

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'ÉCOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

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

Thème

Etude de la qualité bactériologique des eaux de quelques zones humides
du complexe de Guerbes-Sanhadja (Wilaya de Skikda)

Présenté par : Soumia ABDI

Zahra RAZKALLAH

Asma ZERARI

Devant le jury composé de :

Président : ROUIBI Abd El Hakim	M.A.A	Université de Guelma
Examineur: ATOUSSI Sadek	M.A.A	Université de Guelma
Encadreurs : HOUHAMDI Moussa	Pr.	Université de Guelma
MERZOUG Seyf Eddine	Attaché de recherche	CRBt Constantine

Juin 2013

Le complexe des zones humides de Guerbes Sanhadja (Wilaya de Skikda) l'un des principaux réservoirs de la biodiversité du bassin méditerranéen, représenté ici par Garaet Beni M'hamed ; Messaoussa ; Chichaya ; Sidi Makhoulf ; et Garaet Hadj Tahar. Ces zones humides sont extrêmement riches en biodiversité floristique et faunistique. Elles abritent à la fois un grand nombre d'oiseaux migrateurs et jouent un rôle important, notamment pour l'irrigation et le pâturage.

Au cours de notre étude réalisée pendant les deux mois (Mars et Avril) le dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale a montré des concentrations plus ou moins élevées en coliformes et en streptocoques fécaux surtout à Garaet Chichaya et Messaoussa, ainsi que la présence de quelques germes pathogènes (*Serratia*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*... etc.) à la majorité des stations.

Enfin, on constate que ces écosystèmes sont légèrement pollués à l'exception de deux sites et cela est dû surtout à l'élevage intensif, l'agriculture ainsi que la présence d'un grand nombre d'oiseaux d'eau dans ces sites. Donc il serait important de ne pas exploiter l'eau de ces sites afin de maintenir son équilibre, aussi d'éloigner les zones de pâturage à des endroits qui ne causent pas des dangers et des perturbations environnementales.

Mots clés : Complexe de Guerbes-Sanhadja, zones humides, contamination fécale, germe pathogène, pollution.



WORD TO PDF
Http://word-to-pdf.abdio.com
TRIAL
VERSION

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

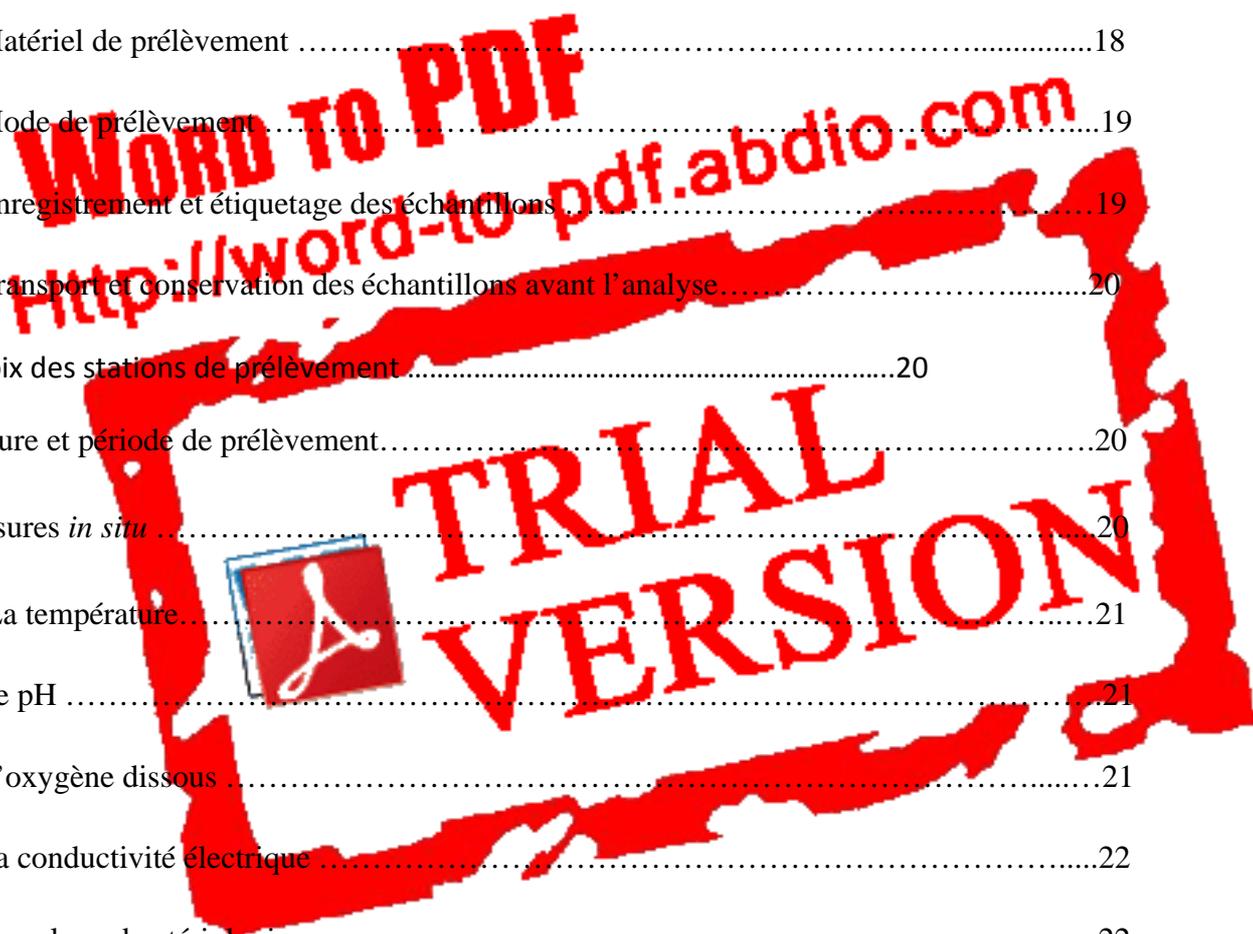
Chapitre I : Généralités et description de la zone d'étude

1. Définition d'une zone humide	3
2. Généralités sur la Numidie Algérienne	3
2.1. Généralité sur le complexe de zones humides de Guerbes-Sanhadja	5
3. Description de nos sites d'études	6
3.1. Garaet Hadj Tahar	6
3.2. Garaet Chichaya	7
3.3. Garaet Sidi Makhlouf	8
3.4. Garaet Beni M'Hamed	9
3.5. Garaet Messaoussa	9
4. Situation administrative	10
5. Etude climatique	10
5.1. Température	11
5.2. Les précipitations	12
5.3. L'humidité	12
5.4. Les vents	12
5.5. Synthèse climatique	12
5.5.1. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen	12

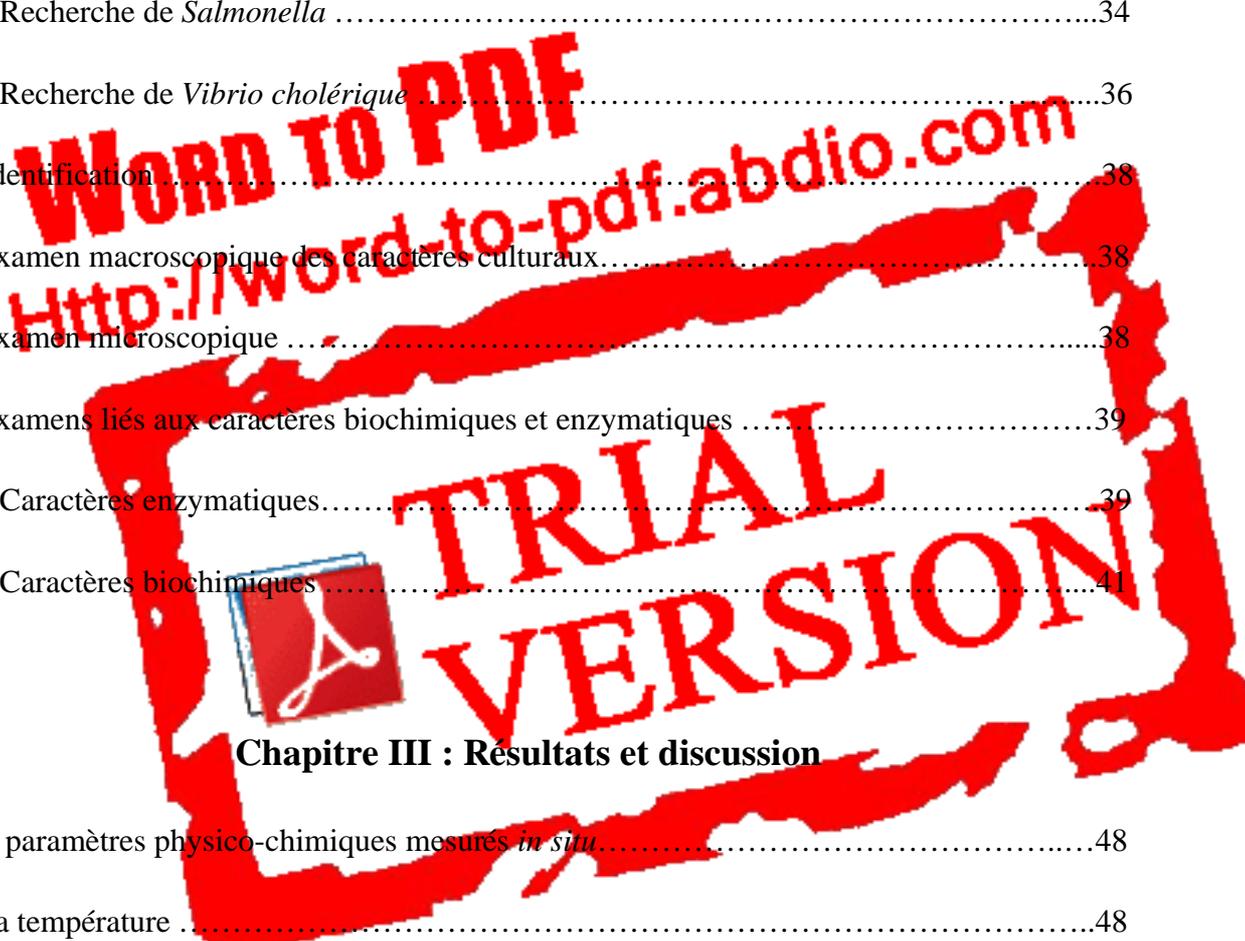
5.5.2. Quotient pluviométrique d'Emberger	13
6. Cadre biotique	14
6.1. La flore	14
6.2. La faune	15
7. Exploitation des sites	16

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Echantillonnage	18
1.1. Matériel de prélèvement	18
1.2. Mode de prélèvement	19
1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons	19
1.4. Transport et conservation des échantillons avant l'analyse.....	20
2. Choix des stations de prélèvement.....	20
3. Nature et période de prélèvement.....	20
4. Mesures <i>in situ</i>	20
4.1. La température.....	21
4.2. Le pH	21
4.3. L'oxygène dissous	21
4.4. La conductivité électrique	22
5. Les analyses bactériologiques	22
5.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C (germes totaux)	22
5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination fécale	24
5.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d' <i>Escherichia coli</i> en milieu liquide (méthode de NPP)	24



5.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (<i>Enterococcus</i>)	27
5.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (<i>Clostridium</i>).....	29
5.3. Recherche des germes pathogènes	31
5.3.1. Recherche des staphylocoques	31
5.3.2. Recherche de <i>Shigella</i>	32
5.3.3. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
5.3.4 Recherche de <i>Salmonella</i>	34
5.3.5. Recherche de <i>Vibrio cholérique</i>	36
6. L'identification	38
6.1. Examen macroscopique des caractères culturels.....	38
6.2. Examen microscopique	38
6.3. Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques	39
6.3.1. Caractères enzymatiques.....	39
6.3.2. Caractères biochimiques	41
Chapitre III : Résultats et discussion	
1. Les paramètres physico-chimiques mesurés <i>in situ</i>	48
1.1. La température	48
1.2. Le pH	49
1.3. La conductivité électrique	50
1.4. L'oxygène dissous	51
2. Les analyses bactériologiques	52



2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux	52
2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux	53
2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	56
2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-reductrices (ASR)	57
2.5. Résultat des germes pathogènes.....	58
2.5.1. Caractères morphologique et coloration de Gram.....	59
2.5.2. Résultats de l'identification biochimique.....	61
Conclusion.....	66
Références bibliographiques	
Résumé	
Abstract	
صخلم	
Annexes	

WORD TO PDF

[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



WORD TO PDF

[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



**TRIAL
VERSION**

The complex of wetlands Guerbes Sanhadja (Wilaya de Skikda) one of the main reservoirs of biodiversity in the Mediterranean basin, represented here by Garaet Beni M'hamed; Messaoussa; Chichaya; Sidi Makhoulf, and Garaet Hadj Tahar. These wetlands are extremely rich in biodiversity of flora and fauna. They are home to both a large number of migratory birds play an important role, especially for irrigation and grazing.

In our study for two months (March and April) the enumeration of fecal contamination indicators showed concentrations higher or lower coliform and fecal streptococci especially Garaet Chichaya and Messaoussa and the presence of some pathogens (*Serratia*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*...etc..) at most stations.

Finally, we note that these ecosystems are slightly polluted with the exception of two sites and this especially due to intensive farming, agriculture and the presence of huge numbers of waterfowl in these sites. So it is important not to use water from these sites in order to maintain balance, also away from grazing areas to places that do not cause hazards and environmental disturbances.

Keywords: Complex Guerbes-Sanhadja, wetlands, fecal contamination, pathogen, pollution.



WORD TO PDF
Http://word-to-pdf.abdio.com
**TRIAL
VERSION**

Dédicace

Nous tenons à remercier en premier lieu Allah qui nous a donnée vie et santé pour le parachèvement de ce modeste travail.

Je dédis le fruit de 17 ans de mes études surtout à :

A celui qui aurait été fier de moi : mon père Ibrahim et à celle qui m'a donnée beaucoup d'amour et qui m'a entouré de tout son affection ma mère Hakima et à ma grande mère aussi Messaouda que dieu le garde.

A mon cher frère : Khaled pour leur soutient moral, leur affection leur encouragement et leur sacrifices et chouayeb aussi que dieu le garde.

A mes très chères sœurs : sihem et son époux hassan et leurs enfants rayan, sami et mouhamed reda , Assia et sa fille nihed, halima et son époux Adel et sa petite djna qui née pendant la réalisation de ce travail.

A Seyf Eddine qui nous a encadrés et ce mémoire n'aurait pas été possible sans leur intervention et qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité vraiment les mots ne suffisent pas pour te remercier.

A toute ma famille et mes chères amies surtout Lamia, Foufa, Hasina, Meriem, Afaf, Sara, Asma, et Imen.

Soumia

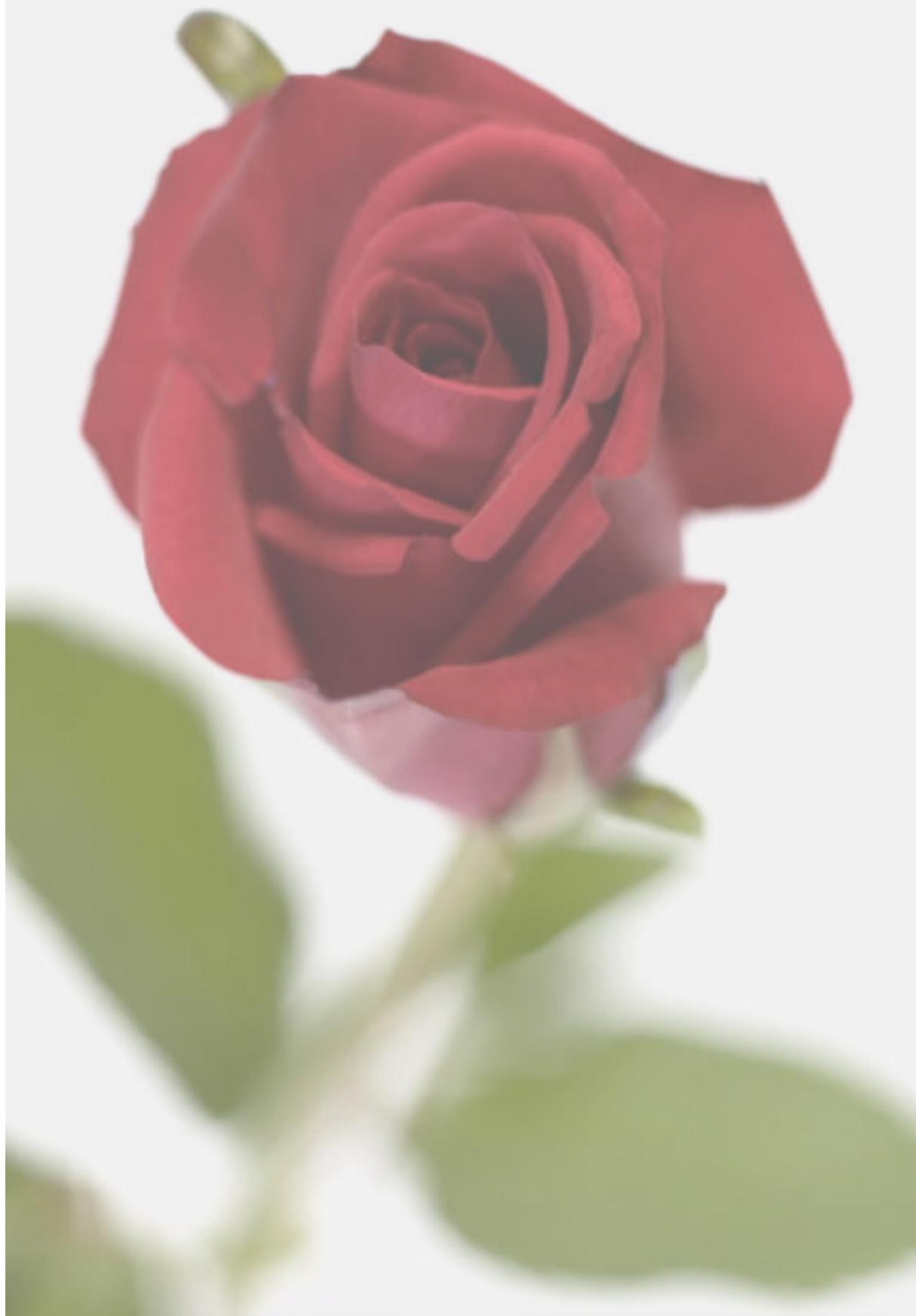
Dédicace

SDédicace



ZAHRA
Dédicace

Dédicace



Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

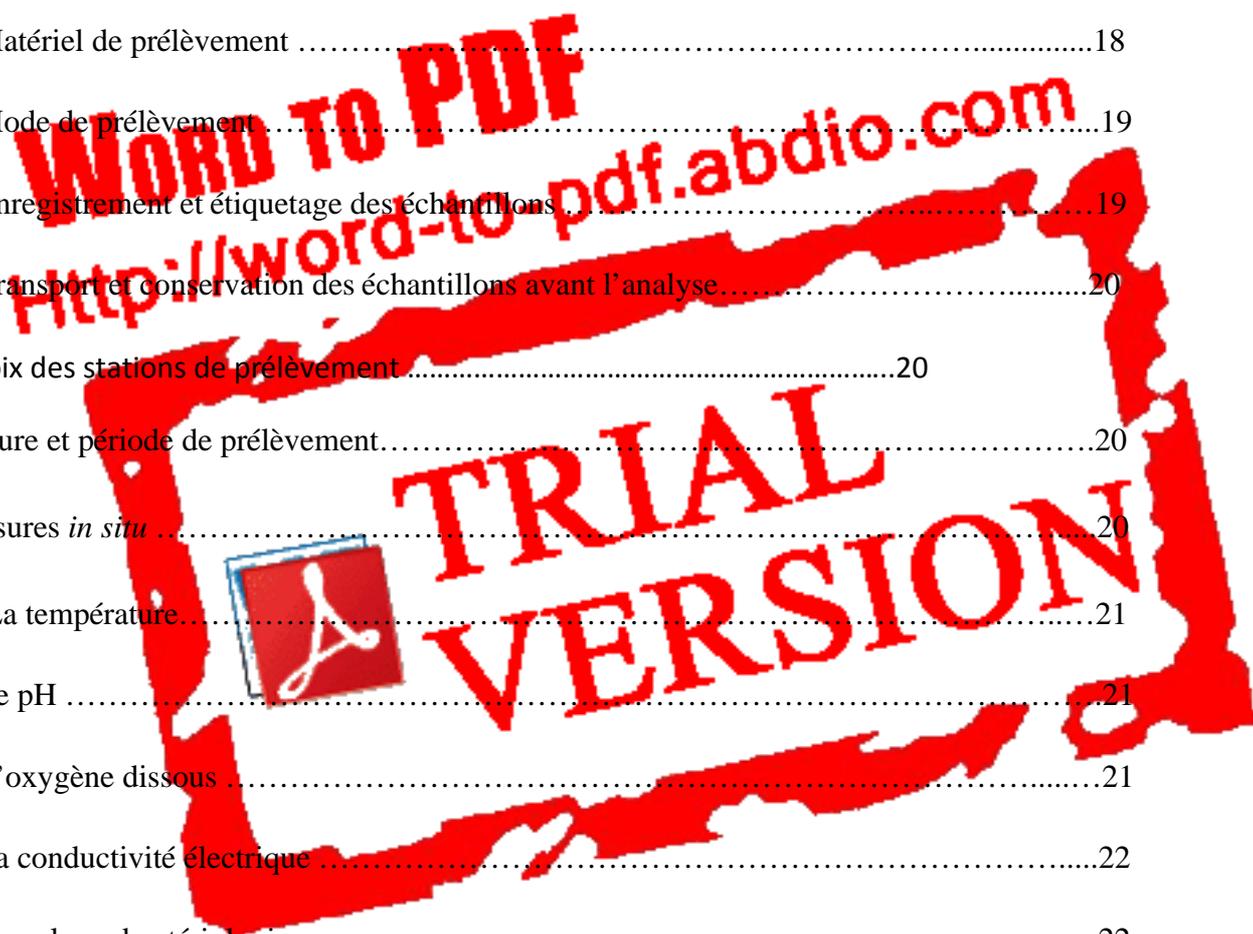
Chapitre I : Généralités et description de la zone d'étude

1. Définition d'une zone humide	3
2. Généralités sur la Numidie Algérienne	3
2.1. Généralité sur le complexe de zones humides de Guerbes-Sanhadja	5
3. Description de nos sites d'études	6
3.1. Garaet Hadj Tahar	6
3.2. Garaet Chichaya	7
3.3. Garaet Sidi Makhlouf	8
3.4. Garaet Beni M'Hamed	9
3.5. Garaet Messaoussa	9
4. Situation administrative	10
5. Etude climatique	10
5.1. Température	11
5.2. Les précipitations	12
5.3. L'humidité	12
5.4. Les vents	12
5.5. Synthèse climatique	12
5.5.1. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen	12

5.5.2. Quotient pluviométrique d'Emberger	13
6. Cadre biotique	14
6.1. La flore	14
6.2. La faune	15
7. Exploitation des sites	16

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Echantillonnage	18
1.1. Matériel de prélèvement	18
1.2. Mode de prélèvement	19
1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons	19
1.4. Transport et conservation des échantillons avant l'analyse.....	20
2. Choix des stations de prélèvement.....	20
3. Nature et période de prélèvement.....	20
4. Mesures <i>in situ</i>	20
4.1. La température.....	21
4.2. Le pH	21
4.3. L'oxygène dissous	21
4.4. La conductivité électrique	22
5. Les analyses bactériologiques	22
5.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C (germes totaux)	22
5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination fécale	24
5.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d' <i>Escherichia coli</i> en milieu liquide (méthode de NPP)	24



5.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (<i>Enterococcus</i>)	27
5.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (<i>Clostridium</i>).....	29
5.3. Recherche des germes pathogènes	31
5.3.1. Recherche des staphylocoques	31
5.3.2. Recherche de <i>Shigella</i>	32
5.3.3. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
5.3.4 Recherche de <i>Salmonella</i>	34
5.3.5. Recherche de <i>Vibrio cholérique</i>	36
6. L'identification	38
6.1. Examen macroscopique des caractères culturels.....	38
6.2. Examen microscopique	38
6.3. Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques	39
6.3.1. Caractères enzymatiques.....	39
6.3.2. Caractères biochimiques	41
Chapitre III : Résultats et discussion	
1. Les paramètres physico-chimiques mesurés <i>in situ</i>	48
1.1. La température	48
1.2. Le pH	49
1.3. La conductivité électrique	50
1.4. L'oxygène dissous	51
2. Les analyses bactériologiques	52



2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux	52
2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux	53
2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	56
2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-reductrices (ASR)	57
2.5. Résultat des germes pathogènes.....	58
2.5.1. Caractères morphologique et coloration de Gram.....	59
2.5.2. Résultats de l'identification biochimique.....	61
Conclusion.....	66
Références bibliographiques	
Résumé	
Abstract	
صخلم	
Annexes	

WORD TO PDF

[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



WORD TO PDF

[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



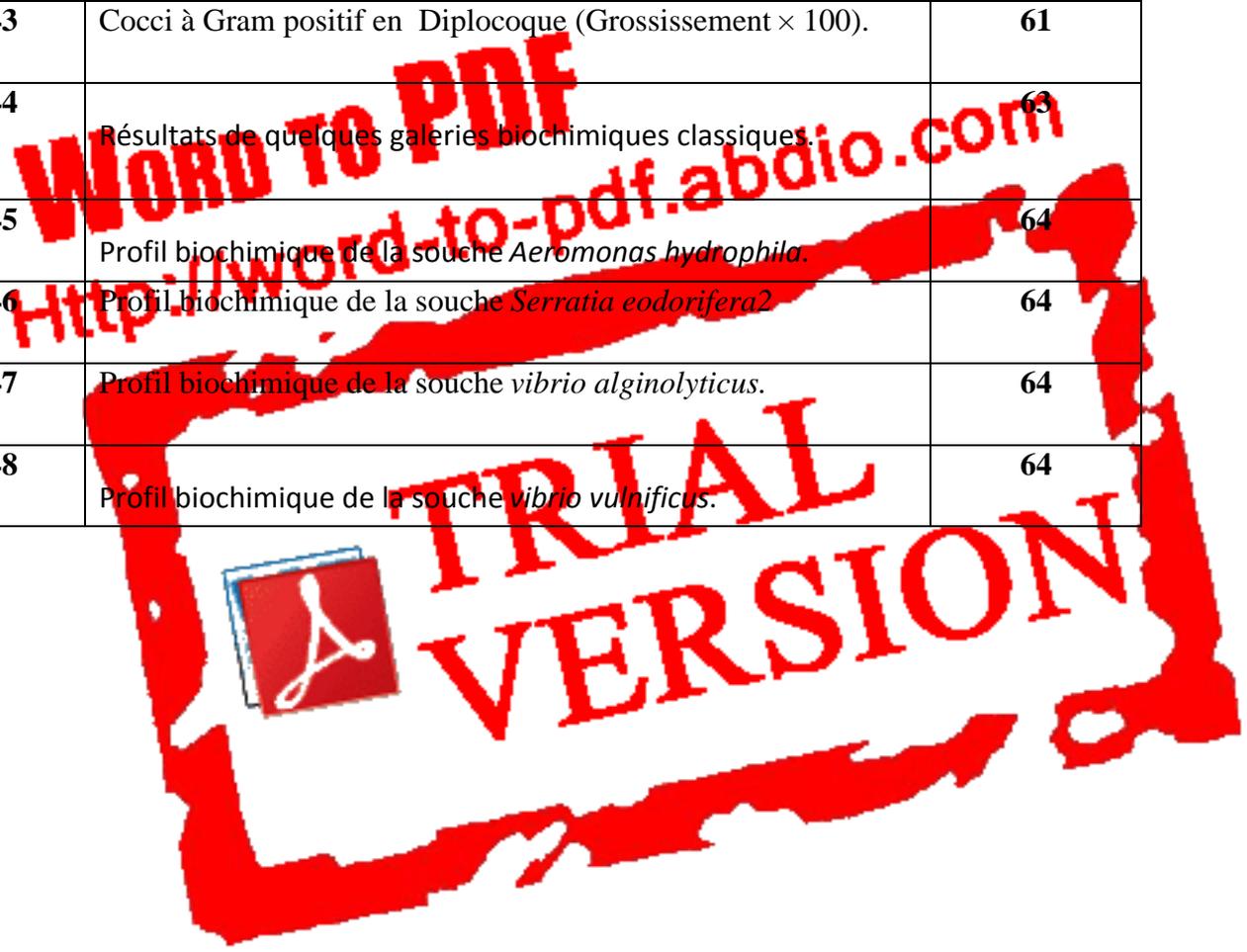
**TRIAL
VERSION**

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Fig.01	Le complexe des zones humides de la Numidie Orientale	4
Fig.02	Localisation de la Numidie Occidentale	5
Fig.03	Complexe des zones humides de Guerbes Sanhadja	6
Fig.04	Garaet hadj Tahar	7
Fig.05	Image satellitaire de Garaet Hadj Tahar	7
Fig.06	Garaet Chichaya	8
Fig.07	Image satellitaire de Garaet Chichaya	8
Fig.08	Garaet Sidi Makhlouf	8
Fig.09	Image satellitaire de Garaet Sidi Makhlouf	8
Fig.10	Garaet Beni M'Hamed	9
Fig.11	Image satellitaire de Garaet Beni M'Hamed	9
Fig.12	Garaet Messaoussa	10
Fig.13	Image satellitaire de Garaet Messaoussa	10
Fig.14	Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson de la région de Skikda (1997 - 2012)	13
Fig.15	Situation de la wilaya de Skikda dans le climagramme d'Emberger (1997-2011)	14
Fig.16	L'irrigation à gauche a Garaet sidi Makhlouf et à droite a Garaet Hadj Tahar	17
Fig.17	Pâturage à gauche à Hadj Taher et à droite à Carcasse bovine à Garaet Hadj Taher	17
Fig.18	Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à 37°C dans les eaux	24
Fig.19	Protocole de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et <i>E. coli</i> dans les eaux	27

Fig.20	Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux.	29
Fig.21	Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrice dans les eaux.	31
Fig.22	Protocole de recherche des <i>staphylococcus</i> , <i>Shigella</i> et <i>Pseudomonas</i> dans les eaux.	34
Fig.23	Protocole opératoire de la recherche de <i>Salmonella</i> dans l'eau.	35
Fig.24	Protocole de recherche et identification de <i>Vibrio</i> dans les eaux.	37
Fig.25	Procédure de la coloration de Gram	39
Fig.26	Test catalase négatif a gauche et positif a droite.	40
Fig.27	Test oxydase positif	40
Fig.28	Test coagulase.	41
Fig.29	Présentation de la galerie API 20 E.	45
Fig.30	Présentation de la galerie API 20 NE.	47
Fig.31	Variation de la température de l'eau de nos sites d'étude (Mars – Avril 2013).	48
Fig.32	Variation du pH de l'eau de nos sites d'étude (Mars – Avril 2013).	49
Fig.33	Variation de la conductivité électrique de l'eau de nos sites d'étude (Avril 2013).	50
Fig.34	Variation de l'oxygène dissous de l'eau de nos sites d'étude (Avril 2013).	51
Fig.35	Estimation des Germes totaux à 37°C UFC/ml dans l'eau de nos sites d'étude (Mars 2013).	53
Fig.36	Estimation des coliformes totaux/ml dans l'eau de nos sites d'étude (Mars – Avril 2013).	54
Fig.37	Estimation des coliformes fécaux/ml dans nos prélèvements (Mars – Avril 2013).	55
Fig.38	Estimation des Streptocoques fécaux/ml dans l'eau de nos sites	56

	d'étude (Mars – Avril 2013).	
Fig.39	Culture positive des ASR dans un tube de VF à gauche et aspect microscopique à droite montre des formes végétatives et sporulantes (entourées par un cercle rouge) des bactéries anaérobies sulfito-réductrice (Grossissement ×100).	58
Fig.40	Aspect des colonies sur gélose Mac conkey à gauche et Hectoën à droite.	60
Fig.41	Aspect des colonies sur gélose SS à gauche et GNAB à droite.	61
Fig.42	Aspect des colonies sur milieu Chapman (Station 6).	61
Fig.43	Cocci à Gram positif en Diplocoque (Grossissement × 100).	61
Fig.44	Résultats de quelques galeries biochimiques classiques.	63
Fig.45	Profil biochimique de la souche <i>Aeromonas hydrophila</i> .	64
Fig.46	Profil biochimique de la souche <i>Serratia eodorifera</i> 2	64
Fig.47	Profil biochimique de la souche <i>vibrio alginolyticus</i> .	64
Fig.48	Profil biochimique de la souche <i>vibrio vulnificus</i> .	64



Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tab.01	Données climatiques de la station météorologique de la wilaya de Skikda (1997 - 2012)	11
Tab.02	Nature et période de prélèvement	Annexe 01
Tab.03	Caractéristiques des points de prélèvements	Annexe 01
Tab.04	Table de Mac Grady	Annexe 02
Tab.05	Les principaux caractères discriminants permettant le diagnostic d'espèce de <i>Staphylococcus</i>	Annexe 03
Tab.06	Caractères d'identification biochimique de <i>Shigella</i> .	Annexe 03
Tab.07	Lecture et interprétation des tests biochimique du milieu TSI	42
Tab.08	Lecture de l'API 20	Annexe 04
Tab.09	Lecture de l'API 20 NE	Annexe 04
Tab.10	Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température	49
Tab.11	La grille de la qualité des eaux des rivières	51
Tab.12	Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous	52
Tab.13	Dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR/20ml)	57
Tab.14	Aspect macroscopiques et microscopique des colonies bactériennes isolées durant notre étude	59
Tab.15	Résultat du profil biochimique des <i>staphylococcus</i> isolés	62
Tab.16	Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique	62
Tab.17	Les espèces identifiées par l'API 20 E et l'API 20 NE	63
Tab.18	Répartition des espèces bactérienne isolées pendant les deux prélèvements	65

Abdellioui S, Boukhdim A, Hamzaoui H., (2012). Qualité microbiologique d'un écosystème lotique cas de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord – Est algérien). Diplôme de Master. Université de Guelma. 88p

Ait Hamlet S., (1998). Contribution à l'étude de la qualité de huites Oueds de la wilaya d'El Taref : aspects microbiologiques et écologiques. Mémoire de Magister en microbiologie appliquée. Université d'Annaba. Algérie. 150 p.

Ait Kaci S., Hamdi M.S. (2008). Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques et bactériologiques de l'embouchure de l'oued "Béni-Messous". DEUA en science de la mer. (I.N.S.M.A.L). 45p

Alain A. et Roger K., (2004). Hydrologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses Quae, 336p.

Aouissi A., Fouzari A., et Meziane N. (2007). Qualité bactériologique de l'eau d'Oued Seybouse. Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 57p.

Bagnouls F. et Gaussen H., (1957). Les climats biologiques et leurs classifications. Annales de Géographie. France. Vol. 66. N° 355. pp 193-220.

Barnaud G. (1991). Qu'est ce qu'une zone humide ? compte rendu des avis d'experts.

Benlatreche M. C. et Benslimen S., 2002 : *Evaluation du niveau de pollution organique et métallique (Zn, Cu et Ni) dans l'Oued Rhumel et son affluent Oued Boumerzoug en zone urbaine (Constantine)*. Mémoire d'ingénieur. Université Mentouri de Constantine. 101p.

Beriche P., Gaillard J-L., Simouet M. (1988). Bactériologie, les bactéries des infections humaines. Flammarion Médecine Sciences. France. 660 p.

Bouchaala L., (2010). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued Zenati (Guelma). Mémoire de Magister. Université de 08 Mai 1945 de Guelma. Algérie. 135 p.

Boukrouma N., (2008). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel: cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (W. d'Oum El-Bouaghi). Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p

Boulkroune H., (2008). *Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau : cas du marais d'El-Kennar.* Mémoire de Magister. Université de Jijel. 119p.

Boumezbeur A. (2001). Atlas des zones humides algériennes d'importance internationale. 2ème édition ATLAS. 56p

Boumezbeur A., (2000). Atlas des zones humides algériennes. DGF. 68p.

Boumezbeur A., (2002). Atlas des zones humides algériennes. DGF. 55p.

Bourgois C.M et Leveau J.Y .1980. Technique d'analyse Et De Contrôle Dans Les Industries Agro-alimentaire. T₃. Apria 331p.

Camille D., (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses. Lavoisier : Tec et Doc. France. 156 p.

Carbannelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988). Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France. 251 p.

Carbannelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988). Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France. 251 p.

Castany et Margot., (1977). Dictionnaire Français d'hydrogéologie. Géologie Ministère. 249p

Centre collaborant de l'OMS, 2007. Contrôle et Suivi de la qualité des eaux usées protocole de détermination des paramètres physico-chimique et bactériologiques. 11p

Chaouch R., (2007). Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba : aspect physicochimique et bactériologique des eaux. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 105 p.

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

Collaboration Européenne, 2008

Conservation des forêts de la wilaya de Skikda, 2004

D.G.F (2001). Atlas des zones humides algériennes d'importance internationale. 56p.

D.G.F (2002) . Atlas des zones humides Algériennes d'importance internationale. 3ème Edition, III. 58p

Dajoz R. (2000). Précis d'écologie: Cours et exercices résolus. 7^{ème} édition. Dunod, Paris. 613p.

De Villers J., Squilbin M., Yourassowsky C., (2005). Qualité physicochimique et chimique des eaux de surface : Cadre général. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement (IBGE). 16 p.

Debieche T.H., (2002). Evolution de la qualité des eaux (salinité, azote, les métaux lourds) sous l'effet de la pollution saline, agricole et industrielle. Application à la basse plaine de la Seybouse Nord –Est algérienne. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 235p.
Définition scientifique et juridique. MNHN- ESMEN, France 10p.

Dégrément., (1998). Mémento technique de l'eau 8ème édition *Tec et Doc*. Paris 986p.

Déllarras C. (2008) .surveillance sanitaire Et Microbiologique des eaux : Règlements-Prélèvements-Analyses. *TEC & DOC*. 269p.

Dellarras C., (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier : Tec & Doc. Paris. 463 p.

Denis F., Ploy M. C., Martin C., Bingen E., Quentin R., (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Elsevier Masson. 594 p.

Derwich E., Beziane Z., Benaabidate L., Belghyti D. (2008). Evaluation de la qualité des eaux de surface des oueds Fès et Sebou utilisées en agriculture maraîchère au Maroc. *Larhyss Journal*. (7). 59-77p.

DES., (2013) .Direction de l'environnement de skikda

El Blidi S., Fekhaoui M., Serghini A. et El Abidi A. (2006). Rizières de la plaine du Gharb (Maroc) : qualité des eaux superficielles et profondes. *Bulletin de l'Institut Scientifique*. (28). 55-60.

Emberger L., (1955). Une classification biogéographique des climats. *Rev. Trac. Bot. Géol. Zool. Fase. Sci. Montpellier*. France. 343 p.

- Engelkirk P. G., (2008).** Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology. 1st edition. Lippincott Williams & Wilkins. 754 p.
- Euzéby J. P., (2007).** Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. France. 20 p.
- Faurie C. ; Ce ferra ; D éveaux J. etmedortP., (1998).** Ecologie approche scientifique et pratique ; 4^{eme} édition.
- Fustec Éliane, Lefeuvre Jean-Claude., (2000).** Fonctions et valeurs des zones humides. Volume 8.279-280p
- Gillespie S. H., Hawkey P. M., (2006).** Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2nd edition. John Wiley & Sons. England. 620 p.
- Guiraud J. P., (1998).** Microbiologie alimentaire. Dunod. France. 652p.
- Halassi I., (2009).** Degré de contamination du Lac des Oiseaux et contribution à l'étude du pouvoir auto-épurateur de l'eau : Isolement et étude de Bdellovibrio bacteriovorus. Mémoire de Magister. Université 08 Mai 1945 de Guelma. 22 p.
- Haouam L. (2003).** Ecologie et reproduction des Rallidés de la Numidie. Mémoire d'ingénieur d'état en écologie et environnement. 7p.
- Harrat N., Achour S., (2010).** Pollution physicochimique des eaux de barrage de la région d'El Tarf, impact sur la chloration. Larhyss Journal, N° 08. 54 p.
- Harvey R.A., Champe P.C., Fisher B.D., (2007).** Microbiology. 2nd edition. Lippincott Williams & Wilkins. 432 p
- Houhamdi M. (1998).** Ecologie du Lac des Oiseaux, Cartographie, Palynothèque et utilisation de l'espace par l'avifaune aquatique. Thèse de Magistère. 198p
- Houhamdi, M., (2002).** *Ecologie des peuplements aviens du lac des oiseaux : Numidie orientale.* Thèse de Doctorat d'état en Ecologie et environnement. Université de Badji Mokhtar, Annaba (Algérie), 146 p.
- Jessries et al., (1998) in Benlatrech et Benslimen, 2002**

Joleaud L., (1936). Etude géographique de la région de Bône et la Calle. *Bull. Serv. Carte Géol de l'Algérie*. 2^{ème} série stratigraphique. Description générale. 185p.

Kéléké S, Julien H, Audrey L, Raber W., (2004). Evaluation de la salubrité de l'eau des puits dans la ville de Pointe Noire : étude bactériologique et chimique. Université Libre de Bruxelles. 66p

Le minor L., Veron M., (1989). Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine Sciences. 845 p.

Lebres et Mouffok F., (2008). Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. *Institut Pasteur d'Algérie*. 53p.

Lebres E. (2004). Identification biochimique des micro-organismes, Institut Pasteur d'Algérie.

Lebres E. (2006). Manuel des travaux pratique : analyse des eaux, *Institut Pasteur d'Algérie*. 60p.

Lebres E., (2002). Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments « Microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer ». Institut Pasteur d'Algérie. 34 p.

Leclerc H. & coll., (1983). Microbiologie générale. Doin. 369 p

Leclerc., (1996). Microbiologie générale. Doin. 368p.

Lightfoot N. F., (2002). Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directives pour l'assurance qualité. 387 p.

Mamadou L-N., (2005). Impacts des eaux usées sur l'évolution chimique et microbiologique des sols : étude de cas à Pikine (Dakar-Sénégal). Diplôme d'étude supérieure en sciences naturel de l'environnement. Université de Badji Mokhtar, Annaba, 120p.

Masson J. P., (1988). Suivi de la qualité des eaux superficielles: l'expérience française. In : la qualità della acqua superficiale; Criteria per una metodologia omogenea di valutazione, atti del convegno interazione. *Palazzo dei congressi*. (28-29 Aprile), 99-110p

Mayat S., (1994). Techniques de traitement: aliments et eaux, 1ère édition, Edisem, 195p.

Merzoug S., (2009). Etude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de

l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, Wilaya Skikda). Mémoire de Magister. Université 08 Mai 1945 de Guelma. 3-13p.

Metallaoui S., (2010). Ecologie de l'avifaune aquatique hivernante dans Garaet Hadj-Tahar (Numidie occidentale, Nord-Est de l'Algérie). Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat. Université Badji Mokhtar d'Annaba. 120p

Metallaoui, S. et Houhamdi, M. (2008). Données préliminaires sur l'avifaune aquatique de la Garaet Hadj Tahar (Skikda, Nord Est algérien). *Afri. Birdclub. Bull.* 15(1): 71-76.

Ministère algérien des ressources en eau., (2009)

Mokrani, D. (2010). Contribution a la conservation du flamant rose *Phoenicopterus roseus* caractérisation des milieux utilisés et évaluation de l'impact anthropique sur le complexe de zone humide des hauts plateaux du Nord – Est Algérien. Mémoire de magister Univ. El hadj lakhder, Batna (Algérie)

Monod T., (1989). Méthodes géographiques (N.A.N.I) normes Algérienne et normes international (2002). France loisir. 233 p.

Nauciel C., Vildé J. L., (2005). Bactériologie médicale. Masson. 2^{ème} édition. 257 p.

Oliver J. D., Japer J. B., (1997). *Vibrio* species. in sea food : Food microbiology – fundamentals and frontiers. Washington. 264 p.

Ouanouki B., Abdellaoui N., Ait Abdallah N., (2009). Application in agriculture of treated wastewater and sludge from a treatment station. *European Journal of Scientific Research.* Vol. 27. N° 4. France. p 602 - 619.

Ozenda P., (1982). Les végétaux dans la biosphère. Doin. Ed: Paris, 431p.

Patrick R., Murray K., Rosenthal S., Michael A. P., (2009). Medical Microbiology. 6th edition. Mosby Elsevier. Canada. 960 p.

Pechère J. C., Acar J., Grenier B. et Nihoul E., (1982). Reconnaître, comprendre et trait é les infections. 4^{ème} édition. Edisem ST-Hyacinthe. Québec. Canada. 509 p.

Perrins C., (1974). Birds of Britain and Europe. First university of Texas, Glasgon. 360p.

Pilet C., Bourdon J. L., Toma B., Marchal N., Balbastre C., Person J. M., (1987). Bactériologie

médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne. Doin. France. 371 p.

Prescott H., (2003). Microbiologie. De Book & Larciens. a.842p.

Rajonson J., Rasolofonirina N., Ratoaveloson J., Ravaonindriana N. (1992). Qualité des eaux. Emouard (4). 135-166p.

Regam A., (2010). Evaluation de la Qualité Physico – Chimique et Bactériologiques des Eaux Potables : Cas de la Station de Traitement de Hammam Debagh–Guelma , M émoire de Master. Université de 08 Mai 1945 Guelma, 75p.

Rejsek F., (2002). Analyse des eaux : Aspects réglementaires et techniques. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine (CRDP). Bordeaux. 358 p.

Rodier J., (2005). L'analyse de l'eau : eau naturelle ; eau résiduelle ; eau de mer ; 8^{ème} Edition. Dunod. 1384p.

Rodier J., Bazin C., Broutin J. P., Chambon P., Champsaur H., Rodi L., (1996). L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème} édition. Dunod. Paris. 1383 p.

Rodier J., Legube B., Marlet N., et coll., (2012). L'analyse de l'eau. 9^{ème} édition. Dunod. Paris. 1008p

Rodier J., Legube B., Merlet N., et coll., (2009). L'Analyse de l'eau. 9^{ème} édition. Dunod. Paris. 1579 p.

Rouaiguia M., (2010). Qualité microbiologique de l'eau de Oued Messida. Mémoire de master 2. Université 8 mai 1945 Guelma. 78p.

Roux., (2003). TP de microbiologie : Analyses de l'eau. IUP SIAL, Université de Paris. 12 p.

Roux.,(1987). Office international de l'eau. L'analyse biologique de l'eau. TEC&DOC. Paris. 229p

Samraoui B. et De Belair G. (1998) Les zones humides de la Numidie orientale: Bilan des connaissances et perspectives de gestion. Synthèse (Numéro spécial) N°4. 90p.

Samraoui B. et de Belair G., (1997) The Guerbes-Sanhadja wetlands: Part I. Overview. Ecologie 28: 233-250.

Sayad L., (2008). Qualité physicochimique et bactériologie des eaux de l'écosystème lacustre

Lac des Oiseaux (wilaya de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 125 p.

Seltzer P. (1946). Le climat de l'Algérie. Imp. La Typo-Litho et J.C. in 4ème, Alger, 219p

Soltner D., (1999). Les Bases De La Production Végétale. Sciences & Techniques Agricoles, Tome 2. France. 396 p.

Toubal Boumaza O., (1986). Phytoécologie, biogéographie et dynamique des principaux groupements végétaux du massif de l'Edough (Algérie Nord - Orientale). Thèse de Doctorat. Université des sciences et technologie méditerranéenne de Grenoble. 110 p.

Wilke M., Boutiere H., (1999). Petit lexique des paramètres du suivi physicochimique dans l'eau. Parc naturel régional de la Narbonnaise en Méditerranée. 2 p.



Webographie:

(1) http://www.analyse-eau-h2omesolutions.fr/normes_analyses_eau_1.html (consulté le 10/05/2013)

(2) <http://www.safewater.org/> (consulté le 14/05/2013)

(3) <http://www.arnobio2.com> (consulté le 14/05/2013)

(4) <http://www.bodycoteteting.com> (consulté le 12/05/2013)

Google earth, (2013). Europa Technologies. Tele Atlas.

www.googleearth.com

WORD TO PDF
Http://word-to-pdf.abdio.com



Les ressources en eau proviennent des eaux de surface et des eaux souterraines renouvelables et non renouvelables (**Harrat et Achour, 2010**), dont 97 % de l'eau de surface est salée ; les 3 % restant constituent les réserves d'eau douce de la planète. (**Rejsek, 2002**).

La protection de ces milieux naturels contre toute pollution urbaine ou industrielle est indispensable, pour conserver la bonne qualité des eaux. (**CE, 2000**)

Les zones humides une de ces milieux naturel ; o ù l 'eau est le principal f acteur contrôlant la vie animale et végétale associée (**Metallaoui, 2010**). L'Algérie abrite une gamme de zones humides très diversifiées, lacs, lagunes, marais, sebkha (**Metallaoui et Houhamdi, 2008**), qui font partie des ressources les plus précieuses sur le plan de la diversité biologique et de la productivité naturelle, elles jouent un rôle important dans les processus vitaux, entretenant des cycles hydrologiques et accueillant une flore importante, des poissons et des oiseaux migrateurs. (**Metallaoui, 2010**)

Parmi ces milieux, les plus connus à l'heure actuelle, sont ceux des complexes d 'El Kala et de Guerbes-Sanhadja, considérés comme exceptionnels, constituant l 'un des principaux réservoirs de la biodiversité du bassin méditerranéen.

La Numidie occidentale (Nord Est algérien) représentée par le complexe de Guerbes Sanhadja site Ramsar depuis 02/02/2001, contient 31 sites humides (**Samraoui et De Belair 1997**), représentée ici par Garaet Hadj Taher , Garaet Beni M 'hamed, Garaet Sidi Makhlouf, Garaet Chichaya et Garaet Messaoussa.

Ces milieux sont des ressources essentielles à la vie en général (biodiversité) et aux sociétés humaines en particulier (alimentation en eau pour l'agriculture et autres usages), dont il faut protéger la qualité en prévenant les pollutions de toutes natures et en restaurant si nécessaire les compartiments pollués, sans nuire de façon excessive au développement économique. (**Metallaoui, 2010**)

Des substances susceptibles de contaminer les eaux sont extrêmement nombreuses et diverses en raison d 'une part aux activités humaines multiples et d 'autre part aux facteurs naturels qui peuvent en être la source, essentiellement des substances d 'origine géologique, industriel et agricole. (**Zahi, 2008**)

Ainsi, le contrôle de la qualité de l'eau joue un rôle important dans la santé publique car celle-ci est susceptible d'engendrer des altérations catastrophiques sur le sol, sur l'organisme humain et même de toucher à la santé de toute une population. **(Roux, 1987)**

Vue cette importance majeure, nous avons essayé d'étudier et de déterminer la qualité bactériologique ainsi que quelques paramètres physico-chimiques, des eaux de quelques plans d'eau du complexe de Guerbes Sanhadja l'un des sites classé sur la liste de Ramsar des zones humides d'importance internationale, et ceci dans le but d'apprécier l'évolution de sa qualité et son impact sur l'environnement et sur la santé publique.

Nous avons structurés notre démarche en trois chapitres interdépendants :

Le premier chapitre, une étude bibliographique purement théorique rassemblent d'une part des généralités sur les zones humides, ainsi une description détailler sur les plans d'eau ciblée par notre étude.

Le deuxième chapitre, une étude expérimentale consacrée à la présentation du matériel et la méthodologie suivie pour la réalisation des analyses bactériologique et physico-chimiques effectuées durant ce travail :

Le troisième chapitre, sous formes des tableaux et des graphes explique les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique, avec une discussion de ces résultats.

Ses trois chapitres sont suivis d'une conclusion qui clôture ce mémoire.

Les zones humides, espaces de transition entre la terre et l'eau, constituent un patrimoine naturel remarquable en raison de leur richesse biologique (Mokrani, 2010). Le terme recouvre des milieux très divers, qui ont les caractéristiques suivantes : présence d'eau au moins une partie de l'année, de sols saturés en eau et d'une végétation de type hygrophile, adaptée à ces sols ou à la submersion. (Metallaoui, 2010)

D'une part les zones humides assurent l'accueil de multiples populations d'oiseaux et permettent la reproduction de nombreux poissons. D'autre part, elles contribuent à la régularisation du régime des eaux en favorisant la réalimentation des nappes souterraines, la prévention des inondations et l'autoépuration des cours d'eau. (Mokrani, 2010)

1. Définition d'une zone humide

Au sens de la convention de Ramsar : « Les zones humides sont des étendues de marais, de fagnes de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur ne dépasse pas les six mètres ».

Une autre notion a été ajoutée par (G. Barnaud, 1991). Il s'agit de la biodiversité : « Les zones humides se caractérisent par la présence, permanente ou temporaire, en surface ou à faible profondeur dans le sol, d'eau disponible douce, saumâtre ou salée. Souvent en position d'interface, de transition, entre milieu terrestre et milieu aquatique proprement dit, elles se distinguent par une faible profondeur d'eau, des sols hydromorphes ou non évolués, et/ou une végétation dominante composée de plantes hygrophiles au moins pendant une partie de l'année. Enfin, elles nourrissent et/ou abritent de façon continue ou momentanée des espèces animales inféodées à ces espaces. ».

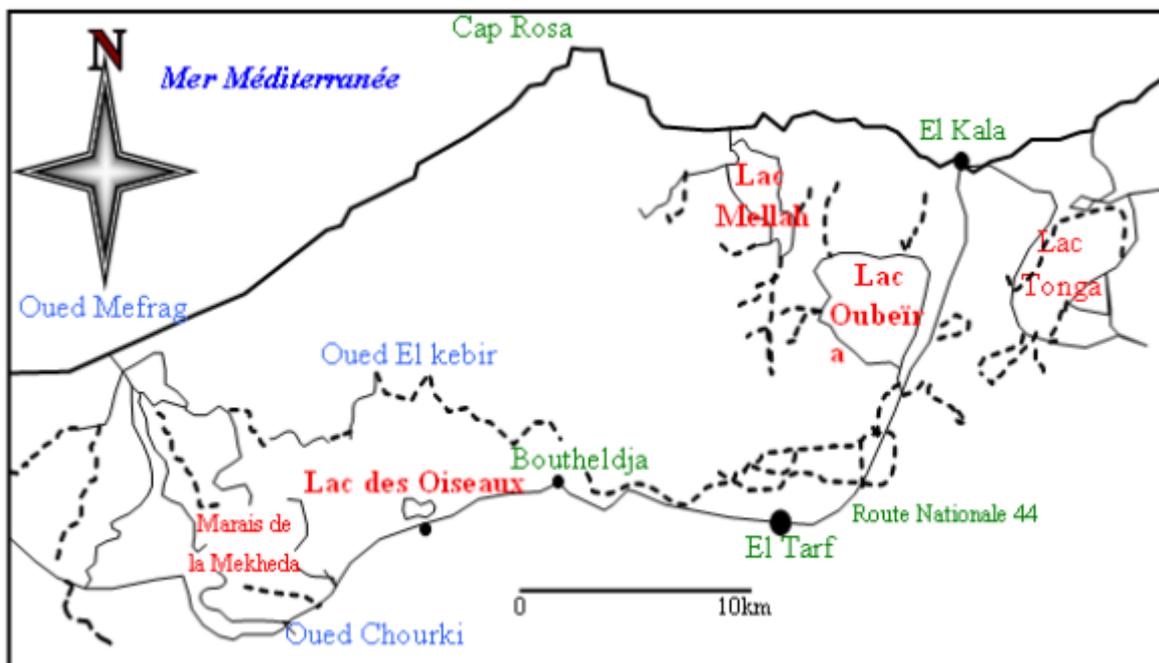
2. Généralités sur la Numidie Algérienne

Les zones humides de la Numidie algérienne sont d'une grande valeur pour la biodiversité (Samraoui et De Belair, 1998 ; Metallaoui et Houhamdi, 2008). La Numidie, située dans le Nord-Est algérien, est réputée pour ses zones humides qui sont réparties en deux grands complexes séparés par l'Oued Seybouse: la Numidie orientale composée des complexes d'Annaba et d'El-Kala et la Numidie occidentale représentée par le complexe de

Guerbes-Sanhadja et le Lac Fetzara. (Houhamdi, 1998)

La Numidie orientale délimitée dans sa partie occidentale par l'Oued Seybouse a pour limite septentrionale la Méditerranée et pour limite méridionale les collines de l'Atlas tellien, tandis que les frontières algéro-tunisiennes la délimitent à l'Est (Fig.1)(Samraoui et De Belair,1997). Cette région de l'Algérie renferme un grand nombre de sites humides exceptionnels possèdent une grande diversité des écosystèmes marins, lacustre et forestières qui renferment une richesse animal et végétale élevée. Ces zones humides s'étendent sur une superficie de 156 000 ha.(Houhamdi, 1998)

La Numidie occidentale représentée par le complexe de Guerbes-Sanhadja, est située au Nord – Est de l'Algérie dans la wilaya de Skikda et à l'Ouest de Annaba et de complexe de zones humides d'EL-Kala. Elle est délimitée au Nord par la Méditerranée, à l'Est par la wilaya d'Annaba, au Sud par la plaine de Bekouch Lakhder et à l'Ouest par les forêts de



.2)(Merzoug, 2009)

Figure 1 : Le complexe des zones humides de la Numidie orientale.



Figure 2 : Localisation de la Numidie occidentale. (Boumezbeur, 2001).

2.1. Généralité sur le complexe de zones humides de Guerbès-Sanhadja :

Le complexe de zones humides de Guerbès-Sanhadja, est situé entre la latitude $36^{\circ}45' - 37^{\circ}1' N$ et longitudes $7^{\circ}13' - 7^{\circ}30' E$ dans la partie Est de l'Algérie. C'est une grande plaine littorale, d'une superficie de 42.100ha bordée à l'Ouest par les collines côtières de Skikda et à l'Est par le massif forestier côtier de Chetaibi. (Boumezbeur, 2000)

Le complexe est formé des dépôts éoliens et alluviaux des 3 bassins versants qui départagent la zone (côtier Kebir Magroun appelé Oued El-Kebir ; Oued Kebir Hammam ; côtier Filfila) (DES, 2013). Le massif dunaire continental de la plaine de Guerbès-Sanhadja est le réservoir hydrique d'environ 40 hectomètres cubes (Joleaud, 1936), comporte une multitude de dépressions et de vallées formant Lacs et Garaets (marais) (DES, 2013) ; il renferme 31 sites humides (Samraoui et De Belair, 1997) dont les principaux sont : Garaet Haouas ; Garaet Boumaïza ; Necha Demnat Ataoua ; Necha Khellaba ; Lac Sidi Fritis ; Garaet Sidi Lakhdar ; Garaet Moussissi ; Garaet Dahria ; Garaet Hadj-Tahar ; Garaet Beni M'hamed ; Garaet Chichaya ; Garaet Sidi Makhlof ; Garaet Messaoussa ...etc. (Fig.3).



Figure 3: Complexe des zones humides de Guerbes-Sanhadja.

(Boumezbeur, 2001)

3. Description de nos sites d'études

3.1. Garaet Hadj Tahar :

La Garaet Hadj-Tahar ($36^{\circ}51'50''$ N ; $07^{\circ}15'57''$ E) est un marais d'eau douce permanent qui couvre 112ha (Fig.4 et 5)(Conservation des forêts de la wilaya de Skikda, 2004). Elle est située à une vingtaine de kilomètres de la Méditerranée et présente une

forme ovale très allongée, entouré au Nord-Ouest par une colline d'argile et de grès, qui se lèvent graduellement à 200 m. À l'Est, nous trouvons les dunes et au Sud-Est une plaine alluviale de Oued El Kebir. La dépression occupée par ce marais est orientée Nord-Ouest-Sud-Est (**Fig.3**). La plus grande partie est couverte d'eau durant la période pluvieuse. Elle peut rester ainsi tout le long de l'année malgré l'évaporation d'été et le pompage local intensif. (**Haouam, 2003**)



Figure 4 : Garaet Hadj Tahar (photo prise par Seyf Eddine Merzoug le 12.01.2013)

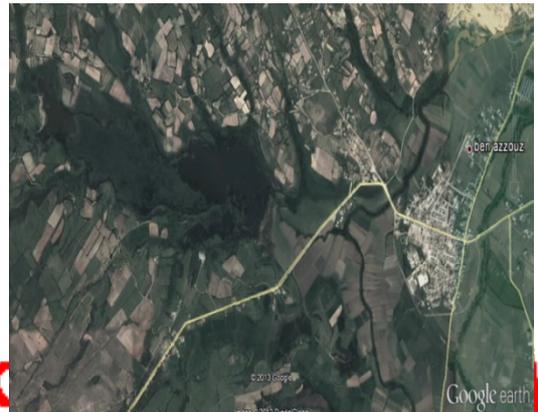


Figure 5 : Image satellitaire de Garaet Hadj Tahar (Google Earth.2013)

3.2. Garaet Chichaya :

Ce marais ($36^{\circ}53'791\text{ N}$; $7^{\circ}18'230\text{ E}$) occupe une surface d'environ 50 ha (**Figs.6 et 7**). Orienté Nord-Ouest-Sud-Est. En Nord-Ouest, il est alimenté par les eaux dunaires souterraines et les dépressions ouvertes vers le Sud-Est, près de la plaine alluviale d'Oued El-Kebir. Il y a une continuité avec Garaet Sidi Makhlouf. Le substratum est constitué, en Nord-Ouest par le sable dunaire mélangé avec la tourbe. Ce sol est remplacé en Sud-Est par une boue argileuse de la plaine. Le Nord-Ouest est entièrement occupé par l'aulne, plus ou moins fixé en dune. Au Sud-Est, le marais suit une petite pente vers l'eau libre, temporaire ou non, selon la pluviosité annuelle et la pression du pompage de l'eau (**Fig.3**). (**Samraoui et De Belair, 1997**)



Figure 6 : Garaet Chichaya (photo prise par Seyf Eddine Merzoug le 09.03.2013)



Figure 7: Image satellitaire de Garaet Chichaya (Google Earth.2013)

3.3. Garaet Sidi Makhlouf :

La Garaet ($36^{\circ}53'094\text{ N} ; 7^{\circ}18'248\text{ E}$) (Figs.8 et 9), elle occupe une superficie d'environ 50 ha d'eau douce permanente menacée par l'avancement des dunes ceinturée du côté Nord d'aulne glutineux (DES, 2013). Le substratum et la situation géomorphologique de la Garaet sont identiques à ceux de Garaet Chichaya. Toutes les deux constituent une unité simple, orientée du Nord-Ouest au Sud-Est vers la plaine alluviale (Fig.3). (Samraoui et De Belair, 1997)



Figure 8 : Garaet Sidi Makhlouf (photo prise par Seyf Eddine Merzoug le 09.03.2013)



Figure 9 : Image satellitaire de Garaet Sidi Makhlouf (Google Earth.2013)

3.4. Garaet Beni M'Hamed :

Ce marais salé (36°57' N ; 7°16'E) occupe une surface d'environ 380 ha. S'étend près de l'estuaire d'Oued El-Kebir (Figs.10 et 11). Il est alimenté par l'inondation de cet Oued (Samraoui et De Belair, 1997). C'est une zone inondable elle est servie comme zone de gagnage par les hivernants (DES, 2013). Son sol est formé d'argile Numidien. La végétation de la Garaet est peu diversifiée dans le plan d'eau nous constatons des formations émergentes de *Chamaemelum praecox*, *Juncus acutus*, *Oenanthe fistulosa* dont le recouvrement peut atteindre 50%. La Garaet est entourée de *Tamarix gallica* et de forêts de frênes *Fraxinus angustifolia*. (Samraoui et De Belair, 1997)



Figure 10 : Garaet Beni M'Hamed (photo prise par Seyf Eddine Merzoug le 25.02.2012)

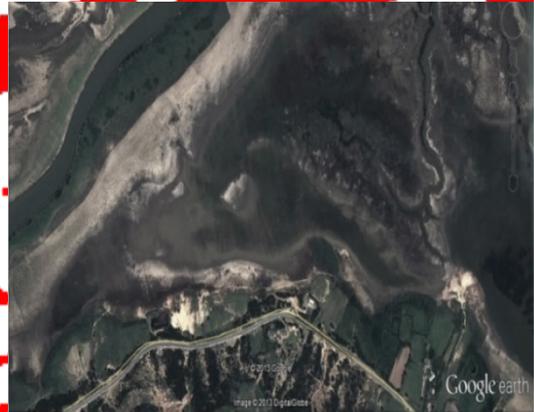


Figure 11 : Image satellitaire de Garaet Beni M'hamed (Google Earth.2013)

3.5. Garaet Messaoussa :

Lac d'eau douce (36°52'N ; 07°15'E)(Fig.12 et 13) occupe une surface d'environ 300 ha entièrement boisée en aulne glutineux bien portant, avec un sable mouvant, présence d'eau en permanence. Le site est à quelques mètres de l'Oued El-Kebir ; et il est alimenté par ce dernier. Cette aulnaie est menacée par l'avancement des dunes de sable ; due au défrichement intenses. Le lac constitue un site de nidification des rapaces (buses variables,

buzards, des roseaux, buse féroce et des oigognes blanches). (DES, 2013)



Figure 12: Garaet Messaoussa (photo prise par Seyf Eddine Merzoug le 09.03.2013)



Figure 13: Image satellitaire de Garaet Messaoussa (Google Earth, 2013)

4. Situation administrative

Administrativement, le complexe des zones humides de la plaine de Guerbes-Sanhadja est partagé par les communes de Ben Azzouz, El Marsa, et Djendel (wilaya de Skikda) jusqu'aux limites de la commune de Berrahal, dans la wilaya de Annaba. (DES, 2013)

5. Etude climatique

Le climat est un facteur abiotique important dans l'étude de la typologie et le fonctionnement d'un milieu naturel (Fustec et Lefevre, 2000), et dans le régime des cours d'eau (Soltner, 1999). Il a une influence directe sur la faune et la flore. (Samraoui et De Belair, 1997)

Le complexe de zones humides de Guerbes-Sanhadja est caractérisé par un climat méditerranéen (Samraoui et De Belair, 1997), caractérisé par une pluviométrie abondante pendant la saison humide et les mois froids et par une sécheresse pendant l'été (Ozenda, 1982). Nous avons récolté les données du tableau ci-dessous auprès de la station météorologique de la wilaya de Skikda qui s'étalent sur 15 ans (1997 à 2012).

Tableau 01 : Données climatiques de la station météorologique de la wilaya de Skikda (1997 - 2012).

Mois	T° moyenne (c°)			Précipitation (mm)	Humidité relative (%)	Vent	
	Min	Max	Moy			Vitesse moyenne (m/sec)	Vitesse max (m/sec)
Janvier	7,35	19,11	13,19	120,25	73,51	3,56	19,39
Février	7,24	19,38	13,05	107,16	70,55	3,5	18,41
Mars	8,51	22,58	15,64	68,45	69,75	3,34	19,89
Avril	11,29	24,92	17,75	48,57	83,44	3,16	19,29
Mai	14,67	27,55	20,53	45,78	71,23	2,82	15,61
Juin	17,75	30,98	25,23	13,68	68,44	2,75	15,17
Juillet	20,31	33,01	26,13	13,33	70,31	2,87	14,40
Août	20,81	33,41	27,12	16,65	68,23	2,80	15,9
Septembre	18,59	30,74	24,12	69,94	69,66	2,81	15,8
Octobre	15,81	28,35	21,75	63,61	68,38	2,95	16,40
Novembre	11,53	23,27	17,07	93,98	70,05	3,48	18,99
Décembre	8,09	20,30	14,13	123,59	71,15	3,98	20,6

5.1. Température :

La température de l'air est un paramètre très important lié directement au développement de la majorité des êtres vivants (El Blidi et al., 2006) et qui influe sur leurs activités (Debieche, 2002) ayant une grande influence sur le climat et sur le bilan hydrique car il conditionne l'évaporation et l'évapotranspiration réelle. Elle est en fonction de l'altitude, de la distance de la mer, des saisons et de la topographie (Ozenda, 1982 ; Toubal, 1986)

En se basant sur les données du tableau ci-dessus. Nous constatons que la saison chaude est bien marquée. La température maximale est enregistrée durant le mois d'Août où elle atteint 33,41°C et que Février est le mois le plus froid avec une température minimale de 07,24°C.

5.2. Les Précipitations :

Avec la température, les précipitations représentent les facteurs les plus importants du climat (Faurie et al., 1983) qui sont régulées par autres facteurs : l'altitude, la longitude...etc. (Halassi, 2008). Le terme de précipitation désigne tout type d'eau qui tombe du ciel, sous forme liquide ou solide. Cela inclut la pluie, la neige, la grêle...etc. (Dajoz, 2000)

Selon Seltzer (1946), les pluies qui tombent en Algérie sont pour la plus part influencée par le relief, la tranche annuelle augmente dans une région donnée avec l'altitude.

D'après les données climatiques, la précipitation annuelle est de 785 mm où Décembre est le mois le plus pluvieux 123,59mm ; et le mois de Juillet est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 13,33mm.

5.3. L'humidité :

L'humidité est élevée et pratiquement constante le long de l'année. Nous notons un maximum au cours du mois d'Août avec une valeur de 83% et un minimum de 68% pendant le mois d'Avril. Ceci est probablement dû aux formations marécageuses et lacustres de la région ; ainsi sa proximité de la mer et à sa couverture forestière importante et diversifiée.

5.4. Les vents :

La région de Skikda est très exposée aux vents. La vitesse maximale des vents qui soufflent sur cette dernière est enregistrée durant le mois de Décembre avec une valeur de 20,60 m/s. La valeur moyenne minimale est enregistrée en mois de Juin avec 2,75 m/s.

5.5. Synthèse climatique :

5.5.1. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен :

Le diagramme pluviométrique de **Bagnouls et Gausсен** nous permet de mettre en évidence la période sèche de notre zone d'étude. Il est tracé avec deux axes d'ordonnées où les valeurs de la pluviométrie sont portées à une échelle double de celle des températures. (**Bagnouls et Gausсен, 1957**)

Selon le diagramme (Fig.14) la Numidie Occidentale est connue par une saison humide avec une pluviosité abondante durant l'hiver et une sécheresse durant l'été. La période sèche s'étend sur cinq mois (Mai à Septembre), tandis que la période humide



s'étend du mois d'Octobre jusqu'au mois d'Avril.

Figure 14: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен de la région de Skikda
(1997 - 2012).

5.5.2. Quotient pluviométrique d'Emberger :

Cet indice nous aide à définir les 5 types de climat méditerranéen du plus aride jusqu'à celui de haute montagne. (Emberger, 1955) Il se base sur le régime des précipitations et des températures et il s'exprime selon la formule suivante :

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

- ❖ Q_2 : quotient pluviométrique d'Emberger.
 - ❖ P = Précipitation annuelle moyenne (mm)
 - ❖ M = Températures des maxima du mois le plus chaud ($^{\circ}\text{K}$).
 - ❖ m = Températures des minima du mois le plus froid ($^{\circ}\text{K}$).
- Les températures sont exprimées en degrés absolus [$T(^{\circ}\text{K}) = T(^{\circ}\text{C}) + 273.2$]

Le calcul du Q_2 quotient pluviométrique d'Emberger donne la valeur 102,24 indique que la Numidie occidentale appartient à l'étage bioclimatique de végétation subhumide à hiver chaud (Fig.15).

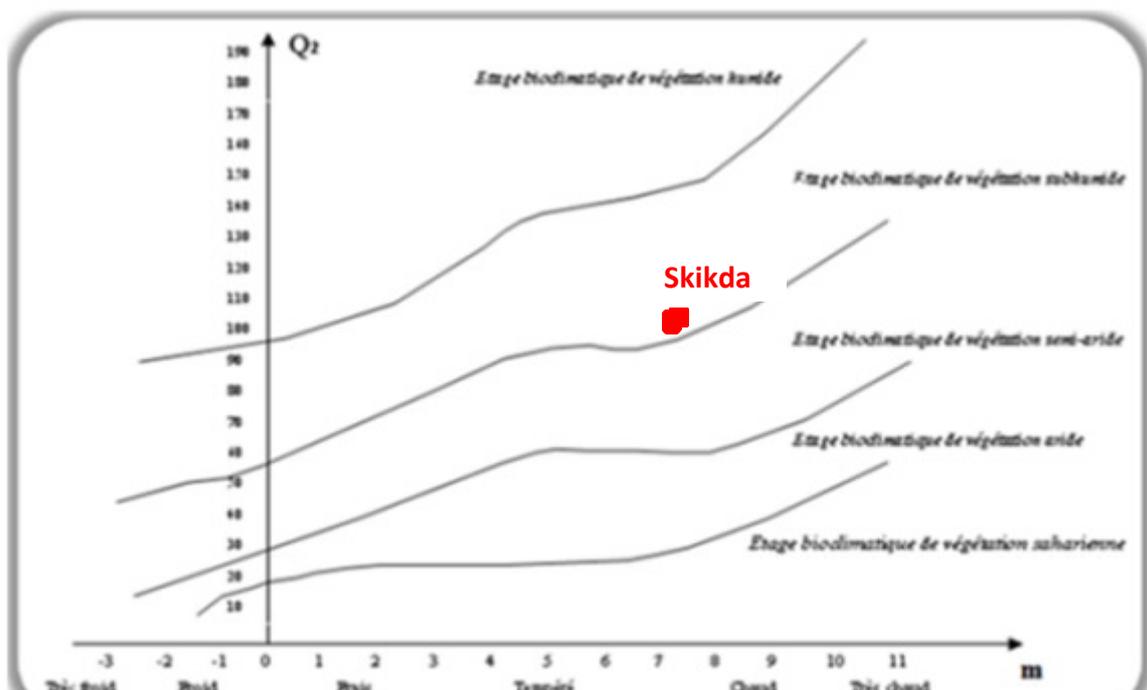


Figure 15 : Situation de la wilaya de Skikda dans le climagramme d'Emberger.(1997 – 2012)

6. Cadre biotique :

Le complexe de Gerbes-sanhadja est un écosystème d'eau douce intérieure, rare dans le bassin méditerranéen, extrêmement riche en biodiversité et abrite un grand nombre de plantes, de poissons, d'oiseaux, de mammifères, de reptiles et d'insectes. (DES, 2013)

Le caractère remarquable de la flore et la faune de cette région à pour origine la diversité morphologique et son emplacement dans un carrefour bioclimatique entraînant une richesse élevée de la biodiversité. (Boumezbeur, 2000)

6.1. La flore :

La diversité biologique du complexe de Gerbes Sanhadja se résume à sa grande richesse floristique. (Samraoui et De Belair, 1997)

234 espèces ont été recensées au niveau du lacs de complexe de Guerbes Sanhadja 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 les 1/3 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 rarissime. (DGF, 2001)

(Samraoui et De Belair. 1997) ont été recensées au niveau de Gerat Chichaya plus

de 50 espèces végétales parmi lesquelles nous trouvons des hydrophytes comme *Ceratophyllum demersum*, *Lemna gibba*, *Myriophyllum spicatum*.

La végétation de Garaet Beni M'hamed est peu diversifiée dans le plan d'eau nous constatons des formations émergentes de *Chamaemelum praecox*, *Juncus acutus*, *Oenanthe fistulosa* et 102 espèces végétales sont dispersées entre les prairies humides, les prairies sèches, les marais et les sites à eau ouverte au niveau de Garaet Sidi Makhlouf. L'existence de 194 espèces végétales appartenant à 62 familles à Garaet Hadj Tahar, dont pratiquement la moitié est considérée comme espèce rare et très rare et d'autres dont la présence n'est pas signalée en Algérie. Nous rencontrons également *Lemna gibba*, *Lemna minor*, *Potamogeton lucens*,...etc. (Samraoui et De Belair, 1997)

6.2. La faune :

La plaine de Guerbes est le site de nidification de deux espèces très rares l'Eresmature à tête blanche (*Oxyura leucocephala*) et 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 passereaux paludicoles. (Boumezbeur, 2002)

Le complexe de zones humides de la plaine de Guerbes-Sanhadja est un lieu de migration et d'hivernage pour les oiseaux d'eau et source d'alimentation de l'anguille et d'autres espèces marines comme le mullet, le barbeau...etc. (DGF, 2001)

Dans Garaet Beni M'hamed les oiseaux d'eau qui fréquentent ce plan d'eau sont principalement les Hérons garde-bœufs, le Canard Siffleur (*Anas penelope*), le Canard Souchet (*Anas clypeata*) le Canard Pilet (*Anas acuta*), le Vanneau huppé (*Vanellus vanellus*), le Flamant rose *Phoenicopterus roseus*, (*Larus michahellis*). (Metallaoui, 2010)

Ainsi ; Garaet Chichaya est principalement fréquenté par la Cigogne blanche, la Gallinule poule d'eau, le Busard des roseaux et la Foulque macroule. (Metallaoui, 2010)

Des travaux récents ont montré que, Garaet Hadj Tahar se singularise en Numidie par leur abondance en ressources trophiques et plus particulièrement en gastropodes (*Planorbis planorbis*, ainsi que d'autres espèces) (Haouam, 2003). Ces derniers jouent un rôle

clé dans le succès de la reproduction des oiseaux d'eau. (Perrins, 1974)

L'avifaune remarquable à Garaet Sidi Makhlouf est représentée par le Fuligule nyroca (*Aythya nyroca*) qui probablement se reproduit quand le site ne s'assèche pas rapidement. La poule sultane (*Porphyrioporphyrus*) le Fuligule milouin (*Aythya ferina*), la poule d'eau (*Gallinula chloropus*), ainsi que d'autres oiseaux aquatiques. (Samraoui et De Belair ;1997)

7. Exploitation des sites

La croissance démographique ; l'expansion des centres habités ; et la stratégie nationale de développement agricole reposant sur l'intensification de l'agriculture et la promotion des investissements autour des exploitations agricoles, font peser des menaces importantes sur cette région et contribuent à dégradation des caractéristiques écologiques du complexe. (Fig.16)(DES, 2013)

Ainsi ; que ces zones humides en hiver et en printemps (plus de 49 000 bovins et ovins en pâturage extensif) favorise l'érosion éolienne qui affecterait 42% de la zone. (Fig.16)(DGF, 2002)

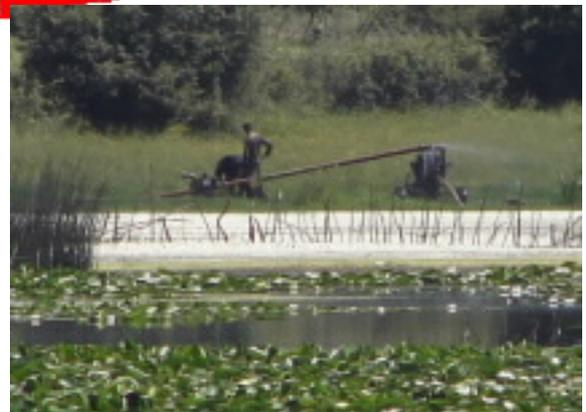


Figure 16: L'irrigation à gauche à Garaet Sidi Makhlouf et à droite à Garaet Hadj Tahar
(Photo prise par Merzoug Seyf Eddine le 09.03.2013, et 14.04.2012).



Figure 17: Pâturage à gauche à Hadj Taher et à droite Carcasse bovine à Garaet Hadj Tahar
(Photo prise par Merzoug Seyf Eddine le 10.05.2013 et 16.05.2011).



L'eau, source de vie et un élément de préservation de la santé, mais la présence de certains germes dans une eau limite parfois son aptitude à certains types d'utilisation, c'est pour cela la qualité microbiologique d'une eau est particulièrement importante. (**Sayad, 2008**)

L'appréciation de la qualité des eaux de surface se base sur la mesure des paramètres physico-chimiques ainsi que sur des analyses microbiologiques : population bactérienne totale, le dénombrement et la recherche des germes tests de contamination fécale, la présence ou l'absence de microorganismes pathogènes. (**Rejsek, 2002**)

La chaîne prélèvement – échantillonnage – conservation – analyse doit être cohérente afin de maintenir l'intégrité de l'eau à étudier. (**Alain et Roger, 2004**)

1. Echantillonnage

Le prélèvement correspondant à la prise d'un certain volume représentatif du milieu, et l'échantillonnage qui consiste à soutirer des fractions du prélèvement sont des étapes importantes, (**Chaouch, 2007; Rodier, 2009**) ; car la qualité du rapport final rédigé par un laboratoire et l'interprétation sera influencée par la qualité de l'échantillon prélevé. (**Lightfoot, 2002**)

En fonction de la nature des eaux analysées et celle des microorganismes recherchés, les normes fixent des conditions à respecter. L'objectif est d'obtenir un échantillon aussi représentatif que possible de l'eau à examiner, sans contaminer ni modifier l'échantillon. Des précautions doivent être prises. (**Rejsek, 2002**)

1.1. Matériel de prélèvement :

Le prélèvement destiné à l'analyse microbiologique de l'eau doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse (**Guiraud, 1998**) . Les échantillons sont prélevés à l'aide de flacons en verre pyrex munis d'un bouchons à vis métallique, d'une contenance de 250 ml , stériles pour faciliter les prélèvements et éviter tout type de contamination . (**Derwiche *al.*, 2008, Merzoug ; 2009**)

La verrerie destinée aux prélèvements d'eau doit être munie d'un nettoyage avec un détergent puis rinçage avec l'eau propre (eau douce), puis un rinçage final avec l'eau distillée. (Guiraud, 1998; Lightfoot, 2002)

La verrerie lavée est ensuite stérilisée soit :

- A la chaleur sèche (four Pasteur) à une température comprise entre 170 et 175°C, pendant au moins 1h.
- A la chaleur humide (autoclave) en maintenant à une température de 121°C, pendant au moins 20'. (Merzoug, 2009)

Pour éviter les risques de contamination, les flacons d'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement. Une fois l'échantillon est prélevé, les flacons doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse. (Rejsek, 2002; Merzoug, 2009; Rodier, 2009)

1.2. Mode de prélèvement :

Il convient d'être très attentif pour éviter toute contamination accidentelle d'échantillon durant le prélèvement, ce qui implique le respect de règles précises. Ces règles seront différentes selon le point de prélèvement. (Rejsek, 2002)

Les flacons de prélèvement sont plongés dans l'eau, nous les ouvrons à une profondeur de 25 à 30 cm, fermés hermétiquement dans l'eau sans laisser des bulles d'air. (Rodier, 2005)

Le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, laisser un petit volume d'air à la surface pour faciliter l'agitation de l'eau avant son analyse. (Merzoug, 2009; Regam, 2010)

1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons :

Pour faciliter le travail et l'exploitation des résultats tout en évitant les erreurs, il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables. Dans ces derniers, on

doit noter avec précision : la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales. (Rodier et al., 1996; Lightfoot, 2002)

1.4. Transport et conservation des échantillons avant l'analyse :

Pour les analyses qui seront faites au laboratoire, il faut que les échantillons d'eau soient acheminés dans les meilleurs délais, surtout les demandes des analyses bactériologiques (Mayet, 1994). Si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10 °C les prélèvements seront transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 1 à 4 °C. (Rodier, 2009)

2. Choix des stations de prélèvement

Pour mieux évaluer la qualité bactériologique des eaux de quelques zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja ; l'un des principaux réservoirs de la biodiversité du bassin méditerranéen, nous avons choisis cinq sites ; deux stations de prélèvements dans chaque site qui sont localisés dans Garaet Beni M'hamed ; Garaet Me ssaoussa ; Garaet Chichaya ; Garaet Sidi Makhlouf et Garaet Hadj Taher. Ces points de prélèvements sont détaillés dans le tableau 02. (Annexe 01)

3. Nature et période de prélèvement

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité bactériologique ainsi que quelque mesure *in situ* des eaux de quelques zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja nous avons effectué 01 prélèvement pendant chacun des deux mois Mars et Avril 2013. (Tab.03). (Annexe 01)

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

4. Mesures *in situ*

La température, le pH, la conductivité, et l'oxygène dissous doivent être mesurés *in situ* pendant chaque prélèvement. Ils permettent une première estimation de la qualité du plan d'eau.

En effet, ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et susceptible de varier dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur site.

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place à l'aide d'un multi-paramètre de type WTW 1970 i.

4.1. La température :

Il est très important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle direct sur le comportement de différentes substances contenues dans l'eau ; et elle a aussi une grande influence sur l'activité biologique. (Roux, 1987 ; Rodier *et al.*, 1996 ; Leclerc, 1996 ; De Villers *et al.*, 2005)

La mesure de la température est effectuée sur le terrain, on utilise souvent dans ce but un thermomètre ou un multi-paramètres.

4.2. Le pH :

Le pH de l'eau est défini selon sa concentration en ions H^+ contenus dans la solution. Il exprime l'alcalinité ou l'acidité du milieu (Amroune, 2008) ; il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14, 7 étant le pH de neutralité (Castany et Margot, 1977). Pour la mesure du pH ; nous avons utilisé un multi-paramètre de terrain.

4.3. L'oxygène dissous :

L'oxygène dissous conditionne la vie des microorganismes aquatiques et généralement le fonctionnement de cet écosystème. Sa solubilité est en fonction de la température (Rodier, 1994). La mesure de l'oxygène dissous (mg/l ou en % saturation) est importante car elle permet de fournir des informations concernant la dégradation de substances organiques (réactions biochimiques), la provenance de l'eau, la mobilisation potentielle de certains métaux, etc. (Thierrinet *et al.*, 2001)

La détermination de l'oxygène dissous (O_2) a été réalisée sur terrain à l'aide d'un multi-paramètre.

4.4. La conductivité électrique :

Mesurer la conductivité électrique de l'eau, c'est à dire sa capacité à transporter et à favoriser le passage du courant électrique. (Wilke et Boutiere, 1999 ; Rejsek, 2002) ; elle traduit la minéralisation totale de l'eau. (Rodier et al., 1996 ; Rejsek, 2002)

La mesure a été réalisée à l'aide d'un multi-paramètre, Elle s'exprime en micro-siemens par centimètre. (Rejsek, 2002)

5. Les analyses bactériologiques

De nombreuses bactéries pathogènes peuvent se trouver dans l'eau par souillure de cette dernière, par des excréments d'animaux et humains ou par des eaux d'égouts. (Rajonsonet al., 1992)

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

Le choix des méthodes d'examen microbiologique des eaux dépendra de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitées. (Rodier et al., 2009)

Avant de procéder aux méthodes utilisées pour l'évaluation de la qualité de l'eau, la stérilisation de matériel à utiliser s'effectue avant chaque prélèvement. (Sayad, 2008)

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

Cette méthode consiste à la recherche et le dénombrement des microorganismes revivifiables dans les eaux. Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobie à des températures optimales de croissance (après 24h à 37° C). (Kélekéet al., 2004)

Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser (Solution mère = 1) et des dilutions décimales 10^{-1} et 10^{-2} , porter aseptiquement 1 ml dans trois boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique le schéma (Fig.18)

Compléter ensuite avec environ 19 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes (Merzoug, 2009). Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose. (Lebres, 2002 ; Bouchaala, 2009) Laisser solidifier les boîtes sur la paille. (Merzoug, 2009)

❖ Incubation :

Les boîtes seront incubées à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant $44 \pm 4^\circ\text{C}$ heures. (Lebres *al.*, 2006)

❖ Lecture :

Examiner les boîtes aussitôt qu'elles sont retirées des étuves. Si cela n'est pas possible, les conserver à $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ et les examiner dans les 48 heures. Rejeter les boîtes présentant une croissance confluite. (Rejsek, 2002). Les germes revivifiables se présentent sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse, ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies. (Lebres, 2002)

Calculer la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à part et celle du nombre N de microorganismes revivifiables à $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ à part, en tenant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :



Où :

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

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

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule. Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 37 °C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10. (Labres et al., 2008). Exprimer les résultats en UFC. (Rodier et al., 2009)

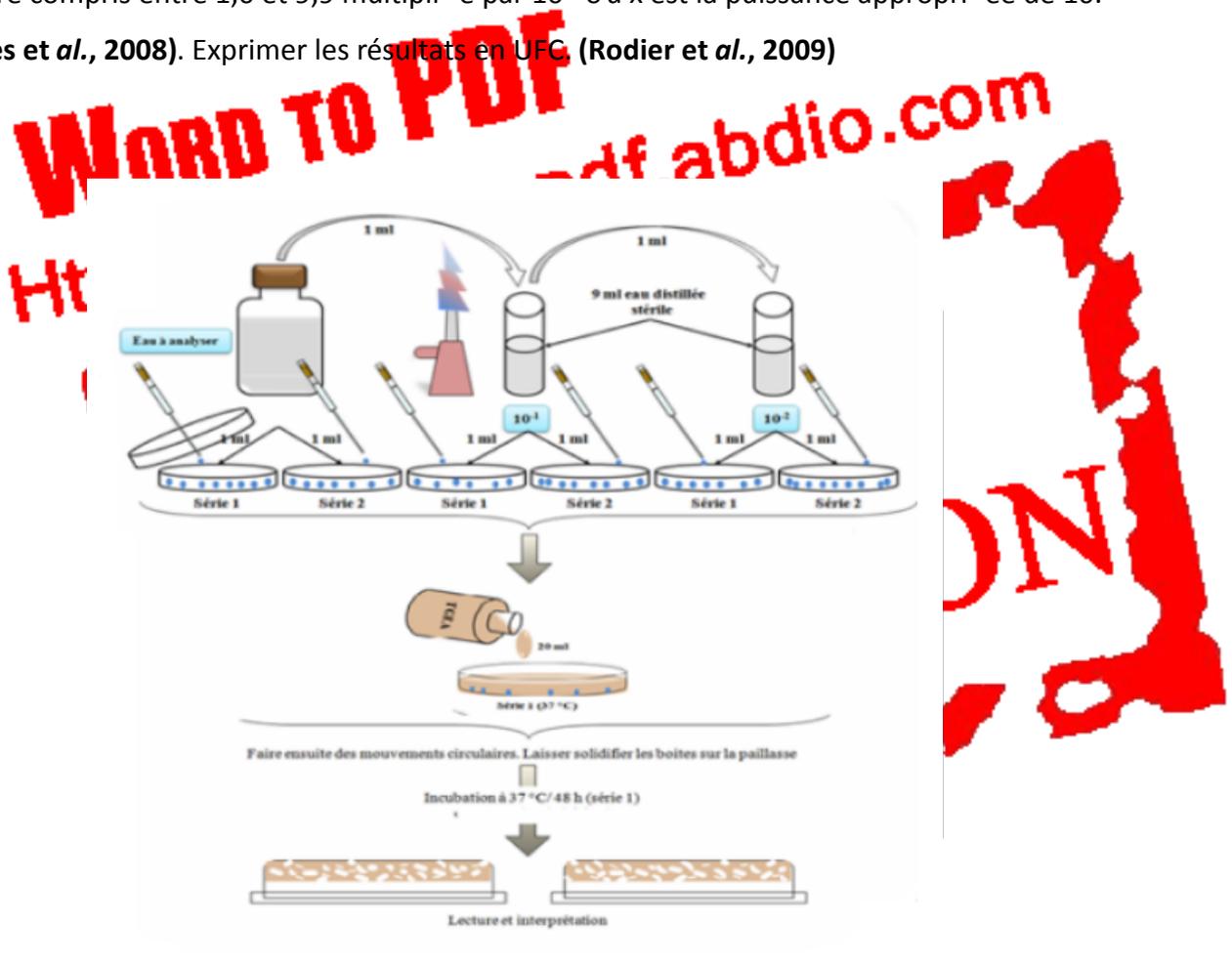


Figure 18 : Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à 37°C dans les eaux. (Abdellioui et al.; 2012).

5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination fécale :

5.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d'*Escherichia coli* en milieu liquide (Méthode de NPP):

Les coliformes sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatif, non sporulés, ne possédant pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37 °C. (Carbonnelle, 1998; Camille, 2003)

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capable de fermenter le lactose et de produire l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à une température de 44°C ; et qui donne un résultat positif à l'essai au rouge de méthyl. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E. coli*). (Roux, 2003 ; Lebreton, 2008)

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

Le principe de cette méthode se divise en deux étapes :

Mode opératoire :

❖ **Test présomptif :**

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques. (Rejsek, 2002)

Nous prenons les tubes de BCPL (bouillon lactose au pourpre de bromocrésol, simple concentration) munis d'une cloche de Durham.

Prélever 1ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et la porter dans le premier tube de la série contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-1} .

Nous prélevons 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9 ml

de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-2} .

Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-3} .

Refera la technique pour 2 autres tubes de BCPL afin d'obtenir 5 tubes de BCPL, et refaire pour 2 autres séries. **(Délarras, 2008)**

❖ **Lecture :**

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

Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10^{ème} de la hauteur de la cloche) ;

Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu). **(Labres et al., 2008)**

On retient le nombre caractéristique constitué par les trois chiffres écrit dans l'ordre des dilutions croissantes en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs. **(Bourgeois, 1980)**

Ce nombre caractéristique obtenu correspond d'après la table de Mac Garry au nombre de bactéries présentes (NPP) dans le prélèvement correspondant à la plus faible dilution prise en compte. Le calcul de concentration cellulaire dans la suspension initiale se fait en tenant compte les dilutions effectuées. **(Bourgeois ; 1980, Leclerc ; 1983)**

❖ **Test confirmatif :**

Le test de confirmation est basé sur la recherche de coliformes thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*. **(Merzoug, 2009)**

Repiquer chaque tube de BCPL trouvé positif avec une anse bouclée ou une pipette Pasteur dans le (ou les) milieu(x) de confirmation. **(Rodier et al., 2009)**. Comme milieu de confirmation, on a utilisé dans le premier prélèvement : le milieu eau peptonée exempte d'indole et pour le deuxième prélèvement : le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

Chasser l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélanger le

milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 44 °C pendant 24 heures. (Labres et al., 2008)

❖ **Lecture :**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant :

Un anneau rouge en surface, t émoins de la production d 'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs. (Fig.19)(Rejsek, 2002)

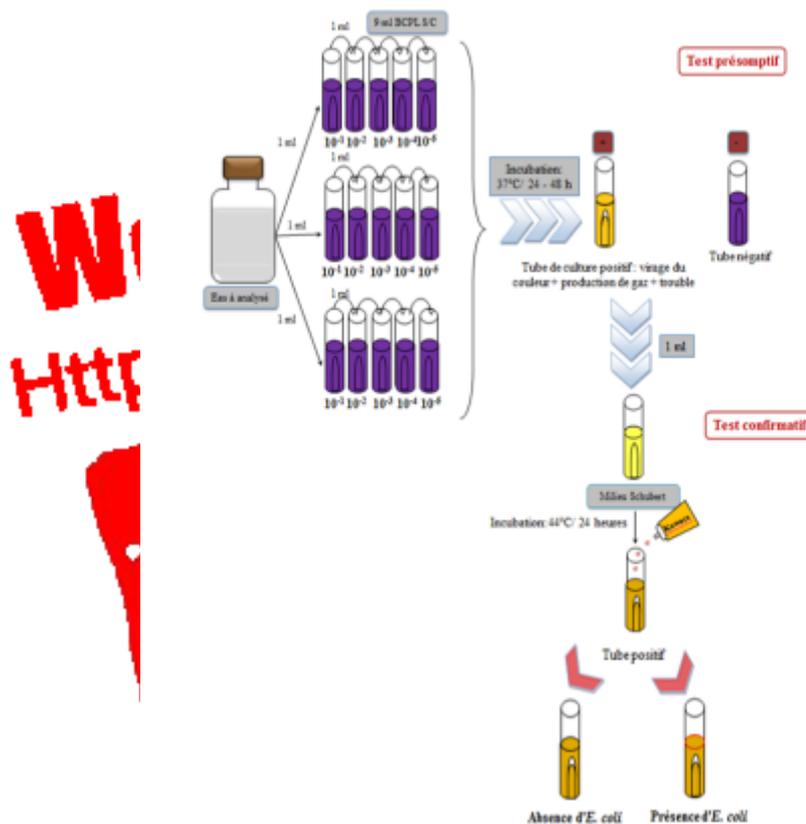


Figure 19 : Protocol de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et *E. coli* dans les eaux. (Méthode de NPP)

5.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (*Enterococcus*) :

Cette méthode consiste à la recherche des streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe D ; sont des coques à Gram (+), formant quand ils sont cultivés en milieu liquide

des diplocoques et/ou des chainettes, de catalase (-) et possédant de l'antigène de groupe D (Rejsek, 2002) immobile, anaérobie facultative, non sporulant. (Gillespie et Hawkey, 2006; Harvey et al., 2007 ;Engelkirk, 2008)

La recherche et le dénombrement des streptocoques du groupe D dans les eaux se fait aussi par la technique du NPP qui se fait en deux étapes consécutives (Fig.20)

Mode opératoire :

❖ Test présomptif :

A partir de l'eau à analyser, après homogénéisation ; porter aseptiquement 1ml dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution 10^{-1} .

Prélevé 1ml de tube précédent 10^{-1} et mettre dans le seconde tube Rothe pour avoir la dilution 10^{-2} .

Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9ml de milieu Rothe S/C, pour obtenir la dilution 10^{-3} .

Refaire la technique 5 fois pour avoir 5 tubes de Rothe, et refaire 2 autres séries.

L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures. (Rejsek, 2002; Délarras, 2008)

❖ Lecture :

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

❖ Test confirmatif :

Les tubes de Rothe trouvés positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une

pipette pasteur ou une ose bouclée dans tube contenant le milieu Eva Litsky. Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C ; pendant 24 heures.

❖ **Lecture :**

Sur le milieu de Eva Litsky, la présence de streptocoque du groupe D se caractérise par l'apparition d'un trouble dû au développement bactérien, avec ou sans dépôt violet. (Rejsek ; 2002). La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP de Mac Grady(Tab.04)(Annexe 02).

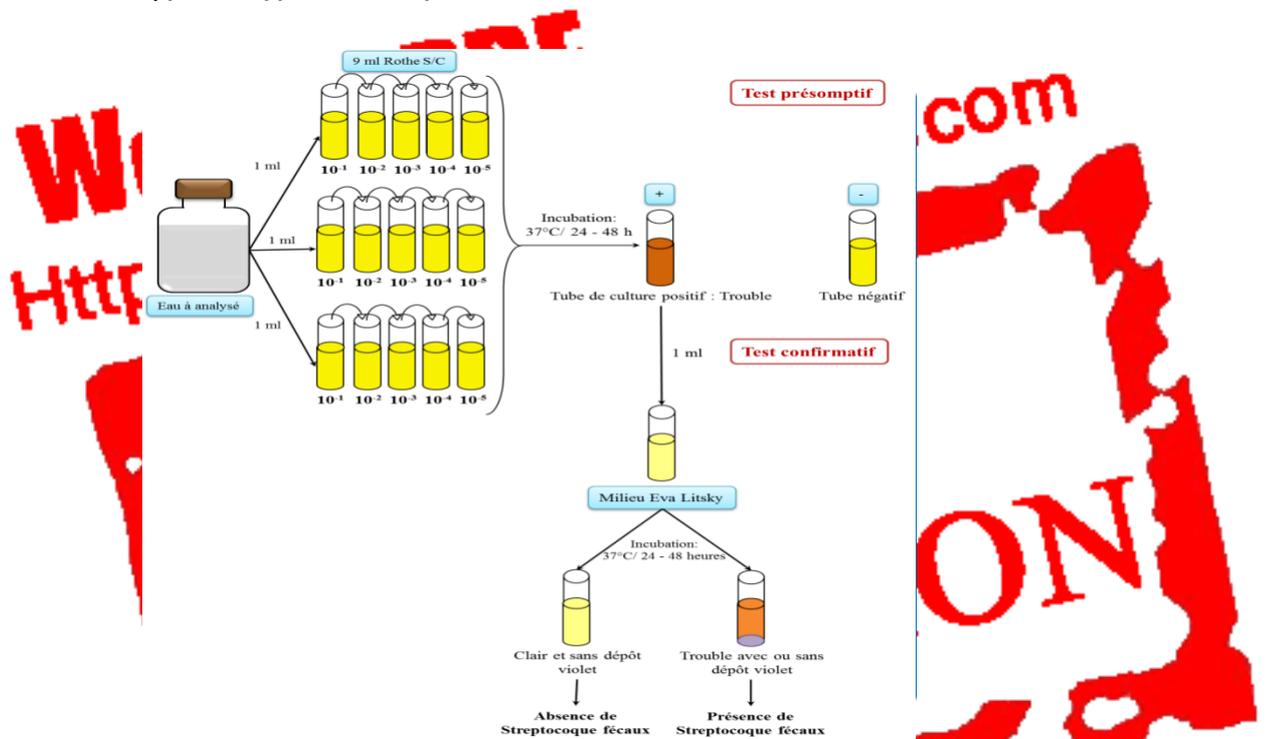


Figure 20: Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux. (Abdellioui et al., 2012).

5.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-reductrices (*Clostridium*) :

Cette recherche concerne des bactéries anaérobies strictes, parmi ces bactéries figure le genre *Clostridium* (Rejsek, 2002), il s'agit de bacilles à Gram (+) presque toujours mobile ;

(Pilet *et al.*, 1987) acquièrent une structure spéciale appelée endospore ou spore ; très résistante dans l'environnement (Rejsek, 2002), qui se développe à une température de 36 ± 2 °C en 24 à 48 heures en gélose profonde ; donnant des colonies de couleur blanche entourées d'une auréole noire, c'est le témoin de la réduction de sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu ; en sulfure qui en présence de Fe^{2+} qui donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. (Lebres *et al.*, 2008)

❖ **Mode opératoire :**

A partir de l'eau à analyser, transférer environ 25 ml d'eau à analyser dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80 °C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes. (Fig.21)

Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet.

Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.

Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose viande foie, fondue puis refroidie à 47 ± 1 °C, (Lebres *et al.*, 2008) additionnée de 1 ml de la solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de la solution d'alun de fer. (Rodier *et al.*, 2009)

Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air

Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 36 ± 2 °C, pendant 24 à 48 heures. (Lebres *et al.*, 2008)

❖ **Lecture et interprétation :**

Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir.

Il est indispensable de procéder à une lecture après 24 heures : en présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme

du tube et tout d'énumération devient impossible après 48 heures. Par contre, s'il y a une faible quantité de colonies à la première lecture, et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes. (Rodier *et al.*, 2012)

Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, ayant poussé en masse et rapporter le nombre total des colonies dans les quatre tubes à 20 ml d'eau à analyser. (Lebres *et al.*, 2008)

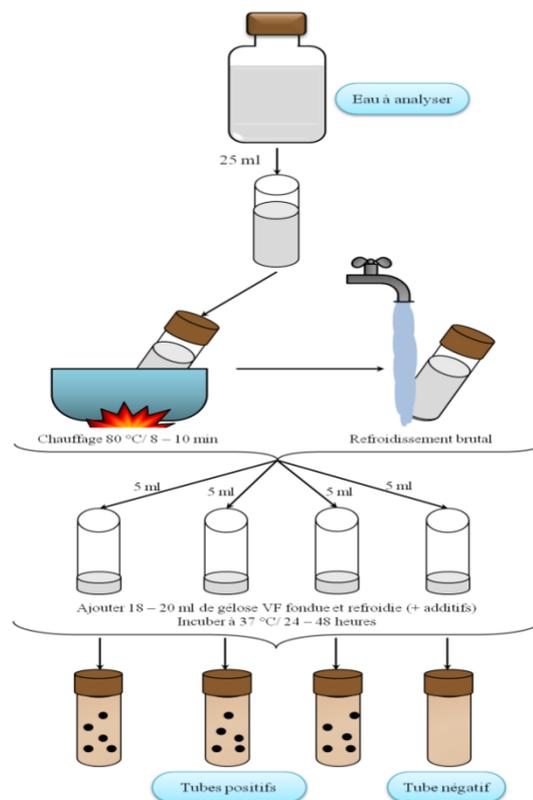


Figure 21: Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réductrices dans les eaux. (Abdellioui *et al.*; 2012).

5.3. Recherche des germes pathogènes :

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'homme dans tous les types d'eaux. Celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains, soit étant autochtones et pouvant s'adapter à l'homme. (Rodier *et al.*, 2009)

5.3.1. Recherche des staphylocoques:

On entend par staphylocoques à coagulase positive, les bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, possédant l'enzyme catalase et la coagulase. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 36 ± 2 °C sur un milieu sélectif Chapman au mannitol qui contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75g/l). (Pechère et *al.*, 1982 ; Carbonnelle, 1988 ; Lebres et *al.*, 2008)

❖ Culture :

On prépare les boîtes Pétri avec le milieu Chapman. (Rodier; 1996). A partir de la solution mère, on porte aseptiquement 0.1 ml (2 gouttes) dans les boîtes de Pétri qu'on étale à l'aide d'une anse de platine stérile. L'incubation se fait à 37 °C pendant 48 heures. (Fig.22)(Ait Kaci et *al.*, 2008)

❖ Identification :

Après la période d'incubation spécifiée, les staphylocoques à coagulase positive ou plus particulièrement *Staphylococcus aureus*, apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en jaune (fermentation du mannitol) ou en blanc. (Ait Kaci et *al.*, 2008 ; Rodier, 2009)

L'identification des staphylocoques nécessite la mise en œuvre de réactions spéciales au genre :

Etat frais et coloration de Gram ;

Test à la catalase ;

Oxydase ;

Mannitol ;

Recherche de la coagulase libre. (Tab.0) (Annexe 03)

5.3.2. Recherche de *Shigella* :

Les Shigelles sont des *Enterobacteriaceae*, rencontrées exclusivement chez l'homme, elles ne font partie d'aucune flore commensale chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif (Beriche et al., 1988) ; éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que peu de temps. Morphologiquement ce sont des bacilles Gram négatifs, immobiles ; dépourvus de spores et de capsules très proches d'*E. coli*. (Pechère et al., 1982 ; Carbonnelle, 1988)

❖ Culture :

A partir de l'eau à analyser porter aseptiquement 0.1 ml et l'on étale à la surface de Gélose Mac Conkey, Gélose *Salmonella Shigella* (Gélose SS), et Gélose Hectoën, par la méthode des quatre quadrants, puis les incubent à 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 h. (Fig.22)

❖ Identification

Après un examen macroscopique et microscopique des colonies suspectes ; ils se déterminent l'identification sur une galerie classique ou miniaturisée pour *Enterobacteriaceae* avec laquelle elles se différencient par un ensemble de caractères négatifs qui sont résumés dans le tableau ci-après (Tab.06) (Annexe.03)

5.3.3. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*:

On entend par *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie qui se présente sous forme de bacille à Gram négatif possédant l'enzyme oxydase ; et capable de produire de l'ammoniac à partir de l'acétamide et ne dégrade pas le lactose. (Pechère et al., 1982; Pilet, 1987; Labres et al., 2008)

❖ Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser porter aseptiquement 0.1 ml et l'on étale à la surface de gélose Cétrimide, par la méthode des quatre quadrants, puis les incubent à 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 h. (Fig.22)

❖ **Identification :**

Considérer comme colonie caractéristique toute colonie présentant une fluorescence. Du fait de la sélectivité du milieu cétrimide, on peut suspecter les colonies présentes d'être *Pseudomonas*. Dans tous les cas, il faudra réaliser une identification de l'espèce (Rejsek ; 2002). Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle et la coloration de Gram, ainsi qu'un test oxydase.

Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture, sa production est favorisée sur milieu de King A.

Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. (Lebres et al., 2008)



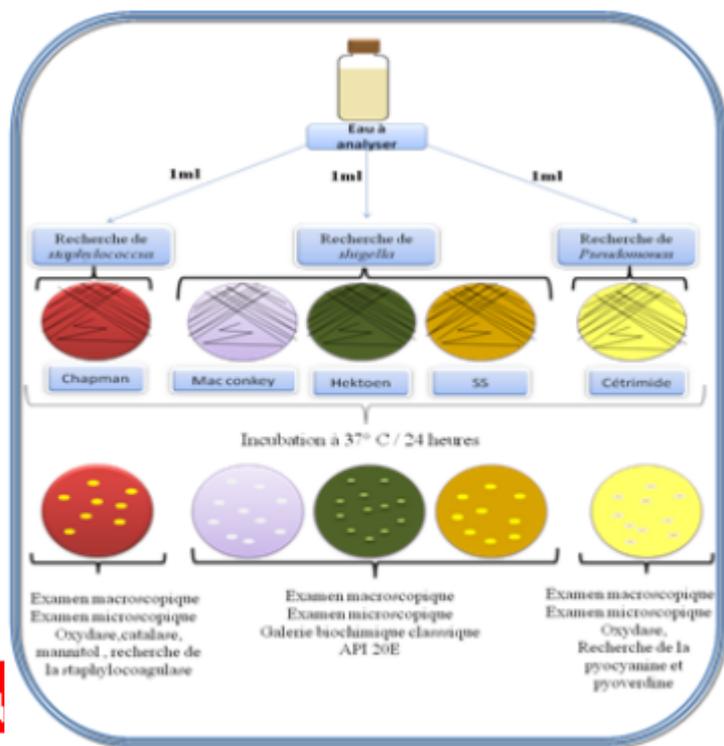


Figure 22: Protocole de recherche des *Staphylococcus*, *Shigella* et *Pseudomonas* dans les eaux.

5.3.4 Recherche de *Salmonella* :

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatifs (BGN) (Lebres, 2002), anaérobies facultatives, mobiles pour la plupart avec des flagelles péritriches, ne fermentant pas le lactose, mais fermentant le glucose avec production de gaz et de H_2S (Pechère et al., 1982; Carbonnelle et al., 1988 ; Lebres, 2002 ; Lebres et al., 2008)

❖ Mode opératoire :

Jour 1 : Premier enrichissement

Introduire 1 ml de l'échantillon d'eau dans 10 ml de Sélénite Cystéine (SFB) (Ait Hamlet, 1998), puis incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures. (Lebres, 2002)

Jour 2 : Deuxième enrichissement et isolement

Ce tube fera l'objet :

D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu SFB en tubes à raison de 1 ml ;

D'autre part, d'un isolement sur les géloses Hektoen, SS et Mac Conkey. (Lebres, 2002)

Jour 3 : Lecture des boîtes et identification

D'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un deuxième isolement ;

D'autre part, les boîtes des géloses Hektoen SS et Mac Conkey subira une lecture. (Lebres, 2002)

Identification morphologique et biochimique

Etat frais et coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),

Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h ;

Ensemencement : * Soit d'une galerie biochimique classique (ONPG, Oxydase, LDC, ODC, ADH, Urée, TDA, VP, RM ...),

* Ou d'une galerie biochimique API 20 E (Fig.23). (Lebres, 2002)

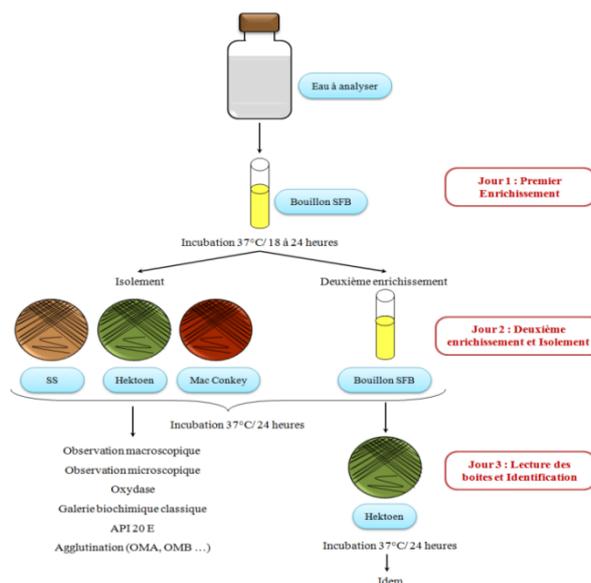


Figure 23: Protocole opératoire de la recherche de *Salmonella* dans l'eau. (Abdellioui et al., 2012).

5.3.5. Recherche de *Vibrio cholérique* :

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, assez courts, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 μm et une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 μm (Cohen et Karib, 2007), très mobiles grâce à une ciliature polaire, le plus souvent monotriche. (Oliver et Japer, 1997; Nauciel et Vildé, 2005 ; Denis et al., 2007 ; Harvey et al., 2007). Ils sont aérobies facultatifs (Le Minor et Veron, 1989) et possédant une oxydase et fermentant le glucose sans production de gaz ni d' H_2S . (Pechère et al., 1982; Pilet et al., 1987 ; Cohen et Karib, 2007 ; Labres et al., 2008)

Mode opératoire :

Jour 1 : Premier enrichissement

Le premier enrichissement se fait dans des tubes portés 10 ml de milieu eau peptonée alcaline (EPA). Ce dernier sera par la suite incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures, comme l'indique le schéma n°15 (Fig.24). (Lebres, 2002)

Jour 2 : Deuxième enrichissement et isolement

D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu EPA en tubes à raison de 1 ml ;

D'autre part, d'un isolement sur gélose GNAB. Dans les deux cas l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. (Lebres, 2008)

Jour 3 : Lecture des boîtes et identification

D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB 2; qui sera incubé à son tour à $36 \pm 2^\circ \text{C}$ pendant 24 heures ;

D'autre part, les boîtes de gélose GNAB 1 subiront une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques. (Lebres ; 2008)

Identification morphologique et biochimique

Sur GNAB, les colonies sont rondes, plates, bord régulier, surface lisse brillante, translucides sous forme de goutte de rosée. (Patrick et al., 2009)

Une identification morphologique et biochimique basée essentiellement sur :

Etat frais et coloration de Gram ;

Oxydase (+) ;

Ensemencement d'une galerie biochimique classique ou bien galerie API 20 NE

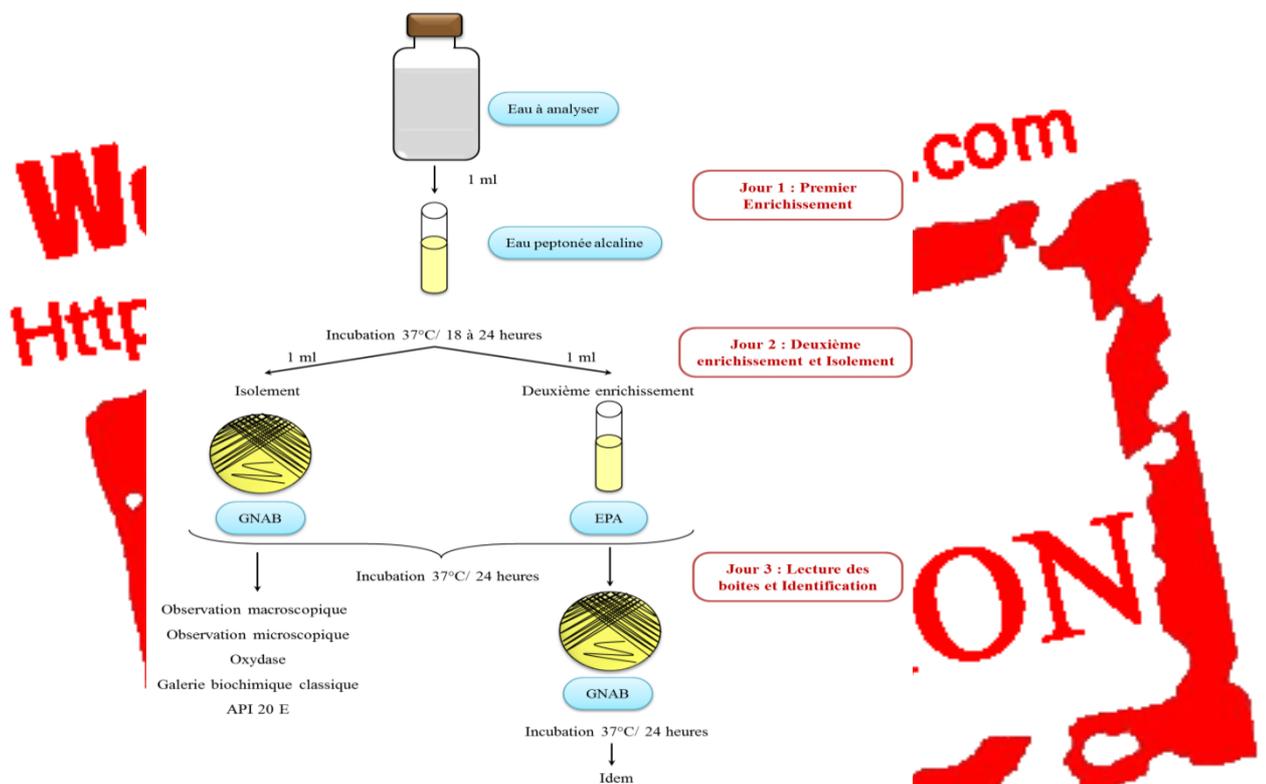


Figure 24 : Protocole de recherche et identification de *Vibrio* dans les eaux. (Abdellioui et al., 2012)

6. L'identification

6.1. Examen macroscopique des caractères cultureux:

Pour l'examen macroscopique des bactéries, les souches doivent être cultivées sur un milieu gélosé solide en boîte de Pétri. (Dellaras, 2007)

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées. La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

La taille ;

La forme: bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé ;

L'aspect de la surface: lisse, rugueux ;

L'opacité : opaque, translucide, transparent ;

La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse ;

Pigmentation. (Rouaiguia, 2010)

6.2. Examen microscopique :

❖ coloration de Gram:

L'examen microscopique après une coloration de Gram nécessite au départ une préparation d'un frottis, une colonie bien isolée d'une culture en milieu solide sera prélevée et mise en suspension dans une goutte d'eau distillée stérile. L'observation se fait à l'objectif $\times 100$. Cette coloration permet de différencier les bactéries selon deux critères : leur

forme (bacille, cocci,...etc.) et leur affinité pour les colorants, en Gram positif et Gram négatif. Elle se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consiste à :

- 1- Fixer de frottis.
- 2- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet. Laisser agir 1 minute.
- 3- Rejeter le colorant. Laver à l'eau.
- 4- Recouvrir la préparation de Lugol. Laisser agir 1.30 minute.
- 5- Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.
- 6- Décolorer à l'alcool 95° pendant 10 secondes.
- 7- Rincer à l'eau courante.
- 8- Recouvrir la lame de la solution de Fuch sine dilu ée. Laisser agir pendant 30 secondes à 1 minute.
- 9- Laver abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier buvard très propres. (Dégrément, 1998)

Lecture :

Après ce traitement , les bact éries Gram positif sont bien color ées en violet, et les bact éries Gram négatif sont color ées en rose .(Fig.25). (Carbonnelle, 1988 ; Prescott et *al.*, 2003 ;Mamadou, 2005 ; Boukrouma, 2008)

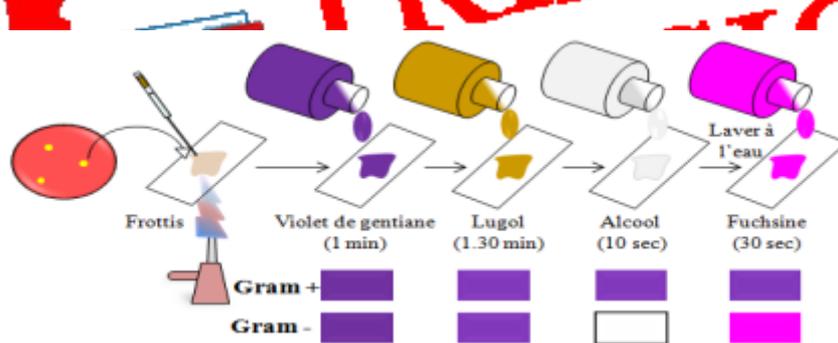


Figure 25 : Procédure de la coloration de Gram. (Abdellioui et *al.*, 2012)

6.3. Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques :

6.3.1. Caractères enzymatiques :

- ✓ Test de catalase :

La catalase est une enzyme présente chez la pluparts des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée en eau et en oxygène qui se dégage. (Fig.26). (Dellaras, 2007)

La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on introduit ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme catalase. (Carbonnelle, 1988)

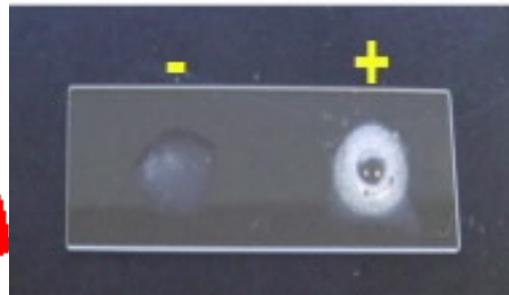


Figure 26 : test catalase négatif à gauche et positif à droite.

✓ Test d'oxydase :

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet. (Fig.27)(Carbonnelle, 1988 ; Lebres, 2004)

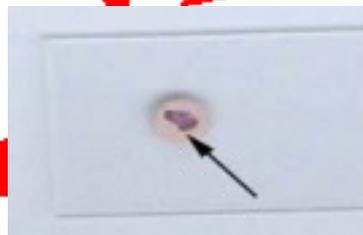


Figure 27 : Test oxydase positif

✓ Test à la coagulase libre :

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*.

Après incubation, prendre aseptiquement une demi-colonie dans un tube stérile à hémolyse contenu 0,3 ml de plasma de lapin (ou de l'homme), et incuber de nouveau à 36 ± 2 °C pendant 2 à 6 h. Examiner la coagulation du plasma de lapin sinon ré-incuber et examiner de nouveau à 20 ± 4 heures.

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide. (Pechère *et al.*, 1982; Lebres *et al.*, 2008). (Fig.28)



Figure 28 : Test coagulase.

6.3.2. Caractères biochimiques :

➤ La galerie classique :

L'identification et la classification des espèces, sont basées essentiellement sur l'étude des caractères suivants : Recherche de l'ONPG, recherche de l'oxydase, milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar), milieu mannitol – mobilité, milieu au Citrate de Simmons, recherche des VP – RM, milieu urée-indole, quelques acides aminés et quelques sucres. (Lebres, 2004)

✓ Test de Citrate de Simmons :

La pente du milieu est ensemencée par strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C. (Raggam, 2010). Après 24 heures, s'il y a une culture avec une alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu), la bactérie est de Citrate positive. S'il y a pas de culture et la couleur du milieu inchangée, la bactérie est de citrate négatif. (Carbonnelle, 1988)

Le mannitol-mobilité

Ce milieu est utilisé pour rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité. Nous ensemençons dans ce milieu solide par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur chargée par la culture à identifier. La culture est ainsi distribuée tout le long du trajet dans la gélose. Nous incubons pendant 24h à 37°C.

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

- Si le germe est très mobile, il se développe le long de la piqûre la masse microbienne envahit tout le tube;
- S'il est peu mobile, il 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. (Carbonnelle, 1988 ; Sayad, 2008)

Utilisation de TSI (Triple Sugar Iron Agar)

Le but de ce test est de mettre en évidence Cinq caractères :

- Fermentation du Glucose
- Fermentation du Lactose
- Fermentation du Saccharose
- Production de Gaz
- Production d'hydrogène sulfureux (H₂S). (Lebres; 2004)

Ce milieu est reparti en tubes à essai sous forme semi-inclinée avec un haut culot et une petite tranche. Il est ensemencé par piqûre profonde du culot au fil droit et par ensemencement en stries de la tranche.

Après une période de 24 h à 37 °C la lecture du milieu est réalisée selon le tableau ci-dessous :

Tableau 07 : Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI.

La ponte	Le culot
----------	----------

Lactose	Jaune : fermentation de lactose et/ou saccharose	-
Saccharose	Rouge : pas de fermentation	
Glucose	-	Jaune : fermentation du glucose Rouge : pas de fermentation
H ₂ S	Apparition d'un noircissement entre le culot et la ponte	
Gaz	-	Présence des bulles de gaz

Test de l'Urée-Indole :

La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation d'un milieu contenant de l'urée d'où l'utilisation de milieu urée-indole. (Merzoug, 2009)

Ensemencer un milieu urée – indole avec une suspension bactérienne. Incuber 18 à 24 heures à 37 °C. (Euzéby, 2007)

L'urée, sous l'action d'une uréase bactérienne va être transformée en carbonate d'ammonium alcalin entraînant une coloration rouge violacée du milieu (Uréase positive). Si le milieu persiste orange, cela indique un test négatif. (Denis et al., 2007)

Test de l'eau peptonée exempte d'indole :

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seules les bactéries indologues permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole.

Nous ensemençons un tube d'eau peptonée exempte d'indole. Après 24 h d'incubation à 37 °C, nous ajoutons quelques gouttes de réactif de Kovacks.

La lecture de l'indole est immédiate :

- Réaction indole positive : anneau rouge ou rose.
- Réaction indole négative : anneau brunâtre. **(Carbonnelle ; 1988).**

Test de réduction du nitrate :

Ce test permet de détecter si un organisme possède le nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate (NO_3^-) en nitrite (NO_2^-).



Nous avonsensemencé le bouillon nitrate et incubé à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation nous avons ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase 1 et 2.

Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive.

Si le milieu reste incolore, dans ce cas on a deux événements :

- Les nitrates ont été d'abord réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie.
- Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le

bouillon nitrate.

Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant la poudre de Zinc, et la couleur apparaîtra, la bactérie est dite nitrate réductase négative.

(Boulekrone , 2008)

Recherche de l'acétone

Le milieu Clark et Lubs permet l'étude de la voie de fermentation du glucose. L'ensemencement se fait largement et l'incubation se fait à une température optimale pendant 24 heures.

Test VP (Voges-Proskauer)

Ajouter 2 à 3 gouttes de VP1 et VP2,

Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation et attendre quelque minute à une heure. Le milieu devient rouge (VP+), ou bien devient jaune (VP-). **(Lebres, 2004 ;**

Boukrouma, 2008)

➤ **La galerie API 20 E**

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données(**Fig.29**).

❖ **Principe :**

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

❖ **Mode opératoire**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir tubes et cupules des tests : |CIT|, |VP|, |GEL|, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures. Il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat.

➤ **Lecture**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes.

Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacks. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive. (Aouissi et al., 2007 ; Merzoug, 2009 ; Rouaiguia, 2010)

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20. (Tab.08) (Annexe 04)

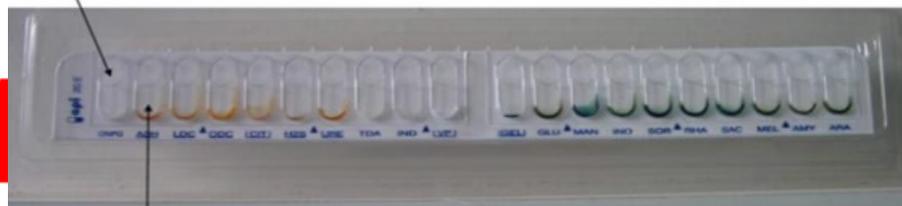


Figure 29 : Présentation de la galerie API 20 E.

➤ La galerie API 20 NE :

❖ Principe :

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme d'éshydratée. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant (Fig.30).

❖ Technique :

✓ Préparation de la galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Déposer stérilement la galerie dans la boîte

d'incubation.

✓ Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile

✓ Inoculation de la galerie :

Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente. Eviter la formation de bulles.

Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule AUX Medium. Homogénéiser.

Remplir les tubes et cupules des tests GLU à PAC.

Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests GLU, ADH, URE

Incuber 24 heures à 30°C.

❖ Lecture :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture. Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de résultats (Tab.09)(Annexe 04). (3)



Figure 30: Présentation de la galerie API 20 NE.

1. Les paramètres physico-chimiques mesurés *in situ*

1.1. La température :

C'est un paramètre écologique très important, vu son influence sur plusieurs facteurs environnementaux. D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la celle de l'air et de leurs origines. (Leclerc, 1996)

La figure 15 représente la variation de la température de l'eau enregistrée dans nos différents sites.

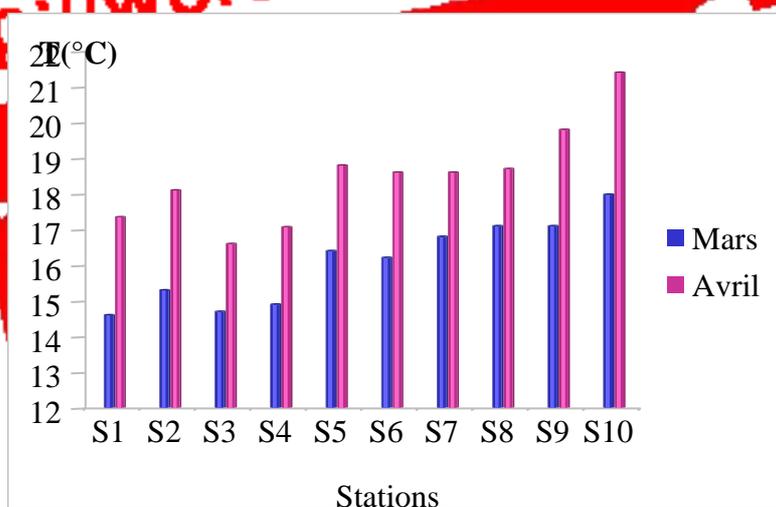


Figure 31: Variation de la température de l'eau de nos sites d'étude (Mars – Avril 2013).

Notre étude a été effectuée durant une courte période, ce qui nous a empêchés d'enregistrer de grandes variations de température ; d'après les résultats la valeur maximale (21,4°C) a été remarquée à la station 10 (Hadj Taher), ainsi que la valeur minimale (14,7°C) à la station 3 (Messaoussa).

Les variations de la température varient en fonction de la température du milieu

extérieur ainsi que la saison.

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température (Monod, 1989) (Tab.10) ; notre eau est de qualité normale (< 20 °C) à bonne (20°C – 22 °C).

Tableau 10 : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.
(Monod, 1989 ; 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

1.2. Le pH :

Le pH des écosystèmes aquatiques est utilisé comme paramètre substitut pour représenter les relations complexes entre la chimie de l'eau et les effets biologiques. (Jessrieset *al.*, 1998; Benlatrech et Benslimen, 2002)

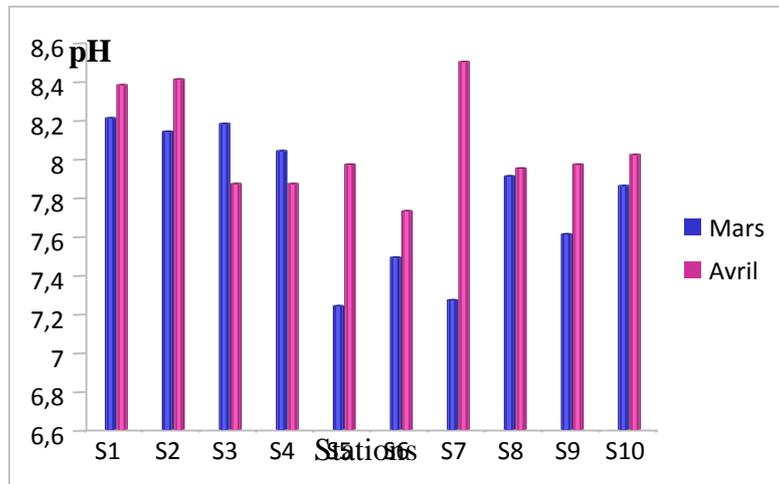


Figure 32: Variation du pH de l'eau de nos sites d'étude (Mars – Avril 2013).

Toutes les stations ont des valeurs qui oscillent dans l'intervalle de neutralité compris entre (7,24) à la station 5 (Chichaya) et (8,5) à la station 7 (Sidi Makhlouf).

Ces valeurs présentent une neutralité approchée qui favorisent le développement et la croissance des microorganismes; ce qui est le cas majoritaire des eaux de surface.

La grille d'appréciation de la qualité de l'eau (**Ministère algérien des ressources en eau, 2009**), nous a permis de déduire que la qualité de nos eaux est bonne (de 6.5 à 8.5).

1.3. La conductivité électrique :

La conductivité électrique permet d'avoir une idée sur la salinité de l'eau. Une conductivité élevée révèle soit des pH normaux, soit une salinité élevée. (**Rodier, 2005**)

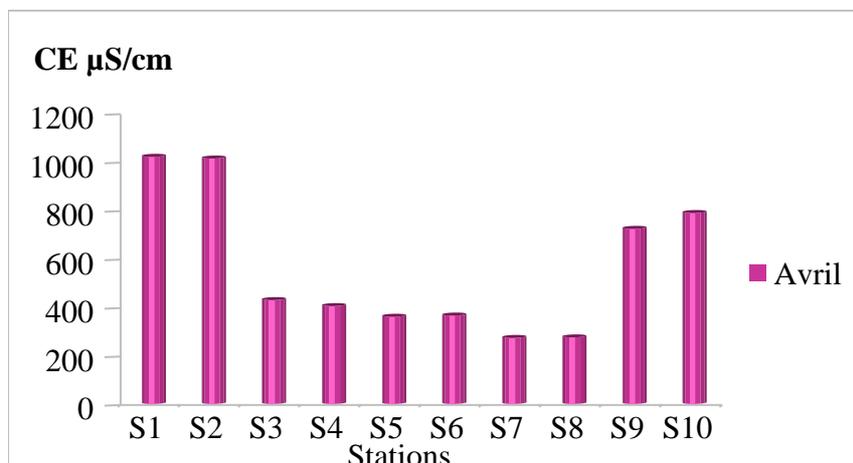


Figure 33: Variation de la conductivité électrique de l'eau de nos sites d'étude (Avril 2013).

Les mesures de la conductivité montrent des variations remarquables d'une station à une autre. La valeur la plus élevée (1020 $\mu\text{S/cm}$) a été enregistrée à la station 1 (B eni M'hamed), ceci est due à l'augmentation de la température qui entraîne l'évaporation de l'eau et donc l'augmentation de la salinité de l'eau, ainsi que ce site est alimentée par Oued El Kebir, selon (Abdellioui et *all.*, 2012) la conductivité de l'eau de cet oued est très élevée au niveau de ce point (1083 $\mu\text{S/cm}$) donc il y a un apport très élevée des éléments et des sels dissous.

Selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux en fonction de la conductivité (Monod, 1989) (Tab.11), la qualité des eaux est de passable à bonne.

Tableau 11 : La grille de la qualité des eaux des rivières selon la conductivité électrique (Monod, 1989)

Conductivité électrique CE _{20°C} ($\mu\text{S/cm}$)	Qualité des eaux	Classe
CE _{20°C} < 400	Bonne	1A
400 < CE _{20°C} < 750	Bonne	1B
750 < CE _{20°C} < 1500	passable	2
1500 < CE _{20°C} < 3000	médiocre	3

1.4. L'oxygène dissous :

L'oxygène constitue un excellent indicateur du fonctionnement du plan d'eau à différents titres : sur le plan physique comme indicateur de pollution ; et biologique comme vital aux organismes vivants. (Sayad, 2008)

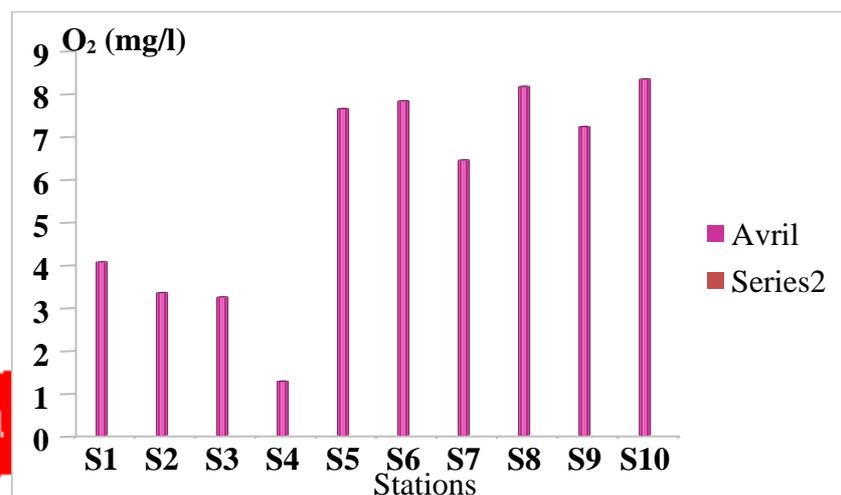


Figure 34: Variation de l'oxygène dissous de l'eau de nos sites d'étude (Avril 2013).

Selon les résultats enregistrés, la valeur minimale 1,26 mg/l (12,6%) a été enregistrée à la station 04 (Messaoussa), et de même la maximale 8,32 mg/l (83,2%) enregistrée à la station 10 (Hadj Taher).

Selon la grille d'appréciation de la qualité générale de l'eau (Masson, 1988), les divers prélèvements peuvent être qualifiés comme suit (Tab.12).

Tableau 12 : Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous. (Masson, 1988 ; Merzoug, 2009)

% de saturation en oxygène	91 à 110	71 à 90	51 à 70	31 à 50	<30
Qualité	Excellente	Bonne	Passable	Mauvaise	Très mauvaise
Station	/	S9, S8, S6,	S7	S1, S2, S3	S4

		S5, S10			
--	--	---------	--	--	--

Les facteurs pouvant mener à une réduction de l'oxygène dissous surtout dans la station 4 sont l'augmentation de la température de l'eau et la décomposition de grandes quantités de matière organique proviennent généralement par les rejets domestique, animal et même aussi les activités agricoles autour ce site.

2. Les analyses bactériologiques

Les résultats des analyses bactériologiques effectuées, présentent une grande diversité bactérienne de point de vue quantitative et qualitative.

2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux :

Au cours de notre travail, la recherche des germes totaux a été réalisée à une température de 37°C durant le mois de Mars uniquement (Fig.35).

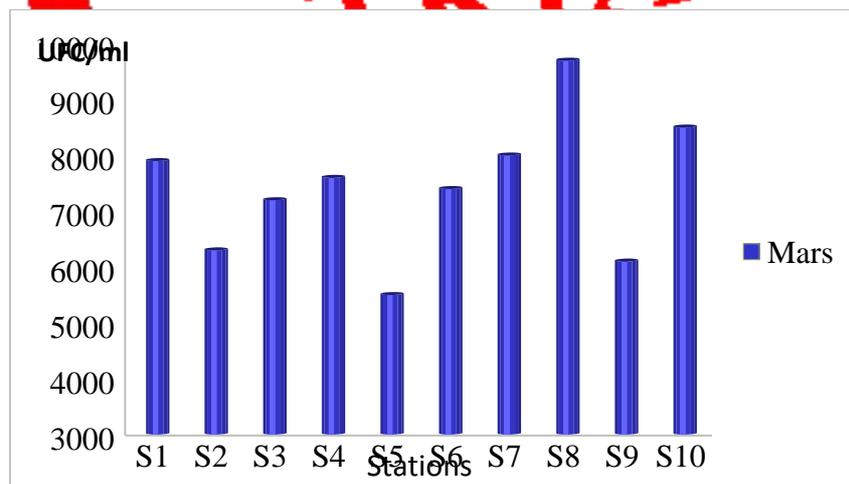


Figure 35: Estimation des Germes totaux à 37°C UFC/ml dans l'eau de nos sites d'étude (Mars 2013).

La recherche des germes totaux dits "revivifiables" permet de dénombrer les microorganismes (bactéries, moisissures..) se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle. 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. **(Centre collaborant de l'OMS, 2007)**

Selon le graphique ci-dessus on remarque la présence des germes totaux à 37°C dans toutes les stations pendant le mois de Mars avec des effectifs plus ou moins variables, où la valeur la plus élevée est notée au niveau de la station 8 (Sidi Makhlouf) avec $9,7 \cdot 10^2$ UFC/ml, ainsi que la plus faible est dénombrée à la station 5 (Chichaya) avec $5,5 \cdot 10^2$ UFC/ml.

2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

Ces germes sont dénommés indicateurs de pollution fécale et leur présence témoigne l'existence d'une contamination fécale au moment de prélèvement, leur mise en évidence dans l'eau n'est pas la preuve de la présence des germes pathogène, mais elle permet de la suspecter fortement. (4)

Coliformes totaux :

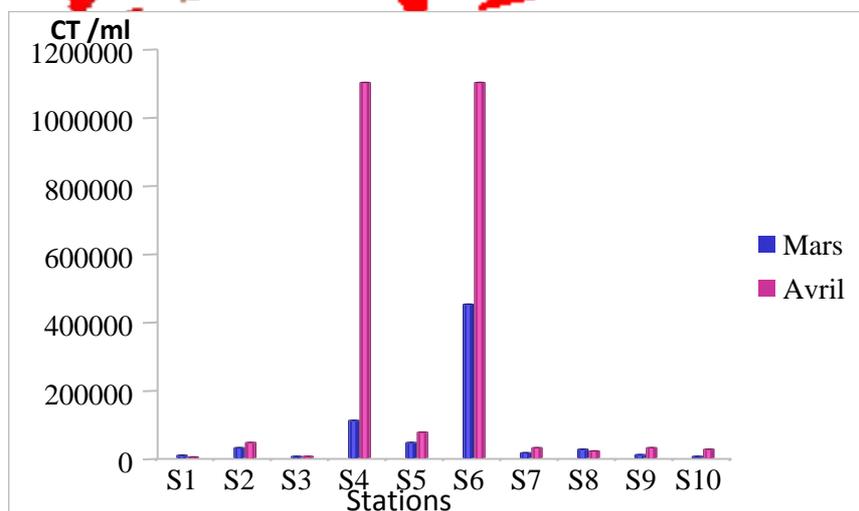


Figure 36: Estimation des coliformes totaux/ml dans l'eau de nos sites d'étude (Mars – Avril 2013).

Les coliformes totaux existent dans les matières fécales de l'homme et de l'animale mais peuvent également se développer dans certains milieux naturels (sol, végétation). Leur absence ne signifie pas nécessairement que l'eau ne présente pas de risque pathogène. (1)

D'après le graphique ci-dessus, on observe que le nombre des coliformes totaux atteint sa valeur maximale au niveau des stations 4 et 6 (Messaoussa et Chichaya) pendant les deux mois, on peut traduire ces résultats par la présence des déjections animal (des oiseaux d'eau, et des animaux domestique...etc.), des décharges domestiques et des déchets de certains habitats situé au voisinage de ces sites. En outre, ces derniers sont alimentés par les eaux de l'Oued El Kebir qui joue ainsi un rôle de vecteur de transmission des polluants et d'autre substance conduisant à la prolifération de ces germes.

Coliformes fécaux :

Les Coliforme fécaux sont des bactéries associées à la matière fécale de l'homme et des animaux à sang chaud. Un exemple commun de coliforme fécal est *E. coli*. Leur présence dans l'eau est une indication forte de contamination récente. (2)

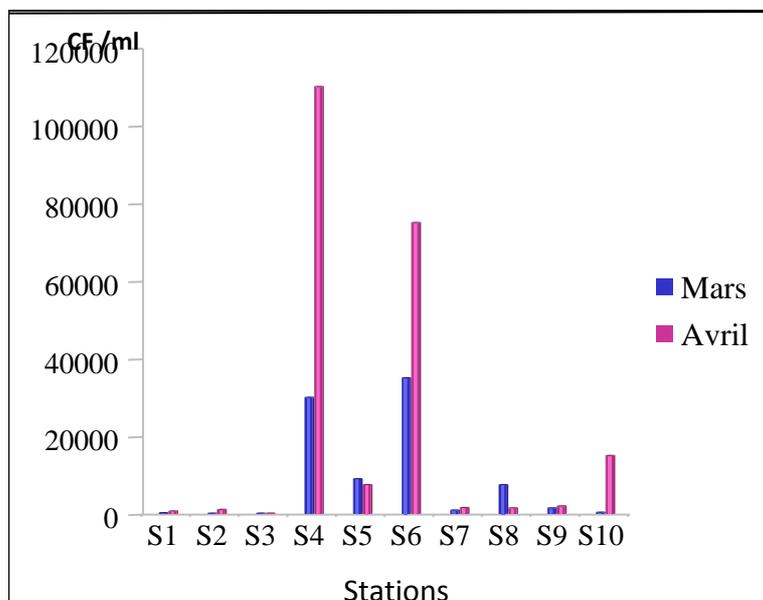


Figure 37: Estimation des coliformes fécaux/ml dans nos prélèvements (Mars – Avril 2013).

La Figure 37 illustre des observations communes entre les coliformes fécaux et totaux, où les valeurs les plus élevées sont notées au niveau des stations 4 et 6 (Messaoussa et Chichaya) durant les deux mois (Mars et Avril). Alors que les valeurs les plus faibles caractérisent le reste des stations durant la même période.

Ces valeurs obtenues sont supérieures à celles citées pour les eaux d'irrigation (1000 CF/ 1 ml).

Ces résultats sont expliqués par la présence d'une contamination provenant principalement des déchets fécaux ; plus probablement ; d'origine humaine (déchets domestique) et animal entre autre les oiseaux d'eau, ainsi que les effluents d'élevage.

2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

D'après les analyses effectuées, on a obtenus des résultats qui varient d'une station à une autre ainsi que d'un mois à un autre. (Fig.38).

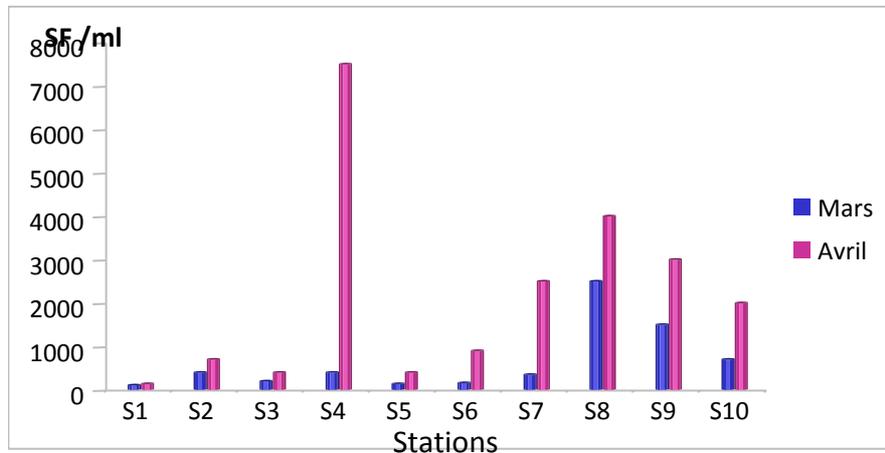


Figure 38: Estimation des Streptocoques fécaux/ml dans l'eau de nos sites d'étude (Mars – Avril 2013).

Les Streptocoques fécaux, sont toujours présents dans la matière fécale, en grande partie d'origine humaine. Leur nombre est variable ; généralement ; beaucoup plus faible par rapport aux autres germes dont leur présence dans l'eau indique une contamination fécale est directement lié à la quantité de matière fécale qui y-se trouve.

L'histogramme ci-dessus des streptocoques D montre des variations remarquables pendant le mois d'Avril par rapport à Mars avec une valeur maximale enregistrée à la station 4 (Messaoussa) $7,5 \cdot 10^3$ SF/ml.

Tandis que, les valeurs moyennes sont enregistrées dans les stations S7, S8, S9, S10 et qui varient entre $2 \cdot 10^3$ et $4 \cdot 10^3$ SF/ml.

Ces valeurs sont supérieures à celles citées pour les eaux d'irrigation (1000 SF/ 1ml). (Ouanouki et al., 2009).

En revanche, des valeurs moins de 1000 SF/ml ont été enregistrées dans les stations S1 ; S2 ; S3 ; S5 ; S6.

Plusieurs facteurs pouvant expliquer ces variations tel que: T° influençant le développement et la croissance de ces germes, ainsi que les déjections fécales des oiseaux d'eau qui fréquente ces sites.

2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-

reductrices (ASR) :

Le tableau 13 récapitule les résultats de dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR).

Tableau 13 : Dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR/20 ml).

point Période	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
Mars	4	12	> 20	8	-	-	> 20	12	-	3
Avril	4	-	-	> 20	20	> 20	4	12	> 20	-

La présence des ASR dans les eaux de surfaces est très probable où on trouve les formes sporulantes beaucoup plus résistante que les formes végétative. Leur présence indique une contamination ancienne d'origine fécale. Elles sont responsables des maladies graves telles que le botulisme et le tétanos ; c'est pour cette raison que la recherche de ces derniers est très essentielle dans le cadre de détermination qualitative d'eau. (Rejsek, 2002)

Dans le but d'identification de ces germes on a pris un tube positif (Fig.39) suivi par une coloration de Gram ; l'observation microscopique des colonies montre la présence des bacilles Gram (+) sous deux formes : végétative et sporulantes (Fig.39).

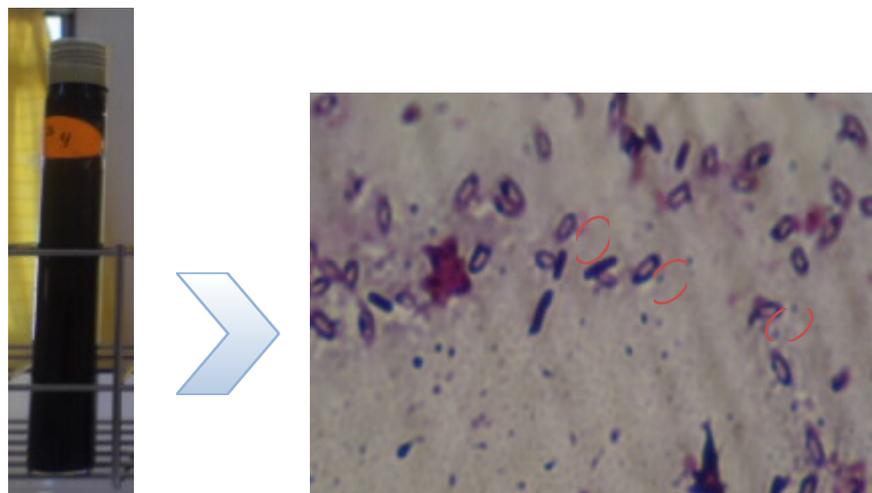


Figure 39 : Culture positive des ASR dans un tube de VF à gauche et aspect microscopique à droite montre des formes végétatives et sporulantes (entourées par un cercle rouge) des bactéries anaérobies sulfite-réductrice (Grossissement $\times 100$).

2.5. Résultats des germes pathogènes :

Les germes d'origine fécale peuvent être recherchés pour confirmer le danger mis en évidence par leur présence, ainsi que d'autres germes d'origine non fécale dont leur risque ne peut être mis en évidence que par la recherche des germes pathogènes tels que : *staphylococcus aureus*, *salmonella*, *shigella*, *vibrio*...etc.

Ces germes sont souvent présents en faible concentration dans l'eau et peuvent se développer en culture ; l'identification des colonies isolées est basée essentiellement sur l'observation macroscopique et microscopique des colonies ; l'identification biochimique par la galerie biochimique classique, les API systèmes et d'autres tests. Les résultats sont résumés sous forme de tableaux et des figures ci-dessous :

2.5.1. Caractère morphologique et coloration de Gram :

Tableau 14 : Aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées durant notre étude.

Milieux de culture	Observation macroscopique	Observation microscopique
Hektoen	<p>-Colonies très petites (moins de 1mm de diamètres), vertes, circulaires, bombées, lisses, translucides. (Fig.40)</p> <p>-Colonies grandes, vertes foncées, circulaire, bombées, lisse, opaques</p> <p>-Colonies petite de 1 mm de diamètre, vertes avec centre noir, lisses, bombées, opaques.</p> <p>-Colonies très petites (moins 1 mm), jaune saumon, de contours irréguliers, plate, opaque, lisse</p> <p>-Colonies petites, marrons, avec centre foncées, irrégulières, bombées, lisses, opaques. (Fig.40)</p>	<p>-Coccobacilles, Gram négatif, isolés.</p> <p>-Bacilles, Gram négatif, isolés, ou regroupés.</p>
Mac conkey	<p>-Colonies très petites (moins de 1mm de diamètres), incolores, rondes, bombées, bords régulières, lisses, translucides.</p> <p>-Colonies moyennes, grisâtres, rondes, plates, régulières, lisses, opaques.(Fig.40)</p>	<p>-Bacilles, Gram négatifs, isolées ou regroupées.</p>
SS	<p>-colonies petites, incolores, plates, transparentes,</p>	<p>-Bacilles, Gram négatifs, isolés.</p>

	<p>régulières, lisses.(Fig.41)</p> <p>-Colonies moyennes, marrons, bombées, rondes, irrégulières, lisses opaques.(Fig.41)</p> <p>-colonies petites, noirs, bombées, rondes lisses, opaques.</p>	<p>-Bacilles, Gram négatifs, regroupés en amas.</p>
GNAB	<p>-colonies très petites (moins de 1 mm de diamètres), incolores, bombées, lisses, translucides.</p> <p>-Colonies moyennes, blanchâtres, rondes, lisses, transparentes. (Fig.41)</p>	<p>- Bacilles droits, Gram négatif, isolés.</p> <p>-cocobacilles, Gram négatif, isolés.</p>
Chapman	<p>-Colonies petites, jaunes dorés, rondes, lisses à contours réguliers, opaques.</p> <p>-Colonies petites, blanches, ronde, bombées, réguliers, opaques</p> <p>-Colonie petites, jaunes, rondes, bombées, translucide.</p>	<p>-Cocci, Gram positif, isolés ou regroupés en diplocoques ou en tétrades.</p> <p>-Cocci, Gram positif, isolé ou regroupés en diplocoques et en amas non réguliers.</p>
Cétrimide	Résultats négatif /	

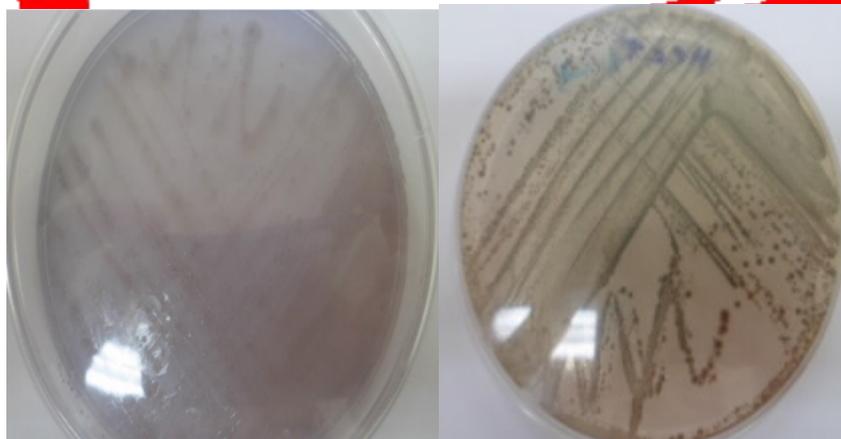


Figure.40 : Aspect des colonies sur gélose Mac conkey à gauche et Hectoën à droite.

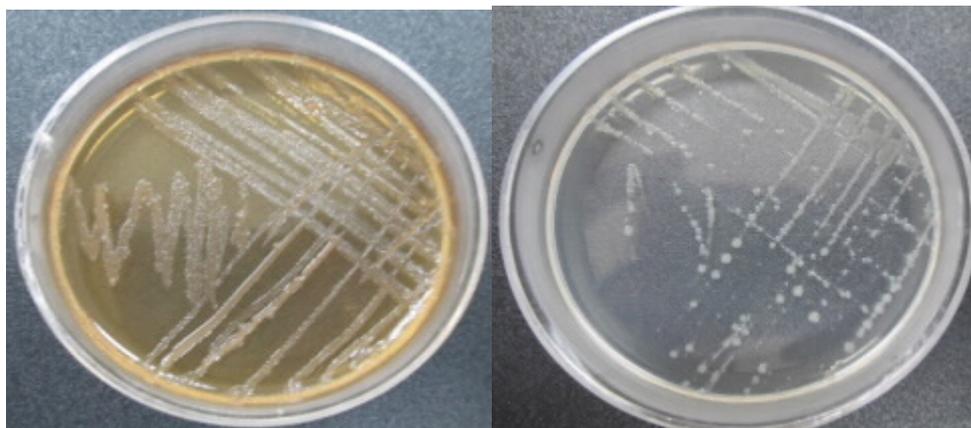


Figure.41 : Aspect des colonies sur gélose SS à gauche et GNAB à droite.

2.5.2. Résultats de l'identification biochimique :

Profil biochimique des *Staphylococcus* :

L'aspect macroscopique et microscopique (coloration de Gram) des colonies isolées sur milieu Chapman sont présentées dans les figures suivantes :



Figure 42: Aspect des colonies sur milieu Chapman (Station 6).

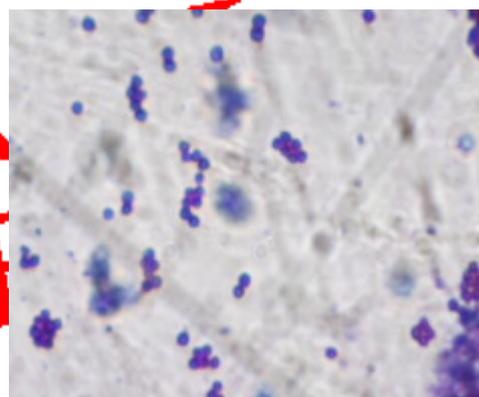


Figure 43: Cocci à Gram positif en Diploque (Grossissement $\times 100$).

Les résultats de différents tests effectués pour l'identification des *staphylococcus* sont résumés dans le tableaux suivant :

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

	Station 10	Station 9
Oxydase	-	-
Catalase	+	+
Mannitol	+	-
Staphylocoagulase	-	-
Espèces trouvées	<i>S.saprophyticus</i>	<i>S.epidermidis</i>

Identification par la galerie biochimique classique :

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

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

Milieux de culture	Espèces bactériennes identifiées
Milieu SS	<i>Citrobacter koseri</i>
	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
Mac conkey	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Pantoea ssp2</i>
	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
	<i>E.coli</i>
Hectoën	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Enterobacter amnigenus</i>
	<i>E.coli</i>
GNAB	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Aeromonas hydrophila gp 2</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
	<i>E.coli</i>



Figure 44: Résultats de quelques galeries biochimiques classiques.

Identification par les API systèmes :

Les espèces bactériennes identifiées par les API systèmes sont résumées dans les tableaux et les figure ci-dessous :

Tableau 17: Les espèces identifiées par l'API 20 E et l'API 20 NE.

API système	Milieux de culture	Espèces identifiées
API 20 E	SS	<i>Serratia odorifera</i> 2
	Hectoèn	<i>Vibrio alginolyticus</i>
	Hectoèn	<i>Aeromonas hydrophila</i>
API 20 NE	GNAB	<i>Vibrio vulnificus</i>



Figure 45 : Profil biochimique de la souche *Aeromonas hydrophila*.



Figure 46: Profil biochimique de la souche *Serratia odorifera2*.



Figure 47: Profil biochimique de la souche *Vibrio alginolyticus*.



Figure 48: Profil biochimique de la souche *Vibrio vulnificus*.

Tableau 18: Répartition des espèces bactériennes isolées pendant les deux prélèvements entre les stations.

Espèces bactériennes	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S10
<i>Pontoea ssp2</i>	×	×								
<i>Citrobacter koseri</i>		×			×			×		
<i>Enterobacter aerogenes</i>				×						×
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	×	×	×							
<i>Proteus mirabilis</i>				×		×	×		×	
<i>Klebsiella oxytoca</i>			×				×	×		
<i>Aeromonas hydrophila gr .2</i>								×		
<i>Enterobacter cloacae</i>										×
<i>E. coli</i>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
<i>Vibriov ulnificus</i>										
<i>Enterobacter amnigenus</i>										×
<i>Staphylococcus epidermidis</i>									×	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>										×
<i>Vibrio alginolyticus</i>							×			
<i>Serratia eodorifera 2</i>					×					
<i>Aeromonas hydrophila</i>									×	

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

Dans ce contexte ; notre étude a été portée sur les analyses bactériologiques ainsi que quelques paramètres physico-chimiques mesurés *in situ* des eaux de quelques zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja (Skikda, Nord Est algérien) (Garaet Hadj Taher, Garaet Beni M'hamed, Garaet Sidi Makhoul, Garaet Chichaya et Garaet Messaoussa) situé dans la plaine littorale algérienne d'une superficie de 42000 ha.

Au cours de notre étude réalisée durant les mois de Mars et Avril ; nos résultats ont montré une contamination d'origine fécale de ces eaux par la présence des germes indicateurs avec des valeurs proches de celle fixée par les normes algériennes des eaux de surfaces, ainsi qu'une grande variété de germes pathogènes (*Aeromonas*, *Serratia*, *Staphylococcus*...etc.).

L'origine de cette contamination fécale est due aux effluents urbains situés à proximité de certaines stations, le lessivage des terres agricoles, l'élevage intensif ainsi que la présence d'un nombre important d'oiseaux qui abritent ces écosystèmes.

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

Enfin, nous pouvons conclure que l'eau de ces zones humides est légèrement polluée.

En recommandation et pour maintenir l'équilibre de cet écosystème il faut veiller à réaliser un traitement préalable des rejets avant qu'ils atteignent ces zones et mettre en place un assainissement d'eau ménagère. Pour l'agriculture, il est conseillé de ne plus utiliser ces eaux en irrigation et limiter l'utilisation intensive des engrais chimiques synthétiques, aussi l'épuration des eaux domestiques avant leur évacuation dans les zones humides s'avère une nécessité urgente. Il est donc indispensable d'installer une station de traitement

biologique et physicochimique des eaux rejetées dans cet écosystème.

L'organisation des campagnes de sensibilisation pour les riverains sur la protection de l'environnement reste le meilleur moyen afin de conserver ces écosystèmes.

WORD TO PDF

[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



**TRIAL
VERSION**

Tableau 02 : Caractéristiques des points de prélèvements

Stations		Coordonnées géographiques	Distance	Profondeur
Beni M'hamed	1	X : 36°57'35.94 N Y : 7°17'07.65 E Z : 2 m	30 m	25 cm
	2	X : 36°57'35.17 N Y : 7° 16' 56'.95 E Z : 3 m	24 m	27 cm
Messaoussa	3	X : 36°56'20.09 N Y : 7°5'27.49 E Z : 3m	59 m	33 cm
	4	X : 36°56'35.23 N Y : 7°15'26.47 E Z : 4 m	12 m	42 cm
Chichaya	5	X : 36°53'48,34 N Y : 7°18'08,87 E Z : 10 m	1,5 m	110 cm
	6	X : 36°53'47,82 N Y : 7°18'12,18 E Z : 11 m	10 m	70 cm
Sidi Makhlof	7	X : 36°53'06,45 N Y : 7°18° 18,67 E Z : 14 m	3 m	105 cm
	8	X : 36° 53'03,88 N Y : 7°18' 20 ; 02 E Z : 14 m	7 m	87 cm
Hadj Taher	9	X : 36°51'46,23 N Y : 7°15'25,65 E Z : 13 m	8 m	69 cm
	10	X : 36°51'42,09 N Y : 7° 15'52,18 E	13 m	73 cm

	Z: 11 m		
--	---------	--	--

Tableau 02 : Caractéristiques des points de prélèvements

WORD TO PDF
[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



Tableau 03: Nature et période de prélèvement.

Site	Station	Périodes des prélèvements	Heures	Nature de prélèvements	Les analyses effectuées
Beni M'hamed	S1	09/03/2013	10h35	Eau	Bactériologique et Physico-chimique
	S2		10 h53		
Messaoussa	S3		11h25		
	S4		11 h41		
Chichaya	S5		12 h15		
	S6		12 h26		
Sidi Makhlouf	S7		12h48		
	S8		13h00		
Hadj Taher	S9		14h08		
	S10		14h35		
Beni M'hamed	S1	10h09			
	S2	10h24			

T b e u 0 : a u e t é i d d p é	Messaouss S3 a		11h00			a l a 3 N t r e p r o e r l
		S4	13/04/2013	11h15		
	Chichaya	S5		11h50		
		S6	11h57			
	Sidi Makhlouf	S7	12h18			
		S8	12h35			
	Hadj Taher	S9	13h58			
		S10	14h25			

èvement.



**TRIAL
VERSION**

WORD TO PDF
[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)

Tableau 04 : Tableau de Mac GRADY. (Mouffok, 2001)

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



**TRIAL
VERSION**

Tableau 05 : Les principaux caractères discriminants permettant le diagnostic d'espèce de *Staphylococcus* (Denis et al., 2007; Sayad, 2008 ;Grosjean et al., 2009)

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

Tableau 06 : Caractères d'identification biochimique de *Shigella*. (Sayad, 2008)

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

Tableau 9 : Lecture d'API 20 NE

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

WORD TO PDF

[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



**TRIAL
VERSION**

Tableau 08 : Lecture d'API 20 E

Tests	Composants	QTE (mg/cu p.)	Réactifs / Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- βDgalactopyranosi de	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl- βDGalactopyranosidase)	incolore	jaune
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
CIT	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu
H₂S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	TDA / immédiat	
				jaune	marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	JAMES / immédiat	
				incolore vert pâle / jaune	rose
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incolore / rose pâle	rose / rouge
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation oxydation(GLUcose)	bleu / bleu- vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol)	bleu / bleu- vert	jaune

INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol)	bleu / bleu- vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol)	bleu / bleu- vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmnose)	bleu / bleu- vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose)	bleu / bleu- vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose)	bleu / bleu- vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline)	bleu / bleu- vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose)	bleu / bleu- vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-Oxydase	(voir notice du test oxydase)	



**TRIAL
VERSION**

Milieux utilisés

[M1]- Eau peptonée exempte d'indole : pH = 7.2

Peptone exempte d'indole aquatique 10 g/l
Chlorure de sodium aquatique 5 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M2]- Bouillon lactosé au pourpre de Bromocrésol S/C (BCPL) : pH = 6.9

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

[M3]- Milieu de Rothe S/C : pH = 6.8

Tryptone 20 g/l
Glucose 5 g/l
Chlorure de sodium 5 g/l
Phosphate bi potassique 2.7 g/l
Phosphate mono potassique 2.7 g/l
Acide de sodium 0.2g/l
Eau distillée 1000 ml

[M4]- Milieu Schubert : pH = 7.4

Tryptophane 0.4 g/l
Acide glutamique 0.4 g/l
Sulfate de magnésium 1.4 g/l
Sulfate d'ammonium 0.4 g/l
Citrate de sodium 0.5 g/l
Chlorure de sodium 4.0 g/l
Peptone 20.0 g/l
Mannitol 1.5 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M5]- Milieu de litsky : pH = 6.8

Peptone 20 g/l
Glucose 5 g/l
Chlorure de sodium 5 g/l
Phosphate bi potassique 2.7 g/l
Azothvate de sodium 0.3 g/l
Ethyle- vliote 5 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M6]- Bouillon nitrate : pH = 7.2

Infusion cœur-cerveille 25.0 g/l
Nitrate de sodium 10.0 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M7]- Clark et Lubs (Bouillon) : pH = 7.5

Peptone 5.0 g/l
Glucose 5.0 g/l
Hydrogénophosphate de potassium 5.0 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M8]- Eau Peptonée Alcaline (EPA) : pH = 8.6

Peptone 20 g/l
Sodium chlorure 30 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M09]- Gélose tryptone- glucose- extract agar (TGEA): pH = 7

Tryptone 5 g/l
Glucose 1 g/l
Extrait de levure 2.5 g/l
Gélose 15 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M10]- Chapman: pH = 7.5

Peptone bactériologique 10 g/l
Extrait de viande de bœuf 1 g/l
Chlorure de sodium 75 g/l
Mannitol 10 g/l
Rouge de phénol 0.025 g/l
Agar 15 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M11]- Mac conkey: pH = 7.1

Peptone bactériologique 20 g/l
Sels biliaires 1.5 g/l
Chlorure de sodium 5 g/l
Lactose 10 g/l
Rouge neutre 0.03 g/l
Cristal violet 0.001 g/l
Agar 15 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M12]- Gélose viande foie (VF) : pH = 7.1

Peptone pepsique de viande et de foie 30 g/l
Glucose 2 g/l
Peptone de gélatine 16.0 g/l
Peptone de caséine 10.0 g/l
Bromure de tétradonium (cétrimide) 0.2 g/l
Acide nalidixique 15.0 mg/l
Sulfate de potassium 10.0 g/l
Chlorure de magnésium 1.4 g/l
Agar 10 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M13]- Milieu Hektoen : pH = 7.5

Peptone pepsique de viande 12 g/l
Extrait de levure 3 g/l
Sels biliaires 9 g/l
Lactose 12 g/l
Saccharose 12 g/l
Salicine 2 g/l
Chlorure de sodium 5 g/l
Hyposulfite de sodium 5 g/l
Citrate de fer ammoniacal 1.5 g/l
Bleu de bromothymol 0.0064 g/l
Fushine acide 0.04 g/l
Gélose 14 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M14]- Gélose *Salmonella-Shigella* (SS) : pH = 7

Extrait de viande de bœuf 5 g/l
Bio-polytone 5 g/l
Sels biliaires 8.5 g/l
Lactose 10 g/l
Citrate de sodium 8.5 g/l
Thiosulfate de sodium 8.5 g/l
Citrate ferrique 1 g/l
Vert brillant 0.330 mg/l
Rouge neutre 0.025 g/l
Agar 13.5 g/l
Eau distillée 1000 ml

[M15]- Gélose Cétrimide : pH = 7,1

Peptone de gélatine 16 g/l
Peptone de caséine 10 g/l
Bromure de tétradonium (cétrimide) 0.2 g/l
Acide nalidixique 15 mg/l
Sulfate de potassium 10 g/l
Chlorure de magnésium 1.4 g/l
Agar 10 g/l

Eau distillée 1000 ml

[M16]- Gélose GNAB : pH = 8.6

Peptone 10 g/l

Extrait de viande 3 g/l

Chlorure de sodium 5 g/l

Bile de bœuf 2 g/l

Agar 8.6 g/l

Eau distillée 1000 ml

[M17]- King A: pH = 7.2

Peptone dite "A" 200 g/l

Glycérol 10 g/l

Sulfate de potassium 10 g/l

Chlorure de magnésium 1.4 g/l

Agar 12 g/l

Eau distillée 1000 ml

[M18]- King B: pH = 7.2

Peptone dite "B" 20 g/l

Glycérol 10 g/l

Hydrogénophosphate de potassium 1.5 g/l

Sulfate de magnésium heptahydraté 1.5 g/l

Agar 12 g/l

Eau distillée 1000 ml

[M19]- Citrate de Simmons : pH = 7.1

Citrate de sodium 1 g/l

Bleu de bromothymol 0.08 g/l

Chlorure de sodium 5 g/l

Sulfate de magnésium 0.2 g/l

Hydrogénophosphate de potassium 1 g/l

Dihydrogénophosphate d'ammonium 1 g/l

Agar 15 g/l

Eau distillée 1000 ml

[M20]- TSI (gélose glucose – lactose – saccharose - H₂S): pH = 7

Peptone 15 g/l

Extrait de viande 3 g/l

Extrait de levure 3 g/l

Peptone pepsique de viande 5 g/l

Glucose 1 g/l

Lactose 10 g/l

Saccharose 10 g/l

Rouge de phénol 0.024 g/l
 Chlorure de sodium 5 g/l
 Sulfate de fer II (Pasteur) 0.2 g/l
 Thiosulfate de sodium 0.3 g/l
 Agar 11 g/l
 Eau distillée 1000 ml

[M21]- Milieu mannitol-mobilité : pH = 7.4

Peptone tryptique de viande 20 g/l
 Mannitol 2 g/l
 KNO₃ 1 g/l
 Rouge de phénol 1% 4 ml
 Agar 4 g/l
 Eau distillée 1000 ml

[M22]- Milieu SFB

Formule approximative par litre

Digestion pancréatique de caséine 5,0 g/l
 Lactose 4,0 g/l
 Sélénite de sodium 4,0 g/l
 Phosphate de sodium 10,0 g/l

[M23]- Milieu Urée-Indole : pH final : 6.7 +/- 0.2 à 25°C

En grammes par litre d'eau

L-Tryptophane 3,00g/l
 Phosphate monopotassique 1,00g/l
 Phosphate dipotassique 1,00g/l
 Chlorure de sodium 5,00g/l
 Urée 20,00g/l
 Rouge de Phénol à 1% 2,50 ml
 Alcool à 95% 10,00 ml

Réactifs utilisés

[R1]- Réactif de Vosges Proskauer (VP): Pour la recherche de l'acétoïne.

VP1:

Hydroxyde de potassium 40 g
Eau distillée 100 ml

VP2:

Alpha naphthol 6 g
Ethanol 100 ml

[R2]- Réactif de Kowacks : La mise en évidence de la production d'indole.

Paradiméthylaminobenzaldéhyde 5 g
Alcoolamylique 75 ml
HCl pur 25 ml

Les colorants utilisés**[C1]- Violet de gentiane**

Violet de gentiane 1 g/l
Ethanol à 90% 10 ml/l
Phénol 2 g/l
Eau distillée 1000 ml

[C2]- Lugol

Iode 1 g/l
Iodure de potassium 2 g/l
Eau distillée 1000 ml

[C3]- Fushine

Fushine basique 1 g/l
Alcool éthylique 100 ml/l
Phénol 5 g/l
Eau distillée 1000 ml



Liste des abréviations

Fig. : figure

ha :hectare

N :nord

E :est

DES :direction de l'environnement de Skikda

m : mètre

% : pourcent

T : : température

mm :millilitre

m/sec : mètre par seconde

C° :Degré Celsius

etc. :excitera

P : précipitation

DGF :direction générale du foret

h : Heure

cm : Centimètre

mg/l : milligramme par litre

pH : potentiel Hydrogène

H+:hydrogène

ml:millilitre

± : plus ou moins

UFC :unité formant colonie

NPP :nombre plus probable

E.coli :*Escherichia coli*

BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol

_ :résultat negative+ :résultat positif

S/C : simple concentration

Fe S :sulfate de fer

Fe₂⁺:Fer ferreux

Na₂SO₃ : Sulfite de sodium

WORD TO PDF

Http://word-to-pdf.abdio.com

**TRIAL
VERSION**



ASR:Anaérobies sulfito-réducteurs

Tab:tableau

SS:*Salmonella-Shigella*

BGN:Bacilles Gram négatifs

SFB:Bouillon Sélénite Cystéine

TSI: Triple SugarIron

ONPG: Ortho-Nitrophénol-B-D-Galactosidase

LDC: Lysine Décarboxylase

ODC:Ornithine Décarboxylase

ADH: Arginine DiHydrolase

TDA:Tryptophane Décarboxylase

VP: Viande Foie

RM:Rouge de Méthyle

µm :Micromètre **µl:** micro litre

EPA :Eau Peptonée Alcaline

n°:numéro

GNAB:gélose nutritive alcaline de billé

°:Degré

S.aureus:*Staphylococcus aureus*

NO₃⁻ : nitrate **NO₂⁻ :** nitrite

IND:Indole

NaCl:Chlorure de Sodium

Min:minimum

Max:maximum

Moy:moyenne

<:Supérieure

>:Inferieure

µs/cm:micro simens par centimètre

CE:collaboration Européenne

CE :conductivité électrique

OMS :organisation mondial de santé

CF/ml : coliforme fécaux par millilitre

SF/ml :streptocoque fécaux par millilitre

TGEA :Tryptone – Glucose – Extrait de levure – Agar

WORD TO PDF
[Http://word-to-pdf.abdio.com](http://word-to-pdf.abdio.com)



**TRIAL
VERSION**