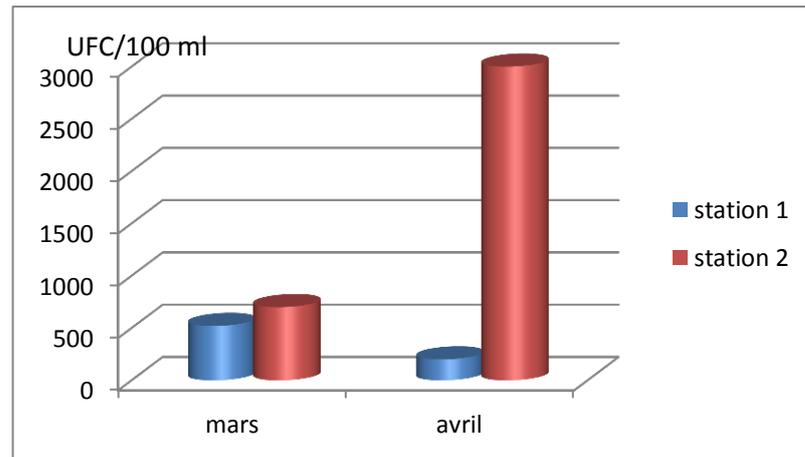


fig 31 : variation spatio-temporelle des coliformes totaux

Ces valeurs nous montrent que la pollution microbiologique est bien présente, mais il reste à déterminer si elle contient des germes pathogènes comme *E. coli*.

2.1.3. Recherche et dénombrement coliforme thermo-tolérant à 44°C (*E. coli*) :

Les résultats ont donné 1900 UFC / 100 ml d'eau analysée à la station 2 et un minimum de 100 UFC / 100 ml d'eau à la station 1, au mois de mars. Ces résultats nous montrent qu'il y a contamination fécale au niveau de la Garaet.

D'après ces résultats, cette eau a franchi la barre rouge de la qualité microbiologique des eaux destinées à l'abreuvement des animaux. (Voir annexe 2)

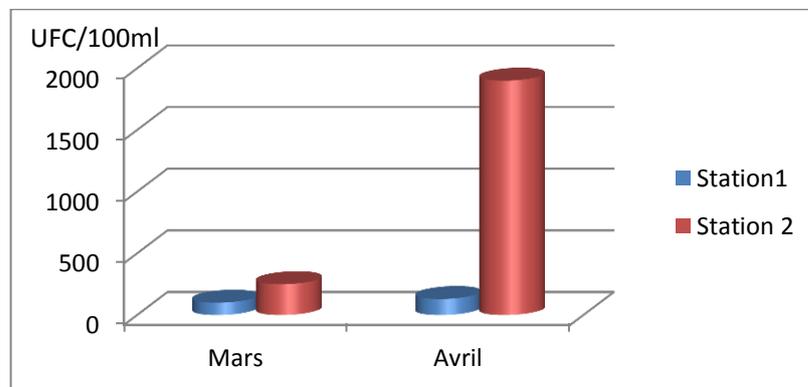
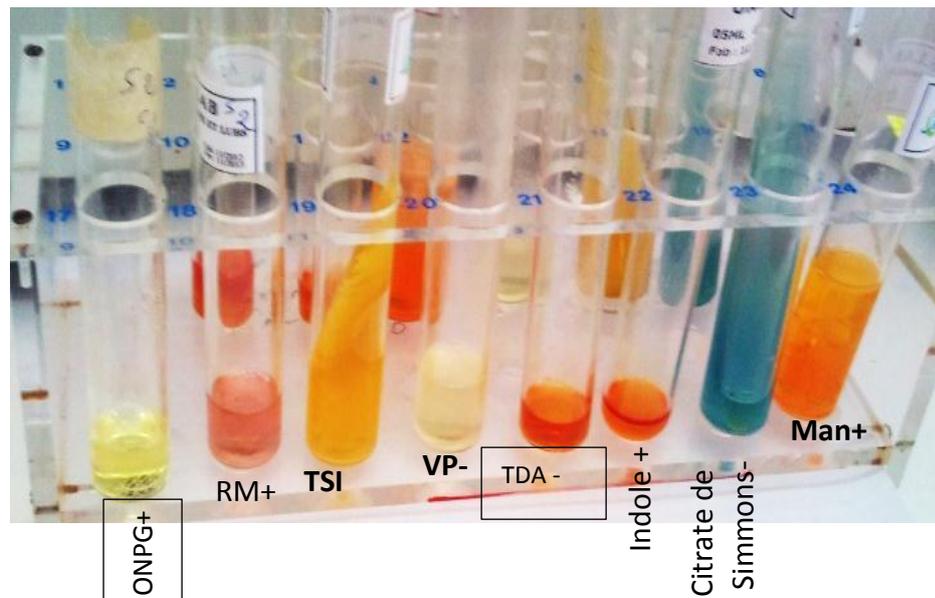


Fig 32: Evaluation de coliformes thermo-tolérants à 44°C

On a pris quelques colonies jaune orangé, puis repiqué sur GN pour des tests de confirmations ; les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 5 : résultats d'identification biochimique d'*E. coli*

Milieux	Tests	Caractères observés	Réaction	Espèces
TSI	Glucose	Changement du couleur du culot, du rouge au jaune	+	<i>Escherichia coli</i>
	Lactose / saccharose	Pas de changement de couleur sur la pente	+	
	H ₂ S	Noircissement du milieu	+	
	Gaz	Bulles de gaz dans la masse	+	
Mannitol	F. mannitol	Virage du couleur, rouge en jaune	+	
	Mobilité	Développement des bactéries le long de la pique	+	
Citrate de Simmons		Pas de virage de couleur	-	
Disque d'ONPG	B-galactosidase	Coloration jaune	+	
Clark et Lubs	VP (Voges-Proskauer)	Pas de virage de couleur	-	
Urée-indole	Uréase		-	
	Indole		+	
	TDA		-	

Fig 33 : galerie classique pour l'identification d'*E. coli*

La présence d'*E. coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation.

2.1.4. Les streptocoques fécaux :

On a compté 400 UFC/100 ml d'eau analysée, pour la station 2 pendant le mois d'avril, ceux-ci repente la valeur maximale, et un minimum de 10 UFC /100 ml à la station 1 au mois d'avril.

Les résultats de la station 2 viennent confirmer la contamination fécale.

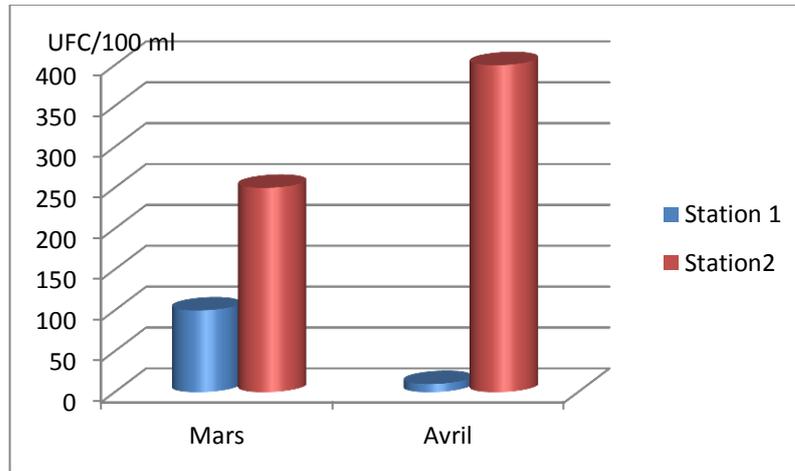


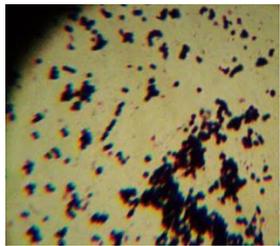
Fig 34 : variation spatio temporelle des streptocoques fécaux

2.2. Les germes pathogènes

2.2.1. Les staphylococcus

Dans les deux stations, sa présence été signalé pendant les deux périodes de prélèvement. Les caractéristiques de l'espèce isolé sur milieu Chapman sont résumés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 6 : observation macro et microscopique de staphylocoques

	Observation		
Culture sur milieu	Macroscopiques	Macroscopiques	Test catalase
			
Chapman	Colonie rose Mannitol +	des colonies en amas Gram positif	catalase positif

Espèces : *Aeromonas hydrophyla* gr

Cette espèce appartient à la famille des *vibrionnaceae*, elles sont isolées dans les eaux douées (bactéries dulçaquicoles), dans les eaux stagnantes, les eaux courantes, ou de lagunes recevant de l'eau douée et les eaux d'égout. Ce sont des bactéries caractéristiques des eaux de surface. Ils peuvent se multiplier dans les eaux douées en fonction des conditions de température, de pH et de la teneur en éléments nutritifs, ils seraient de bons indicateurs de l'état trophique de ces eaux.

Les infections à *Aeromonas* sont souvent liées à une contamination d'origine hydrique. Les germes pénètrent généralement dans l'organisme à la suite d'une effraction, à la faveur d'un traumatisme ou par voie digestive grâce à une lésion de la muqueuse. (*J. L. Avril et al, 1992*).

CONCLUSION

Conclusion :

Nous avons essayé dans le cadre de cette étude de déterminer la qualité physicochimie et bactériologique de Garaet Sidi Fritis ; un des lacs du complexe de zones humide de Guerbes Sanhadja. Les prélèvements des analyses ont été faites en deux périodes ; le mois de mars, considéré comme périodes des crues et le mois d'avril ; début de la période d'étiage, afin de comparer la variation temporelle des paramètres entre les deux saisons.

Les résultats obtenus ont montré que nous avons affaire à un Garaet qui se rapproche d'un niveau trophique eutrophe, cette dernière est causée principalement par les apports des orthophosphates et des nitrates, utilisés comme engrais chimique dans les champs voisins. Avec une DBO₅ classée dans la grille des eaux de mauvaise qualité.

Quant à la pollution bactériologique, la présence d'*E.coli*, à 1900 UFC / 100 ml, et des bactéries pathogènes comme *Aeromonas hydrophyla gr*, *staphylococcus capitis*, confirme bien une contamination fécale. Ceux-ci est un signale suffisante pour dire que cette eau présente un risque pour la santé du bétail mais aussi un risque pour la population qui consomme les produits agricoles de cette région.

A la lumière de ces résultats des paramètres physicochimiques et bactériologiques obtenus au cours de notre étude, la sonnette d'alarme doit être tirée à fin d'essayer de palier aux dangers qui menacent ce site exceptionnelle pour la biodiversité, car en effet, à terme le développement excessif d'algues causé par l'eutrophisation peut détruire et de façon irrémédiable ce lac, ceci en plus du risque sanitaire qui menace les populations riveraines qui consomment l'eau de la Gareat pour différents usages.

Donc il serait souhaitable de compléter nos travaux sur la Garaet Sidi Fritis par une étude des principaux facteurs responsable de la variation de certains paramètres géochimiques comme la TDS, l'alcalinité, afin de connaitre la relation qui pourrait exister entre le pompage excessif de l'eau de Garaet Sidi Fritis et la variation de ces paramètres.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

AG. BISSAKETT, MAGAWATA A. K., TOURE. I. S, 2012/ *Evaluation de la Qualité Physico – Chimique et Bactériologique de l'eau de Garaet Annk Djemel. (Hauts Plateaux de l'est Algérien) ./ Mémoire Master ,université de Guelma. 52 pages*

AIT KACI Malik et HAMDY Mohamed Salim, 2009 / *Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques et bactériologiques de l'embouchure /*

AOUISSI A., (2009). *Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-est de l'Algérie). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945 de Guelma.132p.*

ATLAS 3 , 2002 / *les 26 zones humides Algérienne d'importance internationale.*

ATOUSSE Sadek, 2008 /*ecologie des canards plongeurs dans la Garaet Hadj Tahar (Ben Azous, Skikda) / Mémoire de Magister ,Université 8 mai 1945 Guelma, 68 pages.*

AVRIL J. L., DABERNAT H., DENIS F., et MONTEIL H., 1992./ *Bactériologie Clinique / 2^e Edition Ellipses, 522 Pages.*

BARNAUD G., 2007 / *conserver les zones humides : pourquoi ? et comment ? / Edition Quae, 291 pages.*

BESSAKLIA H. et Gueraba A. ; 2012 / *qualité des eaux de puits en milieux rural en Algerie (Region de Hammam N'Bails, Guelma / mémoire master , Université 8 mai 1945 Guelma, 92 Pages.*

BOEGLIN J-C / *Contrôle des eaux douces et de consommation humaine /*

BOUDINARD / *contribution à la caractérisation physico-chimiques des eaux des dépression humides de la plaine de Guerbeès-Sanhadja. / Mémoire master ,université Badji Mokhtar, Annaba. 26 Pages.*

De Belaire G,1990 / *structure , fonctionnement et perspectives de gestion de quatre écosystème lacustre et marécageux (El-Kala,Est algérien) / These de doctort Montpellier, 193 pages*

DELARRAS C. , 2007 / Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire / Edition Lavoisier , 463 pages

DELARRAS C. , 2008/ surveillance sanitaire et microbiologie des eaux / Lavoisier ,261 pages.

DROBENKO B. et SIRONNEAU J. 2010 / code de l'eau / 2^e edition JOHANET

Duncan Mara and Nigel Horan, 2003 / Handbook of Water and Wastewater Microbiolog / School of Civil Engin eering, University of Leeds, UK , 621 Pages

DUPUY Y. et NOUGIER P., 2005 / Les microorganismes , du gene à la biosphere / Edition Elipses, 253 Pages .

GABRIEL B. , 2005/Wastewater microbiology, 3^e ed. /Wiley-liss, 729 pages.

GEOGES P., 2007/ cycle biogéochimiques et écosystèmes continentaux / EDP Sciences, 482 pages.

KARAALI R., KHETTAL M. et REGGAM R. , 2009 / Etude comparative de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées avant et après épuration : cas de la station d'épuration de la Ville de Guelma (Nord-est Algérien) / mémoire d'Ingénieur, université 08 mai 1945 Guelma, Agerie

LAURANT T. 2003 / Hydrologie : mers fleuves et lacs /Armand colin -VUEF, , 190 pages

NOEL R.K., James T. S. , Daniel R. B., B.P. Hedlund, Bruce J. P. , Naomi L. W. , Wolfgang Ludwig and William B. W. , 2010 / Bergey's manual of systematic bacteriology / 2e edition ,volume 4, 976 Pages.

PELMONT J. , 2005 / Biodégradations et métabolismes, les bactéries pour les Technologies de l'environnement / Edition EDP Sciences, 798 pages .

PRESCOTT M. , HARLEY , KLEIN , / microbiologie / 2^e Edition française

RODIER J. , 2009/ L'Analyse de l'eau, 9^e ed./ Dunod, Paris, 1579 pages

VILAGINES R., 2010 / Eau ,Environnement et santé publique / 3^e edition , Lavoisier , 215 Pages.

Sites webs :

[1]. <http://environnement.wallonie.be> 12/03 /2013

[2]. <http://www.secchidipin.org/tsi.htm> 20/05/2013

ANNEXE 2

Galeries biochimiques classiques :

La galerie est composée des milieux solides et liquides.

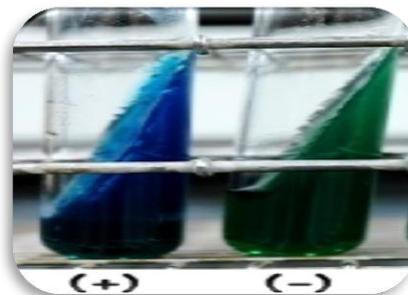
❖ Les milieux solides :

Utilisation de citrate :

Pour ce test, nous utilisons le milieu citrate de Simmons, celui-ci contient qu'une seule source de carbone: le citrate. Seules les bactéries possédant une perméase sont capables de se développer sur ce milieu. Il contient également du phosphore mono-ammoniac servant à la fois source d'azote et de phosphore.

➤ **Technique :**

- La pente du milieu est ensemencée à partir d'une suspension bactérienne en eau distillée.
 - Incuber à 37°C pendant 24h.
 - ✓ Bactéries citrate positive : culture avec alcalisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu) ;
 - ✓ Bactéries citrate négative : pas de culture (coloration verte du milieu inchangée)
-
- Faire un repiquage des bactéries en milieu liquide ou solide. Recueillir les bactéries des cultures jeunes du dépôt (après centrifugation de la culture liquide) ou directement du milieu solide avec une anse ou un fil et mélanger dans une goutte d'eau stérilisée.
 - Faire un frottis sur une lame en étalant une goutte de la suspension microbienne.
 - Laisser sécher le frottis.
 - Ensuite, faire la fixation en passant rapidement la lame 3 fois à l'intérieur de la flamme d'un bec Bunsen ou par une technique équivalente.
 - Après refroidissement, faire la coloration.



Test de citrate.

☞ Etude de la mobilité :

➤ Principe :

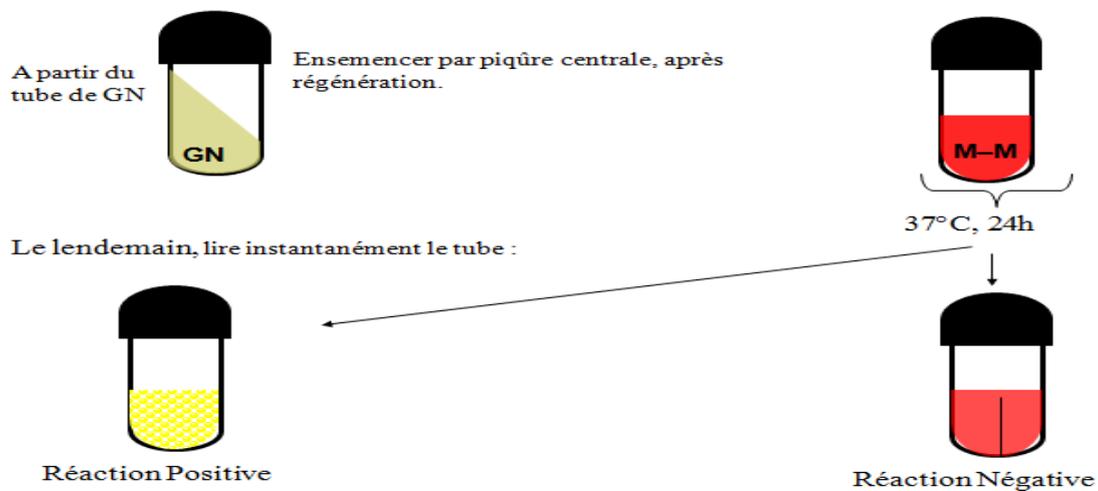
Cette étude est faite sur milieu mannitol-mobilité qui permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité.

➤ Technique :

Nous ensemençons par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur, chargé de culture en milieu solide. Nous incubons 18 à 24h à 37°C.

La fermentation du mannitol entraîne le virage au jaune du milieu :

- ✓ Si le germe est très mobile, la masse microbienne envahit tout le tube ;
- ✓ S'il est peu mobile, elle se développe le long de la piqûre et se réduit à de petites ramifications ;
- ✓ Enfin, s'il est immobile, il se développe seulement dans la trace de la piqûre qui demeure fine et nette.



Etude de mobilité dans le milieu mannitol-mobilité.

☞ Utilisation des hydrates de carbone :

➤ Principe :

Ce milieu complexe permet de confirmer la fermentation du glucose (caractère d'identification de famille, avec ou sans production de gaz) et d'orienter l'identité du genre par l'attaque du lactose et de la production d'H₂S.

➤ Technique :

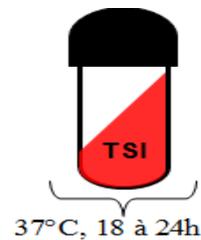
Ensemencer la pente (du milieu TSI) par une strie centrale, puis le culot par piqûre en profondeur. Nous incubons à 37°C pendant 24h.

La lecture est toujours effectuée entre 18 et 24h. Ce milieu fournit plusieurs indications :

- ✓ Changement de la couleur du milieu du rouge au jaune (la pente et le culot) donc fermentation du glucose, lactose et saccharose.
- ✓ Production de gaz : bulles dans la masse du milieu ou encore les parois ou poche gazeuse décollant le culot.
- ✓ Noircissement du milieu donc H_2S positif.



Ensemencer 1 tube de TSI :
 - à l'aide de stries serrées sur la pente
 - suivies d'une piqûre centrale
 - ne jamais fermer la vis à fond



Exemple de lecture



- Pas de fermentation du Lactose ni du Saccharose

- Fermentation du Glucose avec production de gaz
 - Production d' H_2S traduisant la formation de sulfure de fer

Ensemencement sur le milieu TSI.

❖ Les milieux liquides :

☞ Production d'indole :

Certaines bactéries transforment le tryptophane en indole.

➤ Principe:

L'indole provient de la dégradation du tryptophane sous l'action de la tryptophanase, certaines bactéries sont incapables d'amputer le tryptophanase de sa chaîne latérale.

➤ Technique :

Ensemencer un tube d'eau peptonée avec la bactérie à étudier. Après 24 heures de culture à $37^\circ C$. Ajouter quelques gouttes du réactif de Kovacs ; l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu et le fait d'une réaction positive. Si l'anneau reste jaune-brun, la réaction est négative.



Réaction d'indole positive.



Réaction d'indole négative.

☞ **Test Urée :**

➤ **Principe :**

L'uréase libère de l'ammonium à partir de l'urée.

➤ **Technique :**

Nous piquons une colonie isolée sur le milieu GN dans un tube Urée-indole.

Après incubation à 37°C pendant 24h, la réaction est positive s'il y a apparition de couleur rouge ou orangée.

☞ **Recherche de la nitrate-réductase :**

Certaines bactéries peuvent utiliser les glucides en anaérobiose, en présence d'un accepteur d'hydrogène qui peut être l'ion NH_3^- . Elles possèdent alors l'enzyme NR. Les Nitrites sont alors mis en évidence par la réaction de diazotation de Griess Ilosway. D'autres bactéries réduisent les nitrites en hydroxylamine, ammoniac et azote qui se dégage. La mise en évidence des nitrates se fait alors en ajoutant un peu de poudre de zinc. En effet, en présence des nitrates, il y a réduction de ceux-ci en nitrites puis en azote, qui n'entraîne pas de changement de couleur du milieu, se traduisant par une réaction positive.

➤ **Principe :**

La dégradation du mannitol conduit à la formation du fructose dont l'attaque aboutit à des acides à chaînes très courtes (acide acétique, acide formique).

Le milieu mannitol –mobilité – nitrate, permet de rechercher en plus de la fermentation du mannitol et de la mobilité, la réduction des nitrates en nitrites en utilisant les réactifs de Griess.

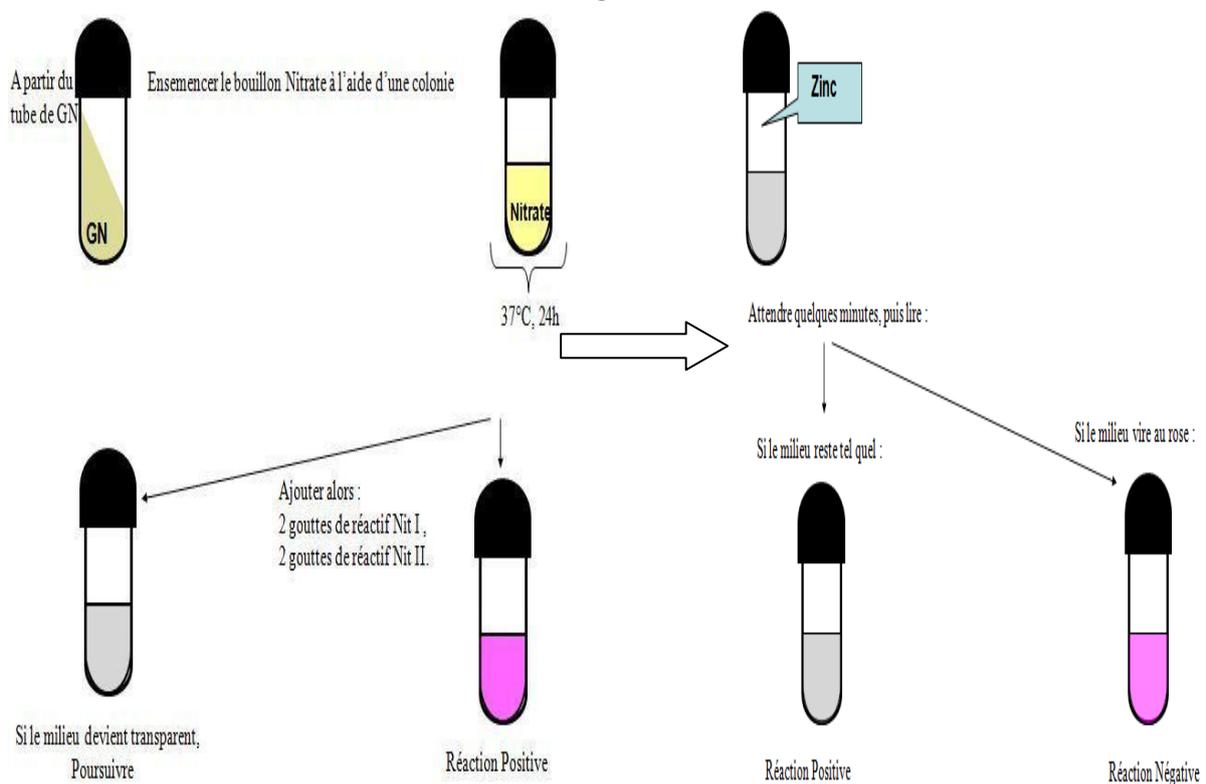


➤ **Technique:**

Nous ensemençons par piqûre centrale le milieu à l'aide d'un fil droit, chargé de culture. Nous incubons 18 à 24 heures à 37°C.

Pour la recherche du nitrate réductase, nous déposons à la surface du milieu 4 gouttes du réactif 1, puis 4 gouttes du réactif 2.

- Une coloration rose traduit la transformation des nitrates en nitrites ;
- Une absence de coloration transparente nous conduit à l'ajout de la poudre de zinc, dans ce cas :
 - Si le milieu reste tel quel, la réaction est positive ;
 - Si le milieu vire au rose, la réaction est négative.

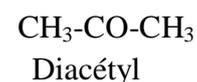
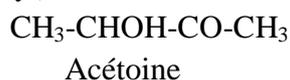


Recherche de nitrate-réductase.

☞ **Recherche des VP-RM :**

➤ **Principe :**

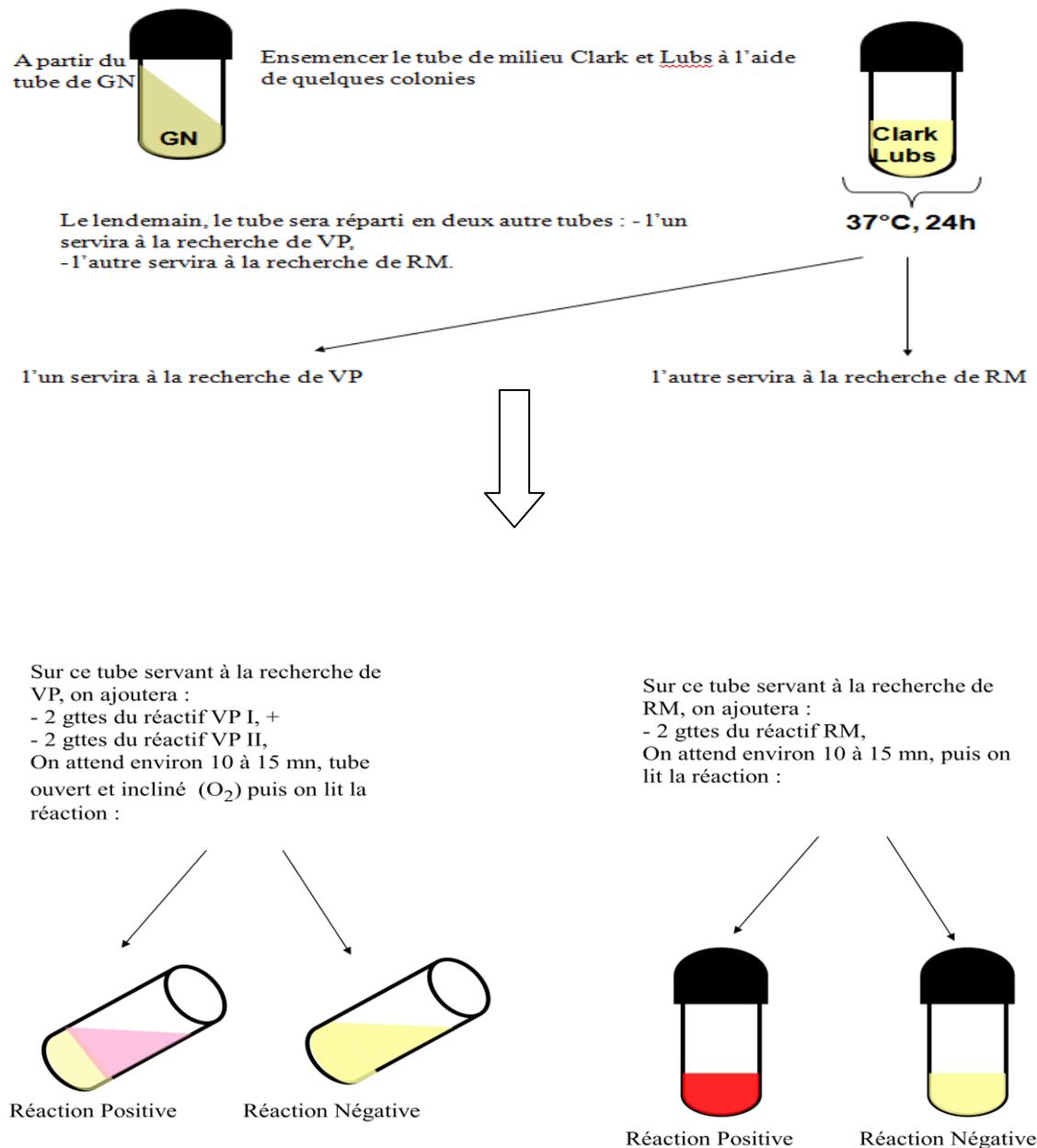
Certaines bactéries sont capables de produire de l'acétyl méthyle carbinol. En présence d'une base forte, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné (oxydation en diacétyl).



➤ **Technique :**

Nous ensemençons un tube Clark et Lubs, puis nous ajoutons 2 gouttes du VPI et laissons 30 mn, puis nous ajoutons 2 gouttes du réactifs VP II.

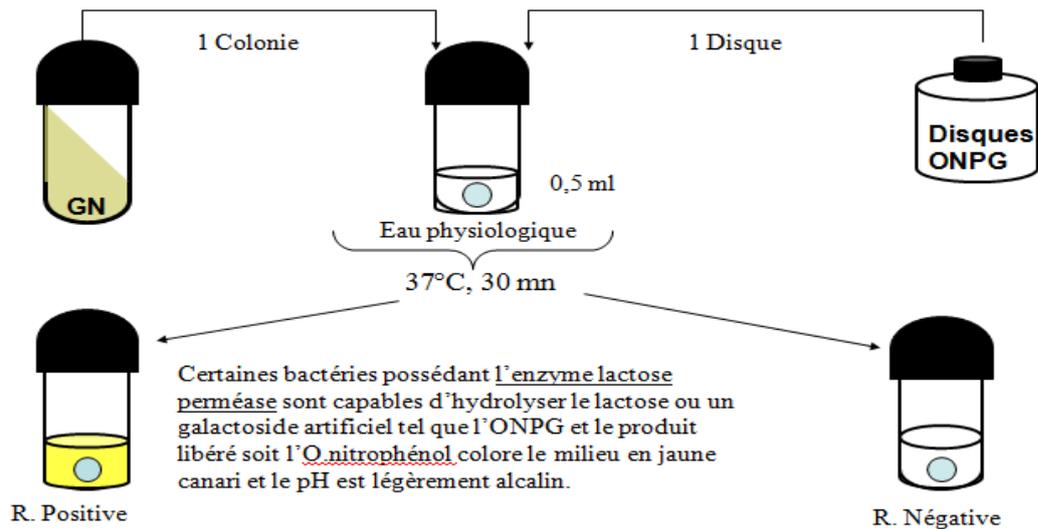
Une réaction positive se manifeste par une coloration rose ou rouge.



Recherche de type de fermentation.

API 20 E :

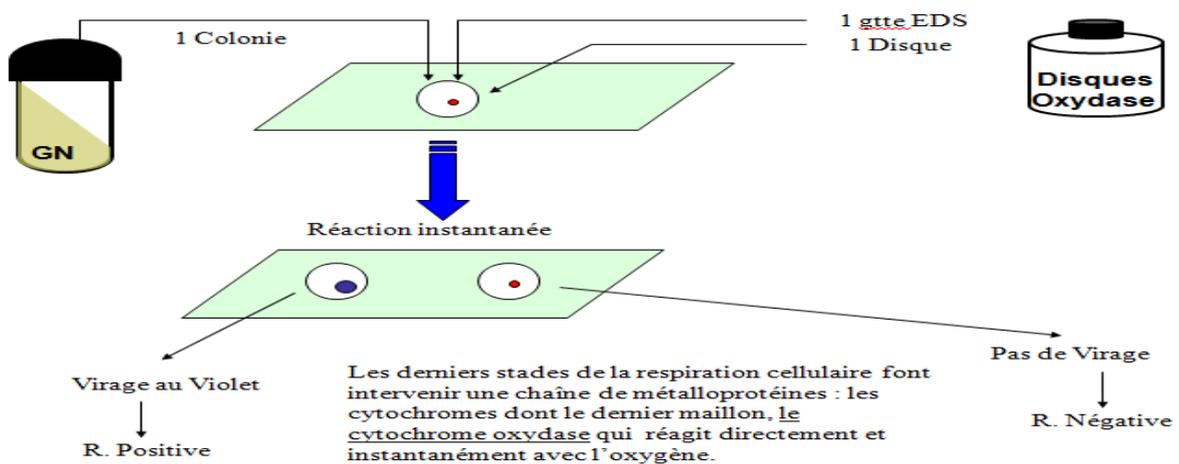
Destiné pour la famille des Enterobactériacées la galerie API 20E compte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période



Test de la β -galactosidase.

œ Test d'oxydase :

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec quelques gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. La présence d'une oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette (Fig.45).



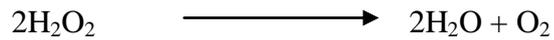
Test oxydase.

œ Test de la catalase :

➤ Principe :

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes est anaérobies facultatives.

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



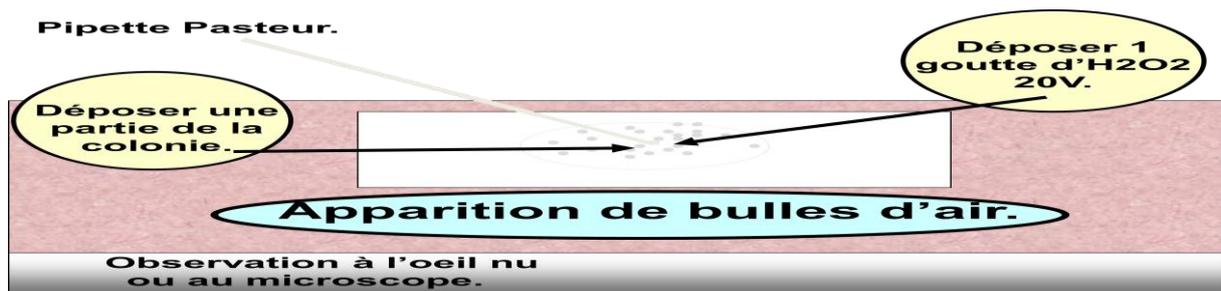
Permet de distinguer parmi les cocci à Gram positif les *staphylocoques* et les *streptocoques*.

✓ **Mode opératoire :**

Sur une lame porte-objet, déposer une goutte d'eau oxygénée à, puis émulsionner une anse de bactéries prélevées sur la culture en milieu gélosé de la souche.

✓ **Résultat :**

Si un dégagement de bulles de gaz (oxygène) apparaît(Fig.46), le test est dit positif.



Test de la catalase.

ANNEXE 2

Tab.8. Aspect des Entérobactéries courantes sur TSI. (in Lebres et col 2006).

	E.coli	Shigella	Salmonella			Citro bacter	Klebsiella	Serratia	Proteus	Providencia
			S.typhi	S.paratyphi A	Autres sérotypes					
Pente	jaune	rouge	rouge	rouge	rouge	rouge	jaune	jaune	rouge	rouge
H₂S	-	-	+/-	-	+++	+++	-	-	+++	-
Gaz	+	-	-	+	+	+	++	-	+	+

Tab.9. Tableau de lecture de l'API20E. (www.Api.20Ebiomerieux.com).

micro tube	SUBSTRAT	REACTIONS/ENZY ME	RESULTATS	
			NEGATIVE	POSITIVE
ONPG	ortho-nitro-phenyl-B-D-galactopyranoside	beta-galactosidase	incolore	jaune
ADH	arginine	arginine dés hydrolase	jaune	rouge / orange
LDC	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orange
ODC	ornithine	ornithine décarboxylases	jaune	rouge / orange
[CIT]	sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	bleu-vert/ bleu
<u>H₂S</u>	Thiosulfate de sodium	production d'H ₂ S	incolore	noir
URE	urée	uréase	jaune	rouge / orange
TDA	tryptophane	tryptophane désaminase	jaune	noir
IND	tryptophane	production d'indole	incolore	rose

[VP]	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<u>VP 1 + VP 2 / 10 (5)</u>	
			incolore rose/rouge	
[GEL]	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	diffusion de pigment noir
GLU	glucose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune/ 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	sucrose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	melibiose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdalin	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	arabinose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
NO ₃ -NO ₂	GLU tube	production de NO ₂ reduction N ₂ gas	<i>NIT 1 + NIT 2 2-3 min</i> jaune rouge	

Tab. 10. Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température. (in Merzoug, 2009).

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

>30°C	Mauvaise	4
-------	----------	---

Tab. 11 : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique. (in Merzoug, 2009).

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

Tab.12. Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit). (in Merzoug, 2009).

NTU<5	Eau claire
5<NTU<30	Eau légèrement trouble
NTU>50	Eau trouble

Tab.13. Qualité des eaux en fonction de la quantité de Magnésium. (in Merzoug, 2009).

Magnésium mg/l	Qualité
<30	Bonne
50	Acceptable
400	Médiocre
>400	Excessivement polluée

Tab.14. Grille de qualité des eaux en nitrates. (in Merzoug, 2009).

Teneurs en nitrate (NO ₃ ⁻) mg/l	Qualité des eaux
<10	Bonne
10<NO ₃ ⁻ <20	Moyenne avec signe de pollution
20<NO ₃ ⁻ <40	Polluée avec une pollution nette
>40	La pollution est importante

Tab.15. Grille de la qualité des eaux en nitrite. (in Merzoug, 2009).

Teneurs en nitrites NO ₂ mg /l	Qualité des eaux	Classe
<0.1	Excellente	1A
0.1< NO ₂ < 0.3	Bonne	1B
0.3 <NO ₂ < 1	Passable	2
1< NO ₂ < 2	Médiocre	3
> 2	Excessive	4

Tab.16. Qualité des eaux en fonction de la dureté. (in Saliha et al , 2010).

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

Réglementation de l'OMS

Catégories	Conditions de réutilisation	Groupe Exposé	Œuf d'helminthe (NPP/ml)	Coliformes thermotolérants	Coliforme Fécaux (NPP/100 ml)
A	Irrigation de cultures pouvant être consommées crues, terrain de sport, parc public	Travailleurs Consommateurs Public	≤ 1	≤ 10000/litre	≤ 1000
B	Irrigation de cultures céréalières, industrielles, de fourrages, d'arbres fruitier et de pâturages	Travailleurs	≤ 1	Pas de contrainte	Pas de recommandation standard
C	Irrigation localisée de la catégorie B, sans exposition possible avec les travailleurs ou le public	-	Non applicable	Pas de contrainte	Non applicable

Tableau n°17 : Présentation et définition des quatre classes de qualité des eaux de surface.
(d'après ANRH, 2000)

- Classe I** : Eau de bonne qualité, utilisée sans exigence particulière.
Elle est représentée graphiquement par la couleur bleue.
- Classe II** : Eau de qualité moyenne, utilisée après un simple traitement. Représentée en vert.
- Classe III** : Eau de mauvaise qualité, ne peut être utilisées qu'après un traitement très poussé.
Représentée en jaune.
- Classe IV** : Pollution excessive, ne peut être utilisée qu'après traitements spécifiques et très onéreux.
Représentée en rouge.

Grille de la qualité organique de l'eau de surface

Qualité / Paramètres	I Situation normale	II Pollution modérée	III Pollution notable	IV Pollution excessive
Oxygène dissous (%)	90 -100	50 - 90	30 -50	>30
DBO5 mg/l	< 5	5 - 10	10 -15	>15
DCO mg/l	< 20	20 - 40	40 -50	>50
MO mg/l	< 5	5 - 10	10 -15	>15
MES (105°C) (mg/l)	< 30	----	---	30 à70

Grille de la qualité phosphorée de l'eau de surface.

Formes du phosphore	Situation normale	Pollution modérée	Pollution notable	Pollution importante
PO ₄ ³⁻ mg/l	≤ 0,01	0,01 - 0,1	0,1 - 3	>3

Grille de la qualité azotée de l'eau de surface

Formes de l'azote	Situation normale	Pollution modérée	Pollution notable	Pollution importante
NH ₄ ⁺ mg/l	≤ 0,01	0,01- 0,1	0,1 - 3	>3
NO ₂ ⁻ mg/l	≤ 0,01	0,01- 0,1	0,1 - 3	>3
NO ₃ ⁻ mg/l	≤ 10	10 - 20	20 - 40	>40

Estimation de la qualité.

La qualité est estimée par comparaison des résultats d'analyses aux bornes de la grille de lecture.
Cette estimation est basée sur le principe des 90%.

Pour moins de 10 mesures, la plus mauvaise valeur nous détermine la classe.

Tab17 :Echelle de carlson concluant au state trophique [2]

Stade trophique	Indice TSI	Transparence (m)	Phosphore total (µg/L)	Chlorophylle α (µg/L)
oligotrophe	0	64	0,75	0,04
oligotrophe	10	32	1,5	0,12
oligotrophe	20	16	3	0,34
oligotrophe	30	8	6	0,94
mésotrophe	40	4	12	2,6
mésotrophe	50	2	24	6,4
eutrophe	60	1	48	20
eutrophe	70	0,5	96	56
eutrophe	80	0,25	192	154
eutrophe	90	0,12	384	427
eutrophe	100	0,062	768	1183

ANNEXE 3

Les milieux de culture en boîtes que nous avons utilisés :

- Milieu de Chapman :

Le milieu de Chapman mannité est un milieu électif pour la culture des staphylocoques mais, exceptionnellement, d'autres germes peuvent y végéter ; la mise en évidence du staphylocoque devra toujours être confirmée par un examen microscopique.

☞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique.....	10
Extrait de viande de bœuf	1
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Gouge de phénol	0,025
Agar	15
pH : 7,5 (environ)	

☞ Préparation :

Verser 111g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- Gélose nutritive :

La gélose nutritive est un milieu qui convient à la culture des germes ne présentant pas d'exigences particulières.

☞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Chlorure de sodium	5
Agar	15
pH : 7,4 (environ)	

☞ Préparation :

Verser 28g dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

-Milieu de Slanetz et Bartley :

Ce milieu sélectif est utilisé depuis longtemps pour la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux (groupe D) dans les eaux par la technique de filtration sur membrane. Il est maintenant précisé qu'il convient pour la détection et le dénombrement des entérocoques dans l'eau.

☞ Composition chimique :

La formule du milieu déshydraté complet en g/l d'eau distillée est :

Tryptone.....	20
Extrait de levure.....	5
Glucose.....	2
Mono hydrophosphate de potassium(K_2HPO_4).....	4
Azide de sodium.....	0.4
Agar.....	10
Chlorure de triphényltétrazolium(TTC).....	50 mL
pH final : 7.2	

- Gélose lactosée au TTC et au tergitol :

Ce milieu sélectif est utilisé comme test présomptif, pour la recherche et le dénombrement des coliformes et des coliformes thermo tolérants (*E. coli*) dans les eaux, à l'aide de la technique de filtration sur membrane.

☞ Composition chimique :

La formule du milieu de base en g/l d'eau distillée est :

Peptone.....	10
Extrait de levure.....	6
Extrait de viande.....	5
Lactose.....	20
Bleu de bromothymol.....	0.05
Agar.....	12.75
pH final: 7.2	

Les milieux de culture solides et liquides en tubes :**- Milieu Clark et Lubs**

Ce milieu sert à l'étude de deux réactions :

- Réaction de rouge de méthyle (RM) ;
- Réaction de Voges-Proskauer (VP).

Elles sont utilisées en particulier dans la différenciation des *Entérobactériaceae* (test IMVIC : indole, RM, VP, citrate de Simmons).

☞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	5
Phosphate bipotassique	5

Glucose5

pH : 7,5 (environ)

☞ Préparation :

Dissoudre 15g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Mélanger jusqu'à dissolution complète. Répartir en tubes et stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- Eau peptonée exemple d'indole :

L'eau peptonée est un milieu liquide qui permet la croissance des germes ne présentant pas d'exigences particulières. Elle est surtout utilisée pour la recherche de la production d'indole.

☞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone exemple d'indole10

Chlorure de sodium5

pH final= 7,2

☞ Préparation :

Mettre 15g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution.

Ajuster, si nécessaire, le pH à 7,2. Répartir puis stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- Milieu mannitol - mobilité - nitrate:

Le milieu mannitol - mobilité – nitrate est utilisé pour la différenciation rapide des Entérobactéries. Il permet de rechercher simultanément la mobilité, l'utilisation du mannitol et la réduction des nitrates en nitrites.

☞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone20g

Nitrate de potassium2

Mannitol2

Rouge de phénol à 1%4

Agar4

pH final : 8,1- 8,2

☞ Préparation :

Mettre 28g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le

pH à 8,1- 8,2. Répartir en tubes de façon à obtenir un culot de 6 à 7cm. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

-Milieu de Schubert avec cloche de Durham :

Ce bouillon modifié par Fennel est confirmatif de la recherche et du dénombrement des coliforme thermotolérants et d'*E.coli* présumés dans les eaux.

☞ Composition chimique :

La formule de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Tryptophane.....	0.2
Acide glutamique.....	0.2
Sulfate de magnésium.....	0.7
Citrate de sodium.....	0.4
Chlorure de sodium.....	0.5
Peptone.....	2
Mannitol.....	10
Phosphate disodique.....	7.5
Phosphate monopotassique.....	4

pH final 7.2

- Milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons):

Le milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons) est un milieu solide utilisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Il permet la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone.

☞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Sulfate de magnésium	0,2
Citrate de sodium	2
Chlorure de sodium	5
Phosphate d'ammonium	0,2
Phosphate d'ammonium monosodique	0,8
Bleu de bromothymol	0,08
Agar	15

pH : 7,0 (environ)

- Gélose T.S.I (gélose glucose-lactose- saccharose- H₂S)

La gélose T.S.I est un milieu d'identification rapide pour les Entérobactéries. Ce milieu permet de mettre en évidence la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement gazeux), du lactose, du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré.

☞ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

Peptone	20
---------------	----

Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Citrate de ferrique	0,3
Thiosulfate de sodium	0,3
Lactose	10
Saccharose	10
Glucose	1
Rouge de phénolq.c
Agar	12

Les réactifs utilisés :

- Réactif rouge de méthyle (RM) :

Rouge de méthyle	0,5g
Alcool à 60°	100ml

- Réactif de Vosges Proskauer (VP) :

Pour la recherche de l'acétoïne :

VP1 :

Hydroxyde de potassium	40g
Eau distillée	100 ml

VP2 :

Alpha naphthol	6g
Ethanol	100m

- Réactif de Kowacks:

La mise en évidence de la production d'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde	5g
Alcoolamylique	75g
HCl pur	25ml

- Réactif de TDA :

Pour la recherche du tryptophane désaminase

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

Résumé :

Garaet Sidi Fritis est une des lacs du complexe de zones humides de la plaine de Guerbes Sanhadja, Situé au nord-est de l'Algérie, il se trouve à la commune de Ben Azzouz à l'est de la wilaya de Skikda. Le complexe à une superficie de 42100 hectares, et officiellement classé comme une zone humide protégée par la convention « Ramsar » depuis février 2001.

Notre travail consistait à faire une analyse physico-chimique et bactériologique de l'eau de la Garaet Sidi Fritis pendant les deux mois ; Mars et Avril en comparant les deux stations que nous avons choisies.

L'étude bactériologique a révélé la présence de contamination récente, mais aussi des bactéries à caractères pathogènes, comme *Aeromonas hydrophyla* gr, *Staphylococcus capitis*, étaient isolées durant cette période. Concernant les paramètres de pollutions, les composés azotés ont une teneur acceptable, cependant les orthophosphates atteignent des niveaux alarmants, son origines est probablement anthropique, et il est à craindre qu'à terme et que si rien n'est fait pour stopper cette pollution, que le phénomène d'eutrophisation fini par détruire totalement ce lac.

Mots clés : Garaet, analyses physicochimiques, analyses bactériologiques, eutrophisation.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie et Ecologie

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

Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de Garaet Sidi
Fritis (éco-complexe de zones humides de Guerbes Sanhadja Skikda Nord
Est Algérien).

Présenté par :

Halidi Houmadi

Membres de jury :

Président	: Dr. Kachi Slimen	(M. C.A)	université de Guelma
Examineur	: Mr. Bouchleghem El Hadi	(M.A.A)	université de Guelma
Promoteur	: Mr. Atoussi Sadek	(M.A.A)	université de Guelma

Juin 2013