الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Microbiologie - Ecologie
Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement/ Microbiologie de l'environnement.

Thème :

Contribution à l'étude de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux du barrage Ain Dalia à Souk Ahras (Nord-Est Algérien)

Présenté par : - Allouane Fouzia

- Limane Hadjer

Devant le jury composé de :

Président : Mr. HOUHAMDI Moussa (Pr. Université de Guelma)
Examinateur : Mr. ROUIBI Abdelhakim (M.A.A Université de Guelma)
Encadreur: Mr. ROUABHIA Kamel (M.A.B Université de Guelma)

Juin 2013

Remerciements

Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier le bon dieu qui nous donné le courage et la force pour mener à bien ce modeste travail.

Nous remercions les membres du jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leur temps à notre thèse :

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à M.HOUHAMDI Moussa, Professeur au département de Biologie à l'Université de Guelma 8 Mai 1945, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Qu'il trouve ici le témoignage de nos très hautes considérations.

Nous tenons à remercier aussi Mr. ROUIBI Abdelhakim, Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour avoir exprime son entière disponibilité à participer à ce jury.

Nous vifs remerciement vont à notre encadreur M. ROUABHIA Kamel, Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, qui a suivie de prés et de loin le déroulement et les étapes de travail.

Un grande merci à M. MERZOUG Seyf Eddine, attaché de recherche au Centre National en Recherche en Biotechnologie à Constantine (CRBt), pour ses conseils avisés et pour ses encouragements ainsi que pour son huneur.

Nous tenons à remercier aussi Mme. GRARA Nedjoud, Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour son accueil et son aide précieux.

Nous remerciement vont également à toutes les ingénieurs de laboratoire pour leurs gentillesses et leurs patiences, citons en particulier : Mme Houria, Mme Sana, MelleHouda.

Nous ne saurons finir sans remercier toute la promotion sortante (Microbiologie : santé, eau et environnement 2012/2013), et tous ceux qui de près ou de loin ont participé à l'élaboration directe et/ou indirecte de ce modeste travail.

Hadjer et Fouzia

Dédicace :

Je ne pourrais imaginer combien je suis fière de dédier mon mémoire :

Ā mes précieux et aimables parents Abdelmalek et Fatima qui ont été toujours présents et intentionnés a mon égard et m'ont encouragé et conseille d'aller plus loin.

Ā ma Grand-mère Djemaa qui m'aider dans tous les moments.

Par la suit à mes sœurs Meriem et Radia et à mes frères Seif eddine et le prince de la maison "Rami".

Ā mon petit ange "Toudja".

Et à mes amies :Hadjer, Hamida, Sabrine, khawla, Asma, Ibtissem, Warda, Amel, Meriem, Nabila.

Ā Sabrina et a tous les habitants du champ de manœuvre.

Ā "Monsieur Salah Salah Bachir" Allah yarhmo" enseignant de l'école de "Gherib el kablouti" qui était le meilleur exemplaire et qui je le dis merci à tous "Sidi

Ā tous les habitants de Boumahra Ahmed.

A touts les enseignants et les étudiants du département de biologie, en particulier la promotion de master II Santé, Eau et Environnement.

Fouzia

Dédicace :

Je dédie ce travail de fin d'études à ma famille au sens large et à tout mon entourage mais tout particulièrement

À

Ma mère et mon père, Nadia et Nour eddine, pour leur patience, conseils, aident et aussi de m'encourager à la réalisation de ce modeste travaille.

« Je vous remercie, mes parents »

Mes frères : Hamza(Kazou), Anouar (Ripou), Le grand joueur Yasser, et le prince de la maison " Zakarya".

ma grand-mère Fatma et toute la familles sans exceptions

Mes toutes les fleurs de mon coeur : tout particulièrement :

Mouna, Khawla, Naima, Sara, Fouzia, Nabila, Meryem, Amel, Warda, Asma et Zayneb… merci pour vos conseils et vos encouragements, mais aussi pour les bons moments qui ont contribué à rendre

Touts les enseignants et les étudiants du département de biologie, en particulier la promotion de master II Santé, Eau et Environnement.

Hadjer

Sommaire

Liste d'abréviation
Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I : Généralité

Description du site……. 01
1. Présentation de la wilaya de Souk Ahras……... 01
2. Présentation de la commune de Hanancha……. 01
3. Présentation du site d'étude « Barrage d´Ain El Dalia »…… 02
3.1. Coordination géographique……..…… 03
3.2. Situation administrative…….…….. 03
3.3. Géographie…….…….. 04
3.4. Hydrographie de la région d'étude…….…….…… 04
3.5. Etude climatique…….…..……. 04
3.5.1. Température……. 05
3.5.2. Précipitation (pluviométrie)……. 05
3.5.3. Les vents…….. 05
3.5.4. Synthèse climatique …… 06
3.6. Cadre biotique……..…….…… 07
3.6.1. Flore remarquable ……..……..…….. 07
3.6.2. Faune remarquable…….……...……. 07
3.7.. Exploitation de site…….. 08
3.7.1. L'alimentation en eau potable……. 08
3.7.2. Loisirs……. 08
II. Les maladies à transmissions hydriques…….…… 09
1. Définition des maladies hydriques…….……. 09
2. Les principales infections d'origine hydrique…… 09
2.1. Maladies d´origine bactérienne…….…… 09
2.1.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes……. 09
2.1.2. Gastroentérites aigues et diarrhées……. 10
2.2. Autres maladies hydriques…….…….. 12

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Echantillonnage…….…… 14
1.1. Matériel d'échantillonnage…….. 15
1.2. Mode de prélèvement…….…….. 15
1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons……..…….. 15

1.4. Transport et conservation de l'échantillon avant l'analyse………………………. 16
2. Choix des stations de prélèvement………………………………………………… 16
3. Mesure *in situ*……………………………………………………………… 17
3.1. La température…………………………………………………………… 17
3.2. Le pH………………………………………………………………………… 17
3.3. La conductivité électrique………………………………………………… 17
3.4. L'oxygène dissous………………………………………………………… 18
3.5. Le taux de solides dissous (TDS)………………………………………… 18
4. Les analyses bactériologiques……………………………………………………… 19
4.1. Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables……………….. 19
4.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et identification d'*E.coli*…. 22
4.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux……………………….. 25
4.4. Recherche et dénombrement des spores de bactéries sulfitoreductrices et *Clostridium* sulfitoreducteur…………………………………………………………… 27
4.5. Recherche des germes pathogènes……………………………………………. 29
4.5.1. Recherche des staphylocoques à coagulase positive…………………… 29
4.5.2. Recherche des *Pseudomonas aeroginosa*………………………………….. 32
4.5.3. Recherche des vibrio cholerique……………………………………….. 34
4.5.4. Recherche des *Salmonella*…………………………………………………… 37
4.5.5. Recherche des levures et moisissures……………………………………... 39
4.6. Etudes des caractères biochimiques……………………………………………. 39
4.6.1. Les enzymes respiratoires………………………………………………… 39
4.6.2. Galerie biochimique classiques…………………………………………… 41
4.6.3. Les tests complémentaires………………………………………………… 44
4.6.4. Etude des caractères biochimiques par la galerie API systèmes……………….. 46
4.6.5. Coloration de Gram……………………………………………………….. 50

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physicochimiques mesurés *in situ*………………………………... 51
1.1. La température…………………………………………………………… 51
1.2. Le pH………………………………………………………………………….. 52
1.3. L'oxygène dissous…………………………………………………………... 52
1.4. La conductivité électrique……………………………………………………….. 54
1.5. Le taux de solides dissous (TDS)…………………………………………………... 55
2. Résultats des analyses bactériologiques……………………………………………… 56
2.1. Recherches et dénombrement des germes totaux…………………………………… 56
2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale ……….. 57
2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux………. 57
2.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux……………………….… 59
2.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR)……………………………………………………………… 60
2.3. Identification des colonies bactériennes………………………………………….. 60
2.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram……………………………. 61

2.3.2. Résultats de l'identification biochimique……..…… 62

Conclusion
Résumé
Références bibliographiques
Annexes

Liste des abréviations

- : Caractère négatif
% : Pourcent
(-) : Majoritairement négatif
(+) : Majoritairement positif
+ : Caractère positif
± : Plus ou moins
º: Degré
ºC : Degré Celsius
µm : Micromètre
µs : Micro-Siemens
ADE : Algérienne Des Eaux
ASR :Anaérobies sulfitoréducteurs
BCPL: Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol
CE : Conductivité électrique
CF :Coliforme fécaux
CIT : Citrate
Cl_2 : Chlore
cm : Centimètre
Cond : conductivité
CSR : Clostridium sulfato-réducteur
CT :Coliforme totaux
d : Variable
D /C :Double concentration
E : Est
E.coli : *Escherichia coli*
EPA : Eau Peptonée Alcaline
Eva Litsky : Bouillon à l'éthyle violet et aide de sodium
Fig: Figure.
g : Gramme
g /l : Gramme par litre
GLU : Glucose
GT : Germes totaux
h : Heure
H_2O_2 : Eau oxygénée
H_2S :Hydrogènesulfuré
ha : Hectare
IND :Indole.
Kg :Kilogramme
Km :Kilomètre
Km^2 :Kilomètre cube

LDC : Lysine déshydrogénase.
m : Mètre
mg/l : Milligramme par litre
ml : Millilitre
mm : Millimètre
mn: Minute
m/s : Mètre par seconde
mg/l : Milligramme par litre
N : Nord
NaCl : Chlore de soduim
nm: Nanomètre
NPP : Nombre le plus probable
O_2 : Oxygène
ODC : Ornithine Décarboxylase
OMS : Organisation mondiale de santé
ONPG : Ortho-Nitrophényle-B-D-Galactosidase
P: précipitations moyennes annuelles
pH : Potentielle Hydrogène
Q_2 : Quotient pluviométrique d´Emberger
RM : Rouge de méthyle
RN : Route Nationale
Roth : Bouillon à l'azide de sodium
S : Station
S. aureus*: Staphylococcus aureus*
S /C : Simple Concentration
SF : Streptocoque Fécaux
SFB : Bouillon Sélénite Cystéine
sp : Espèce
SS : *Salmonella-Shigella*
T : Température
Tab : Tableau
TDA : Tryptophane décarboxylase
TDS : Taux de Solides Dissous
TGEA : Tryptone-Glucose-Extait de levure-Agar
TSI : Triple Sagar Iron
UFC : Unité formant colonie
URE : Urée
VF : Viande foie
VP : VogesProskawer
µl : Micro litre

Liste des figures

N° de figures	Titre des figures	N° de page
1	Situation géographique de la région de Souk Ahras .	1
2	Photos du barrage Ain Dalia.	2
3	Photos d'oued Medjerda.	3
4	Image satellite du barrage Ain el Dalia	3
5	Diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gaussen de la région de Souk Ahras.	6
6	Situation de la station météorologique de la wilaya de Souk Ahras dans le climagramme d'EMBERGER	7
7	Photos représentant l'exploitation de site dans la pêche.	8
8	Localisation des points de prélèvement	14
9	Présentation du point de prélèvement.	14
10	Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables	21
11	Protocole de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et *E.coli.*	24
12	Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	26
13	Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies.	28
14	Protocole de recherche des *staphylococcus.*	31
15	protocole de recherche de *Pseudomonas.*	33
16	Protocole de recherche et identification de *vibrio.*	36
17	Protocole de recherche et identification de *salmonella*	38
18	Galerie API 20E	46
19	Procédure de la coloration de Gram	50
20	Variations de la température de l'eau de barrage Ain Dalia	51
21	Variations spatio-temporelles du pH de l'eau de barrage Ain Dalia	52
22	Variations de teneur de l'oxygène dissout en mg/l de l'eau de barrage Ain Dalia.	53
23	Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de	54

	l’eau du barrage Ain Dalia.	
24	Variation spatio-temporelles de la TDS de l’eau du barrage Ain Dalia	55
25	Evaluationdu nombre des germes revivifiables à 22°C et à 37°C de l’eau de barrage Ain Dalia.	57
26	Estimation des coliformes totaux/ml dans l’eau de barrage Ain Dalia	58
27	Estimation des coliformes fécaux/ml dans l’eau Ain Dalia	58
28	Estimation des Streptocoques fécaux/ml dans l’eau de barrage Ain Dalia	59
29	Détermination des caractères morphologiques	62
30	Aspect des colonies sur gélose Chapman	63
31	Cocci à Gram positif regroupéeen grappe de raisin	63
32	Aspect des colonies sur gélose Chapman.	63
33	Cocci à Gram Positif regrouppée en amas.	63
34	Profil biochimique de la souche *Staphylococcus aureus.*	63
35	Profil biochimique de la souche *Staphylococcus xylosus.*	64
36	La recherche de l’enzyme staphylocoagulase	64
37	Aspect des colonies sur gélose cétrimide	65
38	Bacilles Gram négatif	65
39	Résultat de la recherche des pigments de la pyocyanine et pyoverdine dans les milieux King A et King B.	65
40	Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeroginosa.*	65
41	Résultats de quelques galeries biochimiques classique.	66
42	Profil biochimique de la souche *Proteus mirabilis.*	67
43	Profil biochimique de la souche *Enterobacter cloacae*.	67
44	Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeroginosa*.	67
45	Profil biochimique de la souche *Candida zeylanoides.*	67

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre du tableau	N° de page
1	Données climatiques annuelle de la wilaya de Souk Ahras	5
2	Autres maladies hydriques.	12
3	Présentation des sites et période de prélèvement.	16
4	Les principaux caractères discriminants permettant le diagnostic d´espèce de *Staphylococcus*	30
5	Caractéristiques d´identification des principales espèces de genre *Pseudomonas*	32
6	Principaux caractères d´orientation du diagnostic des *Vibrio* potentiellement pathogènes.	35
7	Les caractères de test de catalase.	40
8	Les caractères de test d'oxydase.	41
9	les caractères de la galerie biochimique	41
10	Les caractères de test Béta-galactosidase.	45
11	Les caractères de test TDA.	46
12	Variation de la température des deux stations de barrage Ain Dalia	51
13	Le pH de l'eau de barrage Ain Dalia.	52
14	La conductivité électrique de l'eau de barrage Ain Dalia (µs/cm).	54
15	Dénombrement des germes revivifiables à 22°C et à 37°C (UFC/ml)	56
16	Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).	60
17	Aspect macroscopique, microscopique et identification des colonies bactériennes isolées dans l´eau de barrage Ain Dalia	60
18	Les enzymes respiratoires.	62
19	Résultat de la galerie API 20 Staph	63
20	Résultats du profil biochimique des Staphylococcus isolés.	64
21	Résultats du profil biochimique des *Pseudomonas aeroginosa* isolés.	64

22	Résultats de la galerie biochimiques classique.	66
23	Résultat d´identification des germes par les API systèmes	66
24	Table de Mac Grady	Annexe
25	Tableau de lecture de l'APi20E	Annexe
26	Table de lecture pour l´API 20 NE	Annexe
27	Table de lecture pour l´API 20 C AUX	Annexe
28	Table de lecture pour l´API Staph	Annexe
29	Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.	Annexe
30	Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique	Annexe
31	Table d'orientation rapide de l'identification des *Entérobactéries.*	Annexe

Introduction

Introduction

L'eau est l'élément essentiel à la vie, il représente un pourcentage très important dans la constitution de tous les êtres vivants, la molécule d'eau est l'association d'un atome d'oxygène et de deux atomes d'hydrogène sous le symbole H_2O. L'eau en tant que liquide est considérée comme un solvant universel, il se congèle à 0 C°, il peut devenir vapeur à 100C° qui est sa température d'ébullition, mais ces principales caractéristiques sont qu'il est inodore, incolore et sans goût. [30]

Sans cette matière simple et complexe en même temps la vie sur terre n'aurait jamais existé donc c'est un élément noble qu'on doit protéger pour les générations futures, et pour cela la technologie moderne nous a permis la conception des stations de traitement des eaux de surface pour pallier aux problèmes de pollution qui menacent la potabilité de l'eau qui a été préservé pendant des siècles, le laboratoire d'analyses a un rôle très important dans le suivi d'une station de traitement car c'est lui qui doit confirmer la potabilité de l'eau après traitement et anticiper toutes les étapes nécessaires avant traitement à l'aide des analyses pour l'obtention des résultats demandés.[21]

Une eau destinée à la consommation humaine est potable lors qu'elle est exemptée d'éléments chimiques et/ou biologiques susceptibles, à plus ou moins long terme à la santedes individus. Par conséquent, et en fonction des caractéristiques de l'eau brute destinée à la production d'eau potable, la mise en place de traitements spécifiques s'avère le plus souvent nécessaire afin de répondre aux exigences réglementaires établies par les organismes de la santé publique. [28]

L'objectif de ce travail consiste à étudier et de déterminer la qualité bactériologique ainsi que quelques paramètres physicochimiques du barrage d'Ain Dalia. Ce manuscrit est divisé en trois chapitres.

- Le premier chapitre, une étude bibliographique présente une généralité sur la description du site d'étude et sur les principales infections d'origines hydriques ;
- Le deuxième chapitre, présente une étude expérimentale consacrée aux présentations du matériel et méthodologie suivie pour la réalisation des analyses bactériologiques et physicochimiques effectuées ;
- Le troisième chapitre, mentionne sous forme de tableaux et de graphes les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique, avec une discussion et une conclusion clôturant le mémoire.

Chapitre I

Généralité et description de site

I. Description du site

1. Présentation de la wilaya de Souk Ahras :

La wilaya de Souk Ahras ou la protégée des lions, anciennement THAGASTE, est issue du partage administratif de l'année 1984, est situé au Nord-est Algérien à des latitudes 36° 17′ 15″ Nord, les longitudes 7° 57′ 15″ Est.

Elle comprend 10 daïras regroupant 26 communes. Elle regroupe une population de 400.000 habitants et s'entend sur une superficie de 4360 $km^{2,}$ présente sur une altitude de 653 m^2.
Elle situé dans une cuvette, limité au nord par la wilaya de Taref, à l'est par la Tunisie, à l'ouest par Guelma et Oum El bouaghi, et au sud par Tebessa. **(Fig.01).** [37]

Figure 01: Situation géographique de la région de Souk Ahras. [38]

2. Présentation de la commune de Hanancha :

La commune de Hanancha a une latitude de 36° 13′ 00″ N et une longitude 7° 50′ 00″ E, elle située à environ 20 Km au sud-ouest de Souk ahras.
Elle regroupe une population de15 790 habitants (2008) s'entend sur une superficie de 206 km².

Cette commune est limitée au nord et l'Ouest par la wilaya de Guelma, à l'Est Souk Ahras, et au Sud par la commune de Tiffech. [39]

3. Présentation du site d'étude (Barrage Ain Dalia) :

Le barrage d'Ain Dalia est situé sur l'oued Medjerda, à une dizaine de kilomètre au sud de la ville de Souk Ahras. À environ 80 km en amont de la frontière avec la Tunisie,destiné à l'alimentation en eau potable de quelques villes des Wilayas de Souk-Ahras, Oum El Bouaghi, Tebessa et Guelma.

Permet de constitué sur l'oued Medjerda une retenue d'une capacité total de 82 millions de mètre cube, une superficie égale a 217 Km^2 et longue d'environ 10 km. [3]

Figure 02 : Photos du barrage Ain Dalia. [38]

La Medjerda est un oued dont la source est située en Algérie et dont le lit est principalement sur le territoire de la Tunisie. Il se caractérise par un écoulement permanent sur l'ensemble de son cours, ce qui lui donne le profil fleuve. Ce fleuve était appelé Bagrada dans l'Antiquité. [18]

Elle prend sa source près de Souk Ahras, dans le Constantinois algérien, puis coule vers l'est avant de se jeter dans la mer Méditerranée (golfe de Tunis). S'écoulant sur plus de 460 kilomètres dont 350 en Tunisie, c'est le seul et le plus long cours d'eau pérenne de Tunisie. **(Fig.03).** [40]

Figure 03 : Photos d'oued Medjerda. [40]

3.1. Coordination géographique :

Le barrage d'Ain el Dalia est situé au Nord- Est Algérien, à une latitude 36° 15' 65'' Nord et une longitude de 07° 51' 57'' Est. [41] **(Fig.04.)**

3.2. Situation administrative :

Sur le plan administratif, le barrage de Ain el Dalia depend de la wilaya de Souk Ahras. Il regroupe la commune de Henancha, Zaârouria, Ouilène, Lekhdara et Ouled Moumene**.** [41]

Figure 04 : Image satellite du barrage Ain el Dalia [45]

3.3. Géographie:

Géographiquement, elle est située dans une cuvette, entourée de montagnes boisées comme le Djebel Boussalah. Elle est aussi traversée par un des principaux oueds maghrébins, la Medjerda.

Le barrage d'Ain Dalia est formé d'une digue en terre avec un noyau central en argile. [15]

3.4. Hydrologie :

Les potentialités hydriques de la Wilaya de Souk-Ahras estimées à 265 Millions de m3/an, sont appréciables de par sa pluviométrie (Variant de 300 mm/an dans la zone Sud à 800 mm/an dans la zone Nord). Elles sont constituées de :

- Eaux de surface : 243 Millions de m^3, dont :

36,5 Millions m^3 mobilisés /an, soit 16%.

- Eaux souterraines: 22 Millions de m^3, dont:

10 Millions m^3 mobilisés/an, soit 45%.

Les eaux de surface sont constituées principalement de deux (02) grands Barrages d'une capacité globale de 239 Millions de m^3. [7]

- **Barrage d'Ain-Dalia** :

Plus de 33 millions de m^3 d'eau sont actuellement stockés dans le barrage d'Ain Dalia, à Souk Ahras, qui a reçu quelque 2 millions de m^3 lors des dernières précipitations, a-t-on appris du directeur-adjoint de cet ouvrage. **(ADE, Souk Ahras).**

- Barrage de Foum El Khenga.

D'autre part la Wilaya compte 03 Petits barrages :

- EL-Battoum.
- SIDI-Fredj.
- Tiffech. [14].

3.5. Etude climatique :

Le climat de Souk Ahras est influencé par des facteurs qui lui donnent des caractéristiques spécifiques. Distante de 80 km de la mer Méditerranée, la pénétration des courants marin et humide est aisée. De ce fait, la ville est caractérisée par un climat semi-humide. Souk-Ahras se distingue par un été chaud et un hiver froid et humide et la pluviométrie atteint une moyenne de 800 mm / an. **(Tab. 01.).** [14].

Tableau N°01 : Données climatiques annuelle de la wilaya de Souk Ahras (1997-2012).

[14].

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Jui	Aoû	Sep	Oct	Nov	Déc
Température minimale moyenne (°C)	3.9	3.9	5.6	6.7	10.6	13.9	16.7	17.8	15.6	11.7	7.8	5
Température maximale moyenne (°C)	13.9	15	17.8	20.6	25	30	35	35	30.6	25.6	20	15
Température moyenne (°C)	8.9	10	11.7	13.9	7. 8	21.7	25.6	26.7	22.8	18.9	13.9	10
Précipitations (mm)	111.76	81.28	101.6	71.12	45.72	22.86	2.54	10.16	45.72	104.14	109.22	137.16

3.5.1. Température :

À partir de ce donnés nous constatons que le mois d'août est le mois le plus chaud avec une température maximale de 26.7°C et que janvier est le mois le plus froid avec une température minimale de 8.9°C.

3.5.2. Précipitation (pluviométrie) :

D'après les données climatiques, le mois de décembre est le mois le plus pluvieux avec une précipitation moyenne de 137,16 mm, par contre le mois de juillet est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 2.54 mm.

3.5.3. Les vents :

Les vents les plus violents soufflent en hiver et les plus faibles en été, ceux qui prédominent sont de direction Nord-Ouest, à l'opposé des vents de Sud-Ouest qui ramènent le Sirocco pouvant souffler 20 jours par an, le maximum de journées étant enregistré en août, à raison de 2 à 3 jours. [38]

3.5.4. Synthèse climatique :

- **Diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gaussen :**

Le diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gaussen nous permet de mettre en évidence la période sèche de notre zone d'étude. Il est tracé avec deux axes d'ordonnées ou les valeurs de la pluviométrie sont portées à une échelle double de celle des températures. [6]
Nous observant une saison sèche qui s'étend sur cinq mois. **(Fig.05).**

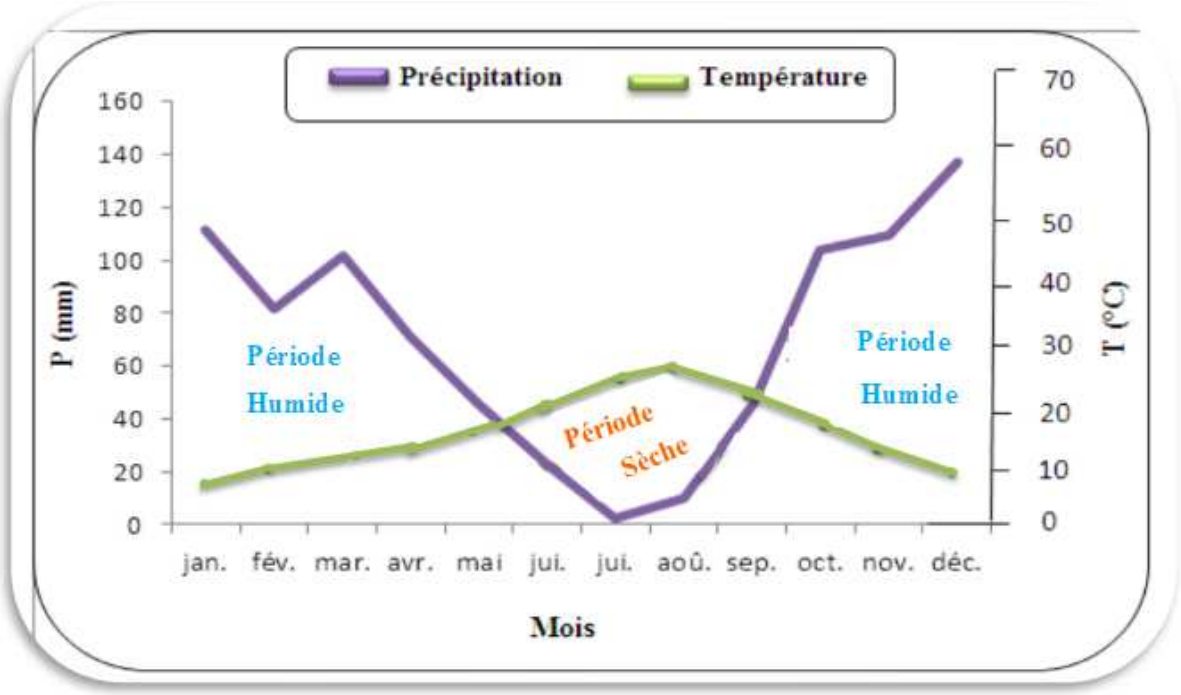


Figure 05 : Diagramme pluviothermique de la région de Souk Ahras.

- **L'indice pluviométrique d'Emberger :**

Cet indice nous aide à définir les 5 types de climat méditerranéen du plus aride jusqu'à celui de haute montagne**.** [16] il se base sur le régime de la précipitation et de la température et il s'exprime selon la formule suivante :

$$Q2 = \frac{1\,000.\,P}{\left(\frac{M+m}{2}\right)(M-m)}$$

- **Q_2**= quotient pluviométrique d'EMBERGR.
- **P** = Précipitation annuelle moyenne (mm).
- **M** = Températures des maxima du mois le plus chaud (°K)
- **m** = Températures des minima du mois le plus froid (°K)

La région de Souk Ahras, quant à lui, selon la classification d'Emberger, se situe dans l'étage bioclimatique de végétation sub-humide caractérisé par un hiver froid.

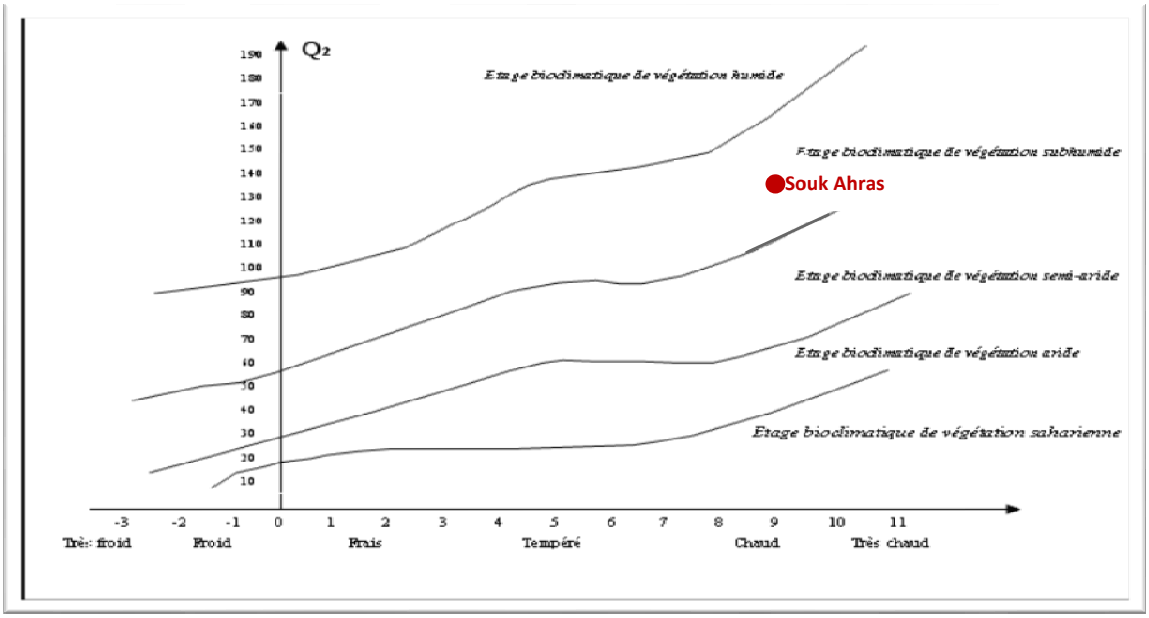


Figure 06 : Situation de la station météorologique de la wilaya de Souk Ahras dans le climagramme d'EMBERGER. [16]

3.6. Le cadre biotique :

3.6.1. Flore remarquables :

Des pins, des eucalyptus, des acacias et autres arbres ont été plantés sur une longueur de 12 km sur une largeur de 20 m pour prévenir les affaissements et préserver une biodiversité nécessaire à la région. [42]

2.6.2. Faune remarquable :

Ces eaux riches en ressources halieutistes (carpe argenté et anguille notamment), et des poissons locaux et autres importés ont été jetés dans les eaux du barrage dans un but écologique. [37]

3.7. Exploitation de site :

3.7.1. L'alimentation en eau potable :

Le barrage d'Ain Dalia d'une capacité globale de stockage de 76 millions m^3, alimente en eau potable plusieurs communes de la wilaya, avec une moyenne de 65.000 m^3/ jour, ajoute la même source. [41]

Pas moins de 4.000 m^3 sont destinés à l'approvisionnement de la commune de Sadrata, 1.000 m^3 pour El Machrouha et 300 m^3 pour la localité de Zouabi, ajoute-t-on.

L'ouvrage hydraulique qui a été réalisé en 2003, alimente également plusieurs communes des wilayas de d'Oum El Bouaghi et de Tébessa, 12.000 m^3 sont réservés pour les communes d'El Ouenza et d'El Aouinet (Tébessa), tandis que 11.000 m^3/ jour, sont destinés à l'alimentation des localités de d'Oum El Bouaghi, d'Ain Beida, Beriche et d'Ain Babouche dans la wilaya d'Oum El Bouaghi. [41]

3.7.2. Loisirs :

Le barrage est exploité aussi pour la pêche et le loisir, dans laquelle plus de 15,28 tonnes de carpe et de barbot ont été pêchées au barrage d'Ain Dalia en 2010. [42]

Figure 07 : Photos représentant l'exploitation de site dans la pêche. [44]

II. Les maladies à transmissions hydriques :

Bien que l´eau constitue un facteur important dans la santé humaine et animale, son insuffisance ou son absence détermine un manque hygiène favorable à la survenue de maladies et d'épidémies.

La dégradation de l'environnement est souvent responsable de l'apparition d'épidémies, de maladies à transmission hydrique ou alimentaire ; la typhoïde et les dysenteries et l' hépatite virale A constituent les maladies prédominantes (10.000 cas annuels de MTH en moyenne). [11]

La pleine image des maladies associées à l'eau est complexe pour un grand nombre de raisons. Sur la dernière décennie, l' image des problèmes de sante relatifs à l' eau est devenue de plus en plus vaste, avec l' émergence de nouvelles maladies d'infection relatives à l' eau et la réémergence de certaines déjà connues. [10]

Des données sont disponibles pour certaines maladies relatives à l' eau et l' hygiène (qui incluent la Salmonellose, le Choléra, la Shigellose), mais pour d´autre telles que la malaria, la Schistosomiase ou les infections les plus modernes telles que la légionellose ou les SARS des analyses doivent encore être effectuées. [18]

1. Définition des maladies hydrique :

Les maladies hydriques sont toutes les maladies causées par la consommation d´eau contaminée par des fèces animales ou humaines, qui contiennent des microorganismes pathogènes.

Les maladies hydriques se propagent par la contamination des systèmes de distribution d´eau potable par l' urine et les fèces des personnes ou animaux infectés. [25]

2. Les principales infections d´origine hydrique :

2.1. Maladies d´origine bactérienne

2.1.1 Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

Ce sont de véritables septicémies dues à des salmonelles : *Salmonella typhi* et *Salmonella paratyphi* A, B, et C. Elles sont caractérisées par de la fièvre, céphalées, diarrhée, douleurs abdominales, accompagnées d´un abattement extrême (le tuphos) et peuvent avoir des complications graves, parfois mortelles : hémorragies intestinales, collapsus cardiovasculaire, atteintes hépatiques, respiratoires, neurologiques.

La contamination se fait par voie digestive à partir d´eaux contaminées par des matières fécales, d´aliments avariés ou encore par des mains sales. [28]

La bactérie traverse sans la léser la barrière intestinale et se fixe dans les ganglions mésentériques. Après incubation elle se répond dans la circulation sanguine ce qui conduit à une septicémie. Elle libère lors de son élimination une endotoxine neurotrope qui lèse le système abdominal provoquant des ulcérations**.** [30]

La toxine peut être également responsable de troubles plus généraux par atteinte du système nerveux central. La bactérie est retrouvée dans les selles du malade dans 50% à 80% des cas. [29]

2.1.2. Gastroentérites aigues et diarrhées

- ***Escherichia coli***

C´est une bactérie saprophyte du tube digestif de l' homme et des animaux qu´elle envahit dès les premières heures de la vie. Elle se multiplie par milliards dans les matières fécales. Leur extrême abondance et leur résistance dans l' eau sont telles que ces bactéries ont été retenues comme germes-tests de contamination fécale des eaux.

Bien que fort nombreuses, ces bactéries ne sont guère pathogène : 5 à 6% des souches seulement chez l' enfant. Ce n´est que dans de très rares cas qu´elles passent dans le sang provoquant une septicémie ou des infections urinaires. [12]

- ***Campylobacter jejuni***

Bien qu´étant l' une des causes les plus courantes de gastroentérites, ce n´est que vers la fin des années 1970 que cette bactérie a été reconnue comme agent d´infection gastro-intestinale. Son taux d´infection dans la population est estimé à 1% et plus de 2000000 de cas par an sont comptabilisés aux Etats-Unis. Il en est de même au Royaume-Uni et dans d´autres nations développées. C´est une infection sporadique apparaissant en été, le plus souvent à la suite de manipulations de nourriture mal cuite, essentiellement de produits avaries.

L´impact de *Campylobacter* dans les pays en voie de développement est de plusieurs fois supérieur à celui observe dans les pays développés et donne lieu à l' apparition de porteurs sains. La plupart des infections surviennent pendant l' enfance et leur fréquence diminue avec l' âge. Le risque de contamination encouru par les touristes dans les pays à risque varie de 0 à 39%. [12]

- ***Yersinia enterocolitica***

De nombreuses espèces animales constituent le réservoir de cette bactérie : porc, lapins, mulots. Le lait, les coquillages, les crèmes glacées et les crudités (carottes râpées, salades, légumes) ont conduit à des milliers d´infections. En ce qui concerne l' eau, sa transmission est oro-fécale. Elle provoque une entérocolite souvent sanglante qui régresse au bout d´une semaine. Des complications abdominales peuvent néanmoins survenir laissant penser parfois à une crise d´appendicite. [12]

- ***Salmonella sp***

Il existe plusieurs centaines de salmonelles dont la classification a été modifiée de nombreuses fois et qui n´est toujours pas bien stabilisée. Leur transmission par voie hydrique est oro-fécale.

L´origine des salmonelles remonte à la nuit des temps. En effet, elles auraient divergé du genre *Citrobacter* après l' apparition des amphibiens et des reptiles, il y a 300 millions d´années. Puis la sous-espèce I se serait différenciée à l' émergence des animaux à sang chaud, il y a 200 millions d´années engendrant les fièvres typhoïdes.

Estimées à 841 espèces par Kaufman-White, c´est la sous espèce *enterica* qui est responsable des affections des animaux à sang chaud. Elles sont responsables de 8.6% des diarrhées infantiles hospitalisées dont 88% chez des enfants de 1 à 5 ans. Les sérotypes *Typhi*, *Paratyphi* A, B, C sont responsables des salmonelloses humaines les plus graves, parfois mortelles. D´autres sous-espèces d´origines animales peuvent être responsable de gastroentérites autolimitées avec fièvre de l´ordre de 2 jours et diarrhées n´excédant pas 7 jours.

De mêmes sous-espèces peuvent être saprophytes d´animaux à sang froid. [12]

- ***Shigella dysenteriae***

Les dysenteries bacillaires sont dues à des bactéries du genre *Shigella* et ne représentent que 0.7% des gastroentérites de patients hospitalisés, dont 80% sont des enfants de 1 à 15 ans. Elles caractérisées par un syndrome gastro-intestinal comportant des douleurs abdominales, des expulsions de selles non fécales nombreuses (de 4 à 20 par jours) sanguinolentes et glaireuses. Elles s´accompagnent d´un amaigrissement et de dégradation de l' état général.

Leur début est brutal avec élévation brutal de température accompagnée de douleurs abdominales et émission d´importantes selles aqueuses suivis, 1 à 2 jours plus tard, par des

volumes moindres de matières fécales contenant beaucoup de sang et de mucus. La shigellose se traduit par l' invasion et la destruction de la muqueuse superficielle avec ulcération.

L´espèce *Shigella dysenteriae* peut provoquer une forme particulièrement sévère de dysenterie dont la mortalité peut atteindre 20%. Les autres genres ne provoquent qu´une dysenterie passagère, rarement fatale, sauf pour les personnes âgées et les enfants dénutris.

L´examen des selles est indispensable pour faire la distinction entre dysenterie bacillaire et dysenterie à protozoaires.

L´affection cède à l' antibiothérapie ce qui permet d´éviter des complications comme arthrites ou phlébites ou encore l' apparition de formes hypertoxiques, de type choléra, à mortalité parfois élevée. [12]

- ***Aeromonas***

Bien que le genre *Aeromonas* soit peu cité pour ce qui concerne son association avec les gastroentérites, il n´en demeure pas moins qu´il serait responsable en troisième, voire seconde, position des gastroentérites des mois d´été aux Etats-Unis.

Dans sa forme légère la gastroentérite provoquée par les *Aeromonas* se présente comme une diarrhée aqueuse, très semblable à celle causée par de nombreux autres entéropathogènes et ce n´est que très rarement qu´elle présente un caractère choléri forme. [12]

2.2. Autres maladies hydriques

Tableau N°2. : Autres maladies hydriques. [12]

Type de maladie	**Maladie**	**Agent causal**
Virale	Poliomyélite Méningite Myocardite Hépatite infectieuse Gastro-entérite	Virus de la poliomyélite Virus de coxsackie A Virus de coxsackie Virus de l' hépatit A, E Rotavirus-Calcivirus-Virus de Norwalk-Astrovirus-Coronavirus-Coronavirus like.
Parasitaire	Amibiase Paludisme Gastro-entérite	Amibe Plasmodium *Giardia lambila-Giardia intestinalis*-Plasmodium
Fongique	Condidose	*Candida albicans*

Les maladies à transmission hydrique constituent un véritable problème de santé publique et il faut conjuguer les efforts entre les différents acteurs de la sante pour diminuer le taux de morbidité de cette maladie. [12]

Chapitre II

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

La composition chimique, organique, et microbiologique d´une eau joue un rôle important dans la détermination de sa qualité, donc la possibilité de son utilisation pour l´alimentation en eau potable ou d´autre usages (irrigation, industrie…etc.), ou même pour étudier la biocénose dans cette eau.

1. Echantillonnage

Un examen bactériologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporte au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes. [33]

Figure 08 : Localisation des points de prélèvement. [45]

Figure 09 : Présentation du point de prélèvement (Photo d'Allouane F., Limane H., 2013)

1.1. Matériel d'échantillonnage :

La verrerie destinée aux prélèvements d'eau doit être munis d'un nettoyage avec un détergent puis rinçage avec l'eau propre (eau douce), puis un rinçage final avec l'eau distillée. [27]

Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vise métallique [33] stérilisés soit à l'autoclave (120ºC) durant 15 minutes, soit au four Pasteur (170ºC) durant 1 heure. [34]

Le récipient utilisé doit assurer, une fois bouché, une protection totale contre toute contamination. [33]

Pour éviter les risques de contamination, les flacons choisis pour l'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement de l'eau et une fois l'opération est effectuée, ils doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse.

1.2. Méthode de prélèvement :

Nos prélèvements ont été effectués au niveau des eaux de barrage d'Ain El Dalia.

Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont plonges à une distance qui varie de 25 à 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels ou artificiels. [31]

Le prélèvement de nos échantillons à été effectué manuellement sur des points de prélèvement fixes en utilisant des flacons stériles de 250 ml.

Rinces au moment de l'emploi avec l'eau à examiner, les flacons sont ouverts sous l'eau, goulot dirigé à contre-courant, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. [31]

Les récipients ne seront jamais remplis complètement. Toujours laisser un espace d'air d'au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et le bouchon, ce qui facilite l'homogénéisation et un mélange correct de l'échantillon au moment de son analyse en laboratoire.

1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons :

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables. Dans ces derniers, on doit

noter avec précision : la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales. [27]

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

Les échantillons soigneusement étiquetés sont places dans une glacière contenant de la glace et transportes ensuite au laboratoire.

Si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10ºC, les prélèvements seront transportés dans des glaisières dont la température doit être comprise entre 4 à 6ºC. Même dans ces conditions, l'analyse bactériologique doit débuter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon. [34]

2. Choix des stations de prélèvement

Les sites ou seront prélevés les échantillons pour refléter la qualité de l´eau de la région où on les a prélevés, d'où on doit éviter de prélever dans des zones proches du bord. Dans ces zones on peut rencontrer des concentrations considérables de sable et de sédiments. Pour cette raison, les lieux de prélèvement d'échantillons sont généralement choisis aux endroits ou la profondeur de l'eau se situe entre 1 et 1,5m. [27]

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité bactériologique de l' eau de barrage d'Aïn Dalia nous avons choisi deux points de prélèvement.

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

Tableau N°3 : Présentation des sites et période de prélèvement.

Points de prélèvement	Période de prélèvement		Heure de prélèvement	Types des analyses effectuées
Site 1	P1	20/03/2013	12 :00	Mesure in situ Analyses bactériologique
	P2	15/04/2013	11 :45	
Site 2	P1	20/03/2013	13 :00	
	P2	15/04/2014	12 :30	

3. Mesures *in situ*

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place en plongeant directement le matériel dans l'eau.

Ces paramètres sont très variables aux conditions du milieu et ils permettent une estimation de la qualité générale de l'eau. En effet ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et sont susceptibles de changer dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur site.

La température, pH, conductivité électrique, l´oxygène dissous et le taux de solides dissous (TDS) ont été mesurés à l'aide de trois sondes d'un multiparamètres de terrain de marque WTW inoLab Multi 720. [35]

3.1.La température :

Il est important de connaître la température de l´eau avec une bonne précision, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz.

La température influence aussi directement la réaction de dissolution de l´oxygène dans l´eau, c´est-à-dire plus l´eau est froide plus la dissolution est importante.

La mesure de la température est effectuée sur le terrain à l´aide d´un multi paramètre de terrain. [34]

3.2.Potentiel hydrogène pH :

Le pH est en relation avec la concentration des ions d´hydrogène (H+) présent dans l´eau ou les solutions. Sa mesure état réalisée à l´aide d´un pH-mètre. [2]

3.3.La conductivité électrique :

Toute eau est plus ou moins conductrice du courant électrique, elle est due à la présence dans le milieu d´ions qui sont mobiles dans un champ électrique.

Elle dépend de la nature de ces ions et de leur concentration. La conductivité électrique d´une eau augmente avec la température, car la mobilité des ions augmente avec elle.

La mesure est basée sur le principe de pont de Wheatstone en utilisant comme appareil un conductimètre à électrodes [22]

3.4.L´oxygène dissous :

L´oxygène dissous est essentiel à tous les organismes aquatiques. Ceux-ci, de leur côté, peuvent influer sur les taux d´oxygène dans l´eau. Les plantes aquatiques et les algues produisent de l´oxygène par la photosynthèse. Et les résultats sont exprimés en O_2/L (0.00 à 50mg/L) et en pourcentage de saturation O_2 pour cent (0.00 à 500).

L´opération consiste à mesurer l´oxygène dissous par l´oxymétrie comme appareil spécifique. [19]

3.5. Le taux des sels dissous(TDS) :

La quantité des solides dissous influence la conductivité, la mesure qui permet de déterminer la quantité totale des solides dissous dans l'eau est le TDS. [20]

4. Les analyses bactériologiques :

Le choix des méthodes d'examen bactériologique des eaux dépendra de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitées. [34]

La population microbienne qui se trouve dans l'eau peut avoir plusieurs origines ; soit elle est purement aquatique, terrestre (vient du sol, des végétaux au voisinage du cours d'eau…), ou bien d'origine humaine ou animale (contamination fécale).

- **Matériel de laboratoire :**

Au laboratoire, on a utilisé le matériel classique d'un laboratoire de microbiologie :

Appareil de stérilisation (four Pasteur, autoclave), des appareils d'incubation (des étuves a 37ºC, à 22ºC et a 44ºC), réfrigérateur, bec Bunsen.

Les géloses employées sont : Mac Conkey, Chapman, Hektoen, *Salmonella-Shigella*, Cetrimide, Viande foie(VF), Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar (TGEA), Sabouraud. Les milieux d'enrichissement utilisé sont : (SFB), eau peptonée alcaline(EPA). Pour le dénombrement des germes de contamination fécale on a utilisé les milieux liquides de dénombrement (BCPL, Rothe) et les milieux liquides de confirmation (bouillon Litsky, bouillon Schubert et/ou eau peptonée exempte d'indole).

Pour l'observation microscopique on a utilisée : un microscope optique, violet de gentiane, fuschine, lugol, alcool, huile de cèdre, lame et lamelle, ruban adhésif.
L'identification a été basée sur la galerie biochimique classique ou les API systèmes biomérieux. Ainsi, on a utilisé le matériel usuel de paillasse tel que les additifs, eau distillée, pipette pasteur, anse de platine, boite de pétrie, etc. [4]

La composition des milieux et des réactifs utilisés dans notre travail est détaillée dans **(Annexe 1).**

4.1.Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables :

Les germes totaux dit revivifiables sont la totalité des bactéries, levures et moisissures aéro-anaérobies, capables de former des colonies dans ou sur un milieu de culture.

- **Principe :**

-Dans des boites de pétri vides, stérile et numérotées, on met 1ml d□échantillon non dilué et de diverses dilutions de cet échantillon. (Soit : 10^{-1},10^{-2} ,10^{-3})

-Complete ensuite avec environ 19 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à 45ºC.

-Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de «8»pour permettre à l' inoculum de se mélanger à la gélose.

-Laisser solidifier sur paillasse environ 15mn.

-Effectuer cette opération en double série de boites, dont la 1ère sera incubée à l' obscurité, couvercle en bas, dans une étuve à 22ºC pendant 72 heures.

Et la 2ème dans une étuve à 37ºC durant 48 heures. [34]

- **Lecture et dénombrement :**

-Retenir pour comptage les boites contenant des colonies qui apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes. Retenir aussi les boites contenant entre 30 et 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives.

-Calculer ensuite la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à 22ºC à part et celle du nombre N de microorganismes revivifiables à 37ºC à part, en tant que moyenne pondérée, à l' aide de l' équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma \mathbf{c}}{\mathbf{1.1 \times d}}$$

Où :

c : est la somme des colonies dénombrées sur deux boites 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. [24]

-Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 22ºC et à 37ºC 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.

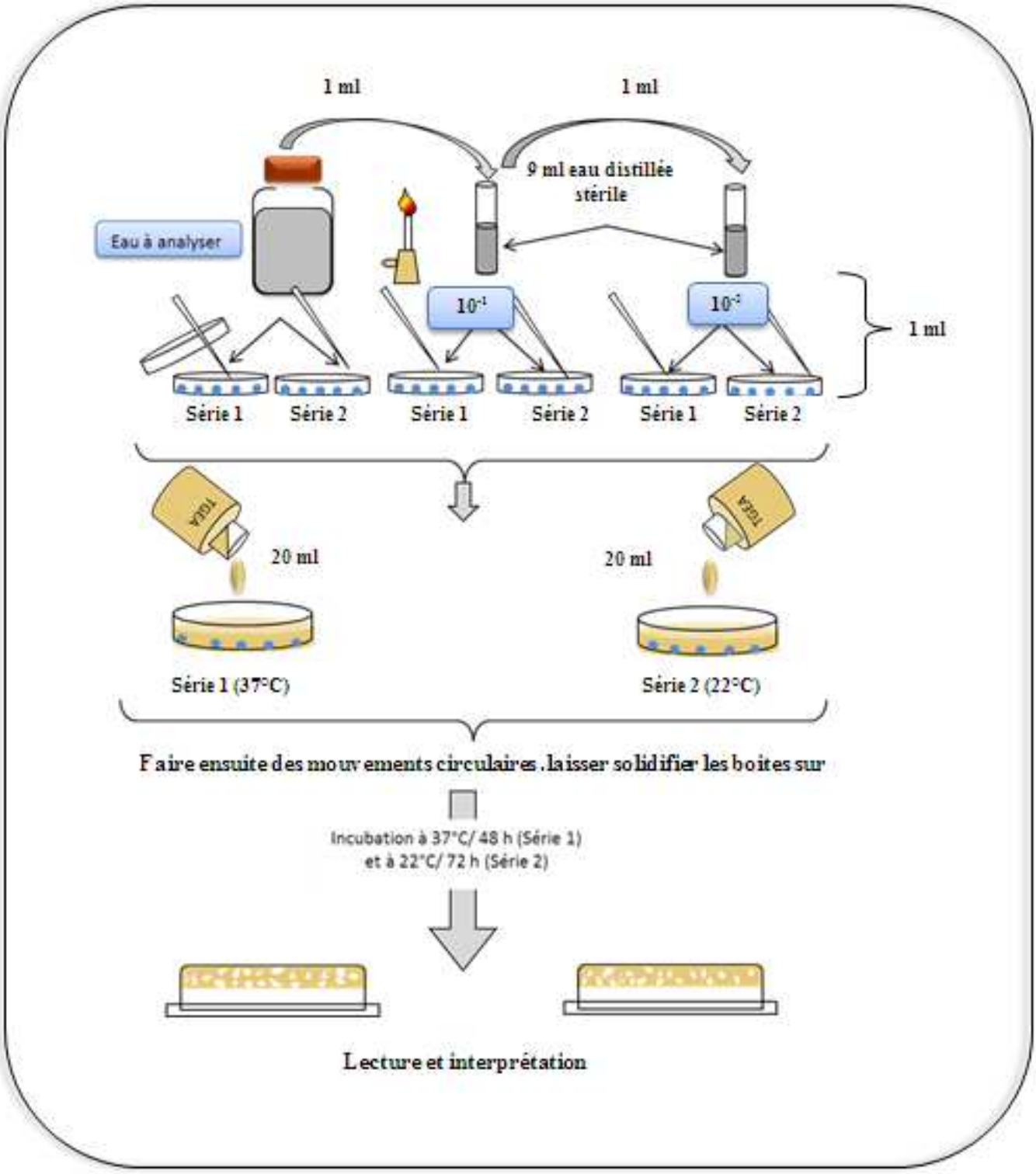


Figure 10 : Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables

4.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et identification d´*E coli*.

La recherche et dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo-tolérants et des *Escherichia coli* dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- Le test présomptif : réservé à la recherche des coliformes dans le milieu BCPL (Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol)
- Le test confirmatif : réservé à la recherche des coliformes thermo-tolérants et *d´Escherichia coli* dans le milieu Schubert. [2]

  - **Test présomptif :**

On travaille avec une série de 3 tubes :

-3 tubes de BCPL D/C+ cloche de Durham, ensemencé avec 10 ml de l' échantillon.

-3 tubes de BCPL S/C+ cloche de Durham, ensemencé avec 1 ml de l' échantillon.

-3 tubes de BCPL S/C+ cloche de Durham, ensemencé avec 0.1 ml de l' échantillon.

-Les tubes inoculés sont homogénéisés par agitation douce pour ne pas faire pénétrer d´air dans la cloche.

-La lecture se fait après 48 heures d´incubation dans une étuve à 37ºC.

-On considère comme positifs tous les tubes présentant à la fois une couleur jaune et de dégagements gazeux dans la cloche.

-On note le nombre de tube positifs dans chaque série et on reporte à la table du NPP pour avoir le nombre de coliformes totaux dans 100 ml d´échantillon d´eau. [4]

  - **Test confirmatif :**

-Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes feront l´objet d´un repiquage à l´aide d´une pipette pasteur (4 à 5 goutes) dans des tubes contenant le milieu Schubert muni d´une cloche de Durham, L´incubation se fait cette fois à 44ºC pendant 24 heures.

-Les tubes ayant apparaître un anneau rouge en surface, témoin de la production d´indole par *Escherichia coli* après l´ajout de 2 à 3 gouttes du réactif de Kowacs, avec production de gaz, sont considérés positifs.

-On détermine le nombre des coliformes fécaux thermo-tolérants à partir de tables de NPP par UFC/100ml. [1]

-**Remarque :** Etant donné que les Coliformes fécaux font partie des Coliformes totaux, il est pratiquement impossible de trouver plus de Coliformes fécaux que de Coliformes totaux. [5]

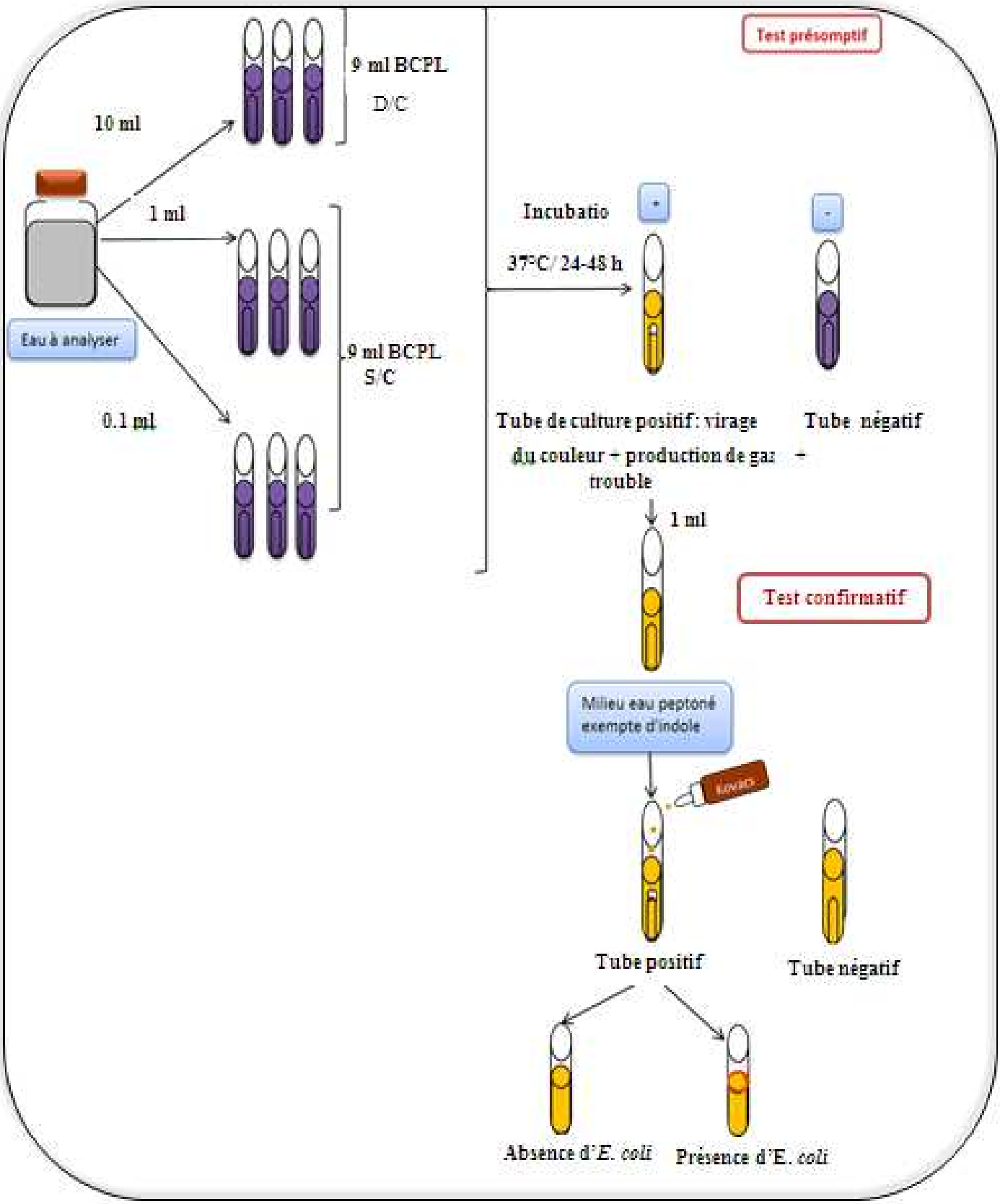


Figure 11 : Protocole de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et *E.coli.*

4.3.Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

- **Lecture :**

Les techniques d'analyses sont comparables à celles décrites pour les coliformes fécaux (série de 3).

Dans ce cas il est prescrit de faire successivement un test présomptif en milieu de Rothe et un test confirmatif en milieu Eva Litsky. L'incubation dans les deux tests se fait en 37°C, pendant 24 à 48 h. [34]

-Test présomptif :

Les tubes présentant un trouble microbien pendant cette période sont présumés contenir les streptocoques fécaux et sont soumis au test confirmatif. [9]

-Test confirmatif :

L´apparition d´un trouble microbien confirme la présence d´un streptocoque fécal. Parfois, la culture s´agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble. [34]

-Expression des résultats :

Les résultats de dénombrement des streptocoques fécaux sont exprimés comme ceux coliformes en nombre de germes par 100 ml. [34]

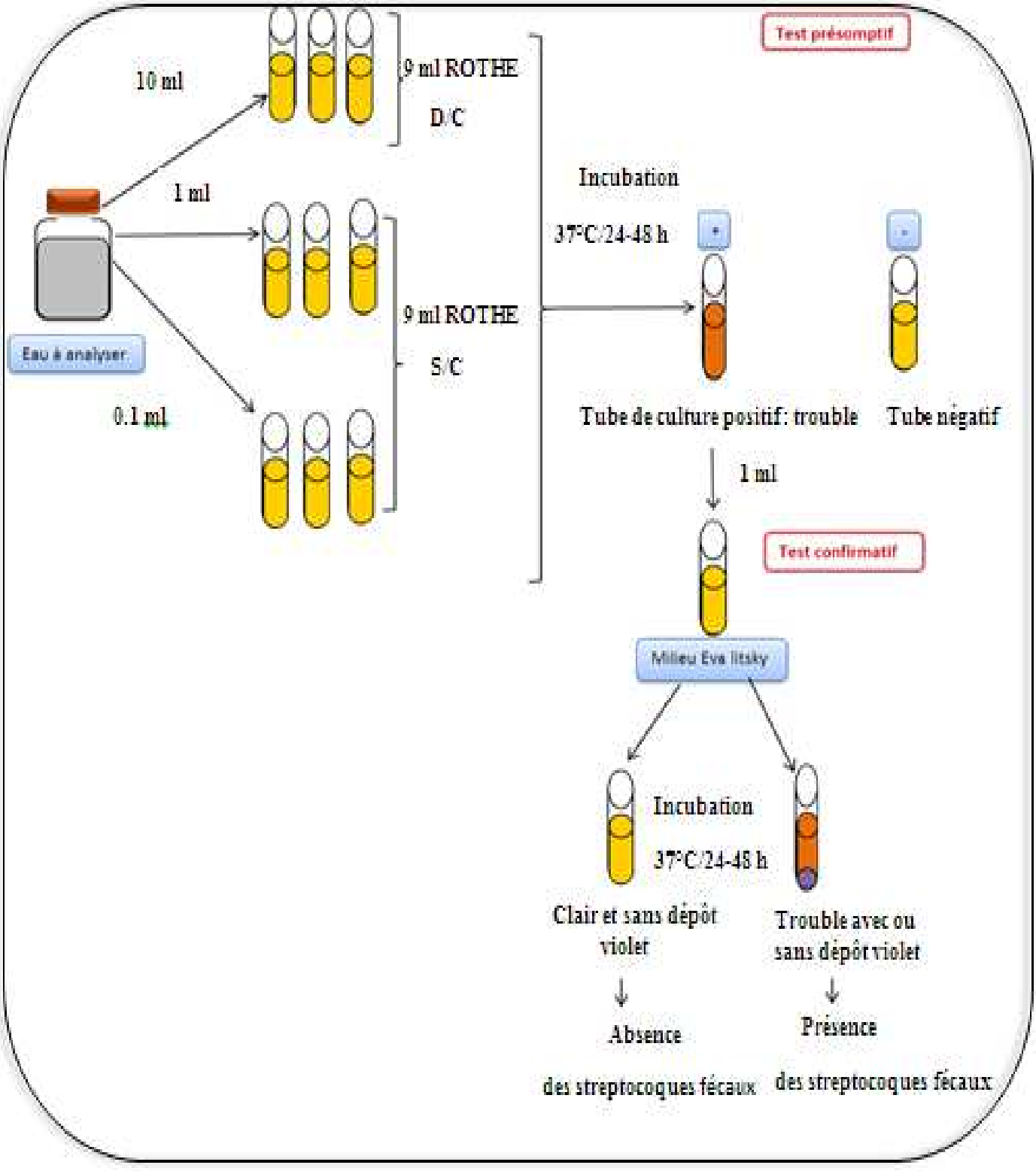


Figure 12 : Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

4.4. Recherche et dénombrement des spores de bactéries sulfito-reductrices et *Clostridium* sulfito-réducteur :

Les anaérobies sulfito-réducteur (ASR) se développant en 24 à 48 heures sur une géloses Viande Foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ($Na2SO_3$) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. [35]

- **Mode opératoire :**

-Prendre environ 25 ml à partir de l´eau à analyser, dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l´ordre de 80ºC pendant 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.

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

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

-Ajouter environ 20 ml de gélose Viande Foie, fondue, additionnée d´une ampoule d´Alun de fer et d´une ampoule de Sulfite de sodium, puis refroidie à 45 ± 1ºC.

-L´incorporation se fait dans un tube et non dans une boite afin de limiter la surface de contact entre le milieu et l´air.

-Mélanger doucement le milieu et l´inoculum en évitant la formation des bulles d´air et en évitant l´introduction d´oxygène.

-Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37ºC, pendant 24 à 48 heures. [24]

- **Lecture :**

Considérer comme résultat d´une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d´un halo noir. [34]

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures. Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d´eau à analyser**.** [24]

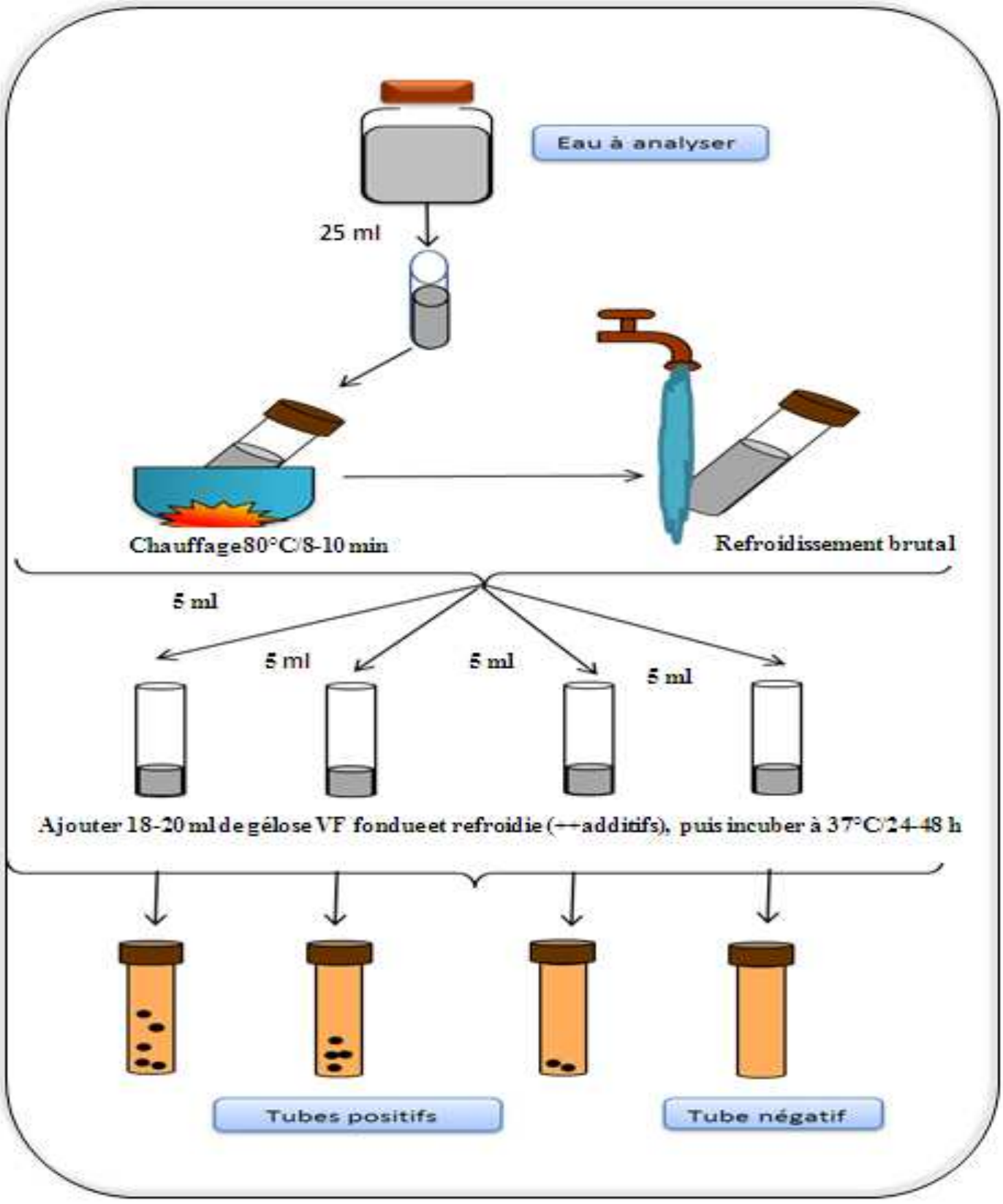


Figure 13 : Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies.

4.5. Recherche des germes pathogènes :

4.5.1. Recherche des *Staphylocoques* à coagulase+

Les *Staphylocoques* sont des cocci à Gram positif, très répandus dans la nature (air, eau, sol) et vivent souvent à l´état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux. Le genre *Staphylococcus* est constitué de plusieurs espèces dont :

-*Staphylococcus aureus.*

-*Staphylococcus epidermidis.*

-*Staphylococcus saprophyticus*. [1]

Les espèces de genre Staphylococcus peuvent être classées en fonction de leur capacité à coaguler le plasma de lapin. [17]

Pour les polymicrobiens, on a recours à des milieux sélectifs tels que le milieu de Chapman qui est un milieu gélosé hyper salé (7,5 % de NaCl) et contient du mannitol. L´incubation se fait à 37ºC pendant 24 à 48 heures. [13]

Identification :

Les colonies sont alors entourées d´un halo jaune puisqu´elles fermentent le mannitol tout comme parfois *S. saprophyticus, S. epidermidis* et *S. cohnii*. [13]

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont de taille importante et élaborent leurs propre pigment ; elles apparaissent e jaune, surmontant une zone jaune par la suite de la fermentation du mannitol. [34]

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

-Etat frais et coloration de Gram ;

-Test à la catalase ;

-Mannitol ;

-Recherche de la coagulase libre.

✓ **Test de coagulase :**

Ce test a pour but de mettre en évidence la pathogénicité d'un staphylocoque. Elle se détecte (par le test en tube) par sa capacité à coaguler (c'est-à-dire former un caillot) du plasma contenant un anticoagulant comme le citrate, l'oxalate ou l'héparine. L'anticoagulant est nécessaire parce que, sans lui, le plasma coagulerait spontanément. [34]

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**.** [24]

Tableau N°4 : Les principaux caractères discriminants permettant le diagnostic d´espèce de Staphylococcus [35].

	S. aureus	***S. intermedius***	***S. saprophyticus***	**S. epidermidis**
Catalase	+	+	+	+
Coagulose	+	+	-	-
Mannitol	+	-	+	-
Résistance à la Novobiocine (5µg)	S	S	R	S

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

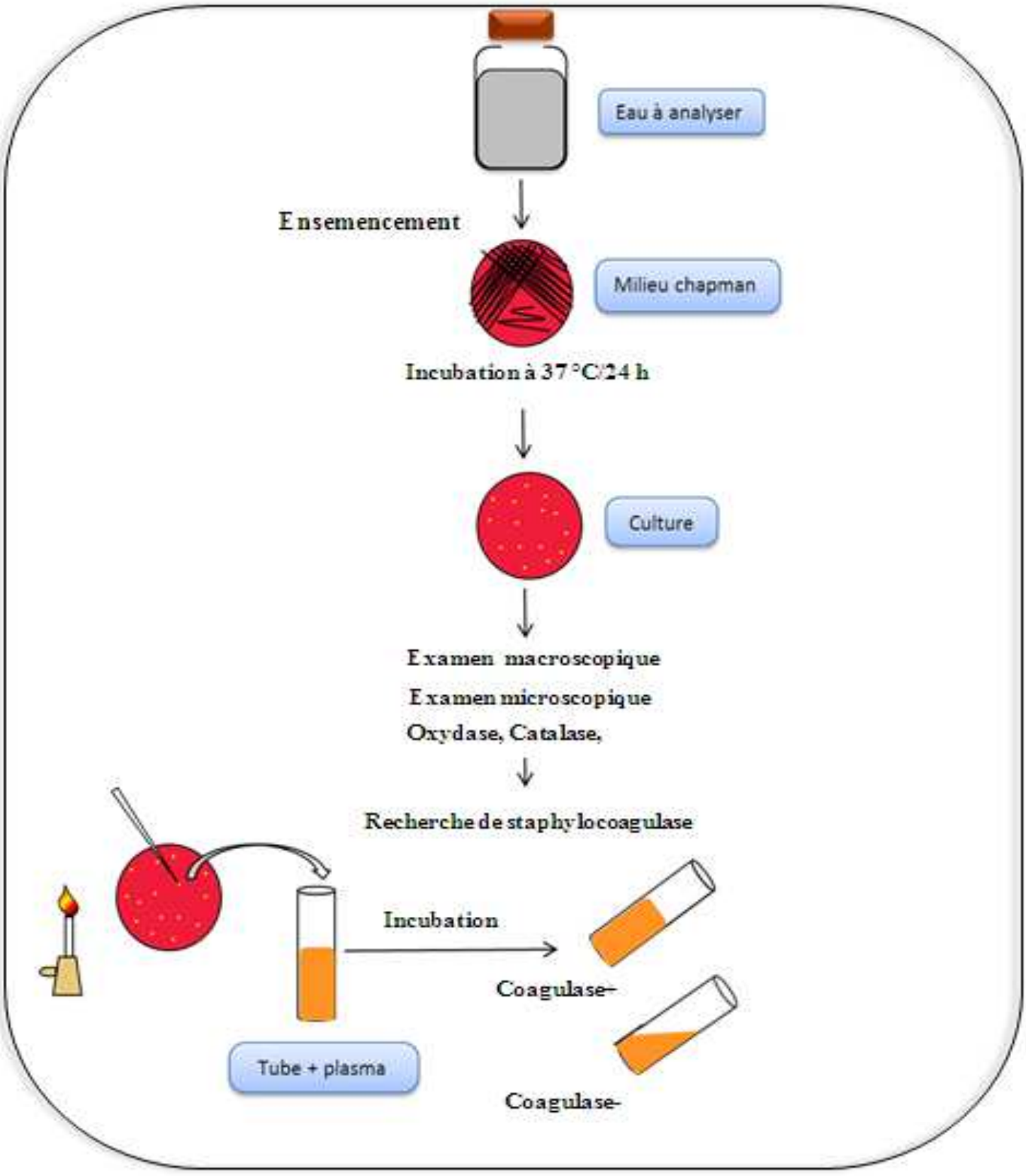


Figure 14 : Protocole de recherche des Staphylococcus.

4.5.2. Recherche de *Pseudomonas aeroginosa*

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles Gram négatif, droits et fins, aux extrémités arrondies, mobiles (à ciliature polaire), aérobies stricts, oxydase positive et se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies.[11]

P. aeroginosa cultive facilement sur milieux ordinaires en développent une odeur de seringa (fleur de la famille des *Philadelphacees* encore appelée «jasmin des poètes»). A partir de prélèvement polymicrobiens, il est nécessaire d´avoir recours à un milieu sélectif contenant du cétrimide. L´incubation se fait à 37ºC pendant 48 heures. [8]

Identification :

-Coloration de Gram :

-Examen directe entre lame et lamelle (état frais), il permet d´observer la mobilité des germes ; [24]

-Oxydase. **[8]**

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

-Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent (*P. fluorescence*) est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. [29]

Tableau N° 5 : Caractéristiques d´identification des principales espèces de Pseudomonas [35].

	Pyocyanine	Pyoverdine	Nitrate	Gélatinase	ADH	Uréase	Mannitol
P. aeruginosa	+	+	+	+	+	d	+
P. fluoresces	-	+	d	+	+	+	+
P. putida	-	+	-	-	+	-	-
P. stutzeri	-	-	+	-	-	-	d

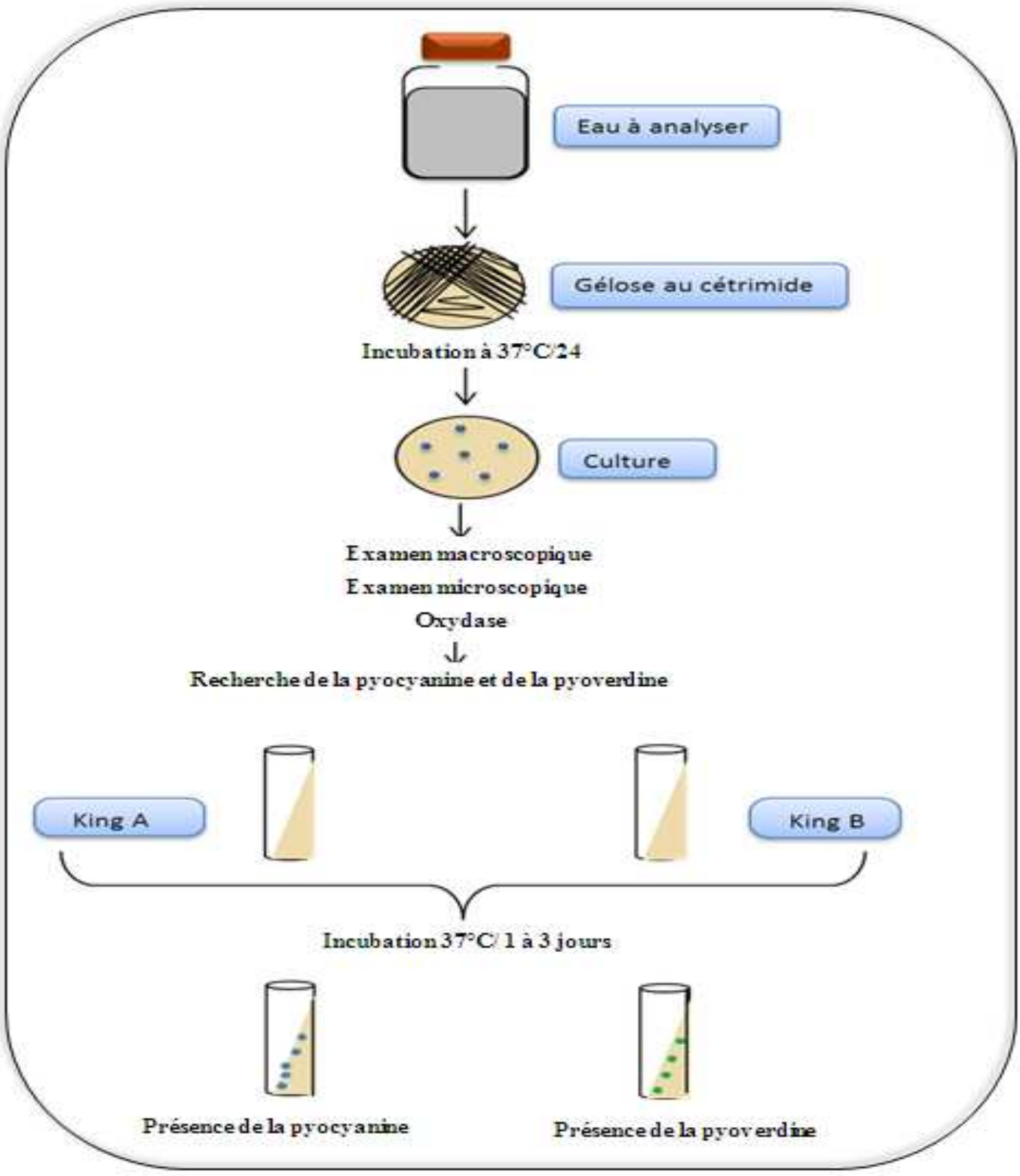


Figure 15 : Protocole de recherche de *Pseudomonas*.

4.5.3. Recherche des Vibrio cholériques

On entend par Vibrionacae, des bactéries qui se présentent sous forme de Bacilles à Gram Négatifs droit ou incurvés (BGN), très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d´H_2S, hautement pathogènes. [24].

Premier jour : Enrichissement primaire

L´enrichissement primaire s´effectue sur le milieu Eau Peptonée Alcaline (EPA) en mettant une quantité d´eau à analyser dans un tube d´EPA. Ce dernier sera par la suite incubé à 36 ± 2ºC pendant 20 ± 4 heures. [21]

Deuxième jour : Enrichissement secondaire et isolement

Après incubation, le tube constituant l´enrichissement primaire fera l´objet :

- D´un isolement sur gélose GNAB 1, l´incubation se à 36 ± 2ºC pendant 20±4 heures.
- D´un deuxième enrichissement en transmettant quelques gouttes de la surface dans un nouveau tube d´EPA.
- D´autre part, la boite de gélose GNAB 1 subira une lecture après 24 heures en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses, transparentes et très caractéristiques. [21]

Identification morphologique et biochimique : Les colonies sont très fines sur la gélose nutritive, jaunâtre sur la gélose hyperalcaline. [1]

Une identification morphologique et biochimique basée essentiellement sur :

- Observation à l´état frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Oxydase (+),
- Ensemencement d´un tube de TSI qui sera incubé à 37ºC, 24 h (Saccharose, Glucose, Gaz et H_2S). [1]

Faire une mini-galerie biochimique basée sur l´étude des acides aminés en vue de différencier les *Vibrions*, des *Pleisiomonas* et des *Aéromonas*.

Tableau N°6 : Principaux caractères d´orientation du diagnostic des Vibrio potentiellement pathogènes. [8]

	V. cholerae	*V. mimicus*	*V. Parahae-molyticus*	*V. alginolyticus*	*V. vulnificus*	*V. fluvialis*
Croissance à 42ºC	+	d	d	+	d	d
ONPG	+	+	-	-	+	+
ADH	-	-	-	-	-	+
LDC	+	+	+	+	+	-
ODC	+	+	+	d	d	-
VP	d	-	-	+	-	-
Production d´indole	+	+	+	+	+	-
Nitrate réductase	+	+	+	+	+	+
Galactosidase	+	d	-	-	d	+

d : 11 à 89% des souches positives.

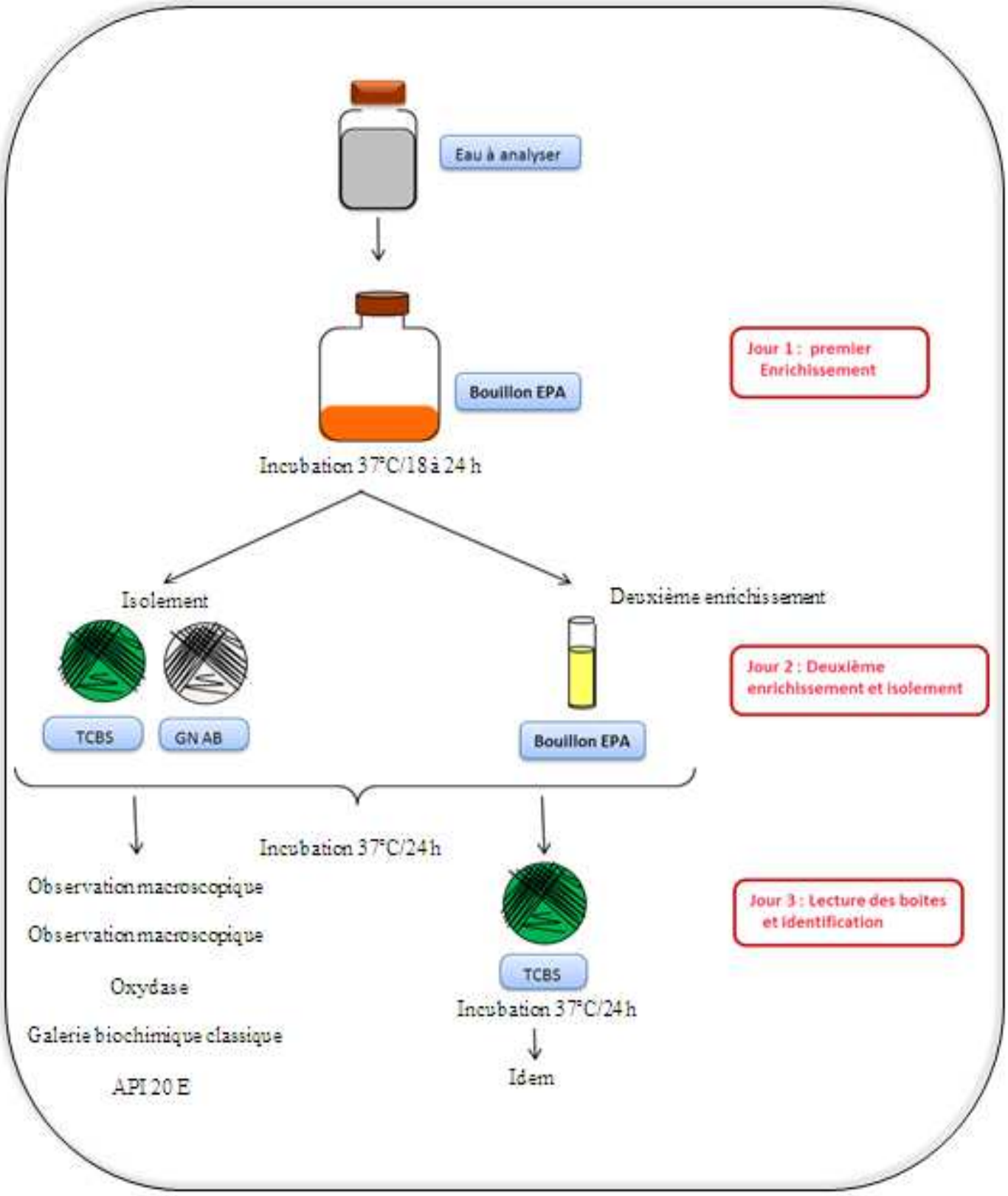


Figure 16 : Protocole de recherche et identification de *Vibrio*.

4.5.4. Recherche de *Salmonella*

Les *Salmonella* sont des entérobactéries qui se présentent sous forme de bacilles Gram négatifs, lactose-, qui fermente le glucose avec production de gaz et de H_2S. [22]

- **Mode opératoire :**

Premier Enrichissement :

Le premier enrichissement s´effectue sur le milieu SFB (Bouillon au sélénite/ bouillon de Leifson) en ajoutant à ce dernier 10ml d´eau à analyser, puis incubé à 37ºC pendant 18 à 24 heures. [24]

Deuxième enrichissement et isolement :

Ce flacon fera l´objet :

- D´une part, d´un deuxième enrichissement sur milieu SFB en tubes à raison de 0,1 ml
- d´autre part, d´un isolement sur gélose SS (Salmonella-Shigella). L´incubation se fait donc à 37ºC pendant 24 heures. [24]

- **Lecture des boites et identification :**

- D´une part, le tube de Sélénite fera l´objet d´un 2ème isolement,
- D´autre part, la boite de gélose SS subira une lecture en tenant compte du fait que les Salmonella se présentent le plus souvent sous forme de colonies à centre noir. [29]

- **Identification morphologique et biochimique :**

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

- Ensemencement d´un tube de Kligler-Hanja ou TSI qui sera incubé à 37ºC, 24 h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H_2S). [11]
- Identification biochimique par l´API20E.

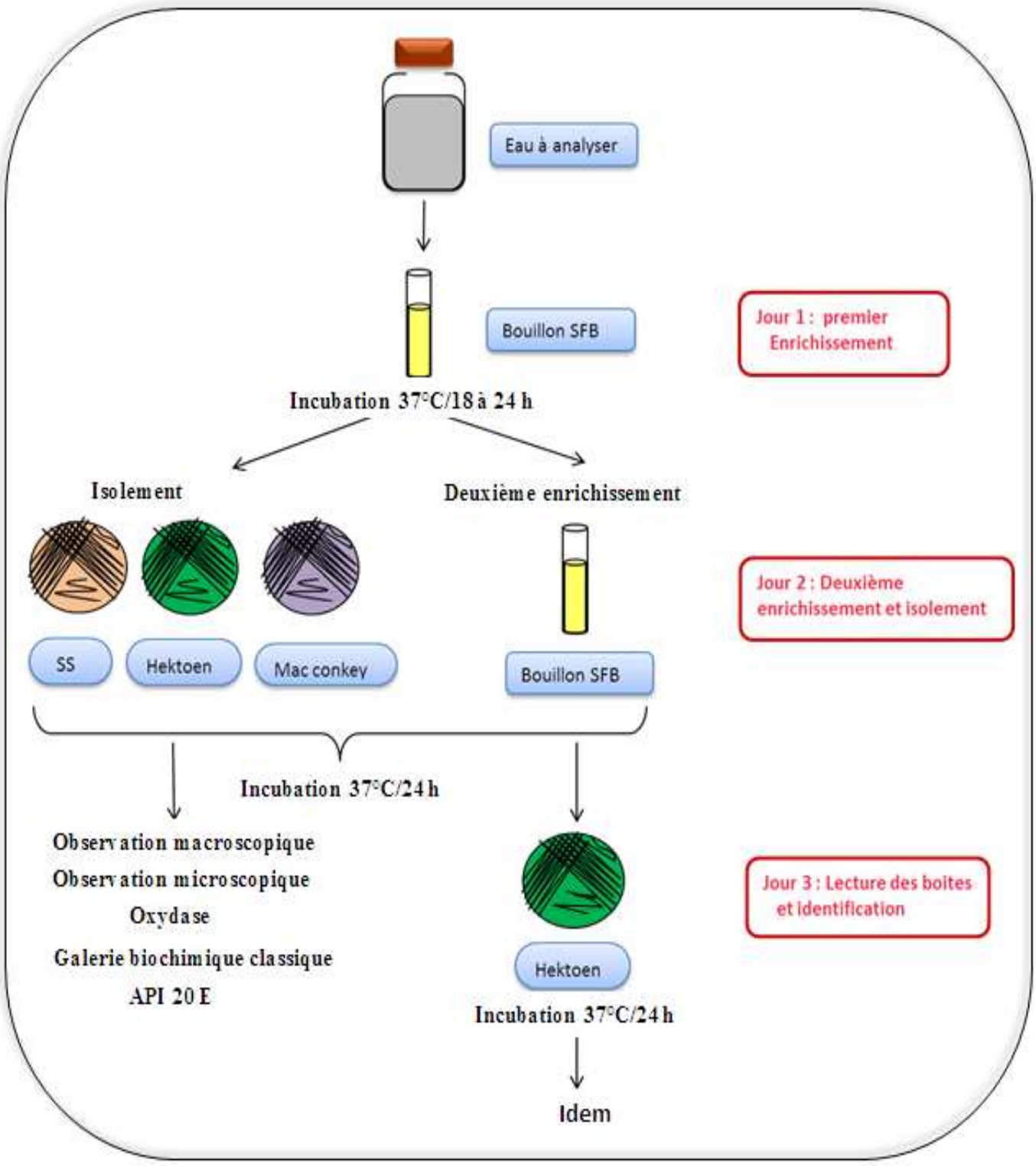


Figure 17 : Protocole de recherche et identification de *salmonella*

4.5.5. Recherche des levures et moisissures :

On utilise la méthode d´ensemencement par stries sur gélose coulée dans des boites de pétri contenant de la gélose Sabouraud.

Coloration de bleu de méthylène :

- Déposer une goutte d´eau sur une lame de verre.
- Prélever une colonie à l´aide d´une pipette Pasteur boutonnée.
- Dissocier soigneusement l´inoculum dans la goutte d´eau et laisser sécher.
- La lame est recouverte de bleu de méthylène pendant 10 minutes, puis lavée doucement à l´eau.

Observation microscopique à immersion. [21]

4.6. Etudes des caractères biochimiques :

L´identification biochimique des bactéries se réalise depuis nombreuses années par les deux méthodes :

5. Galeries classiques avec un nombre limité de caractères ;
6. Galeries API20E qui sont très performantes.

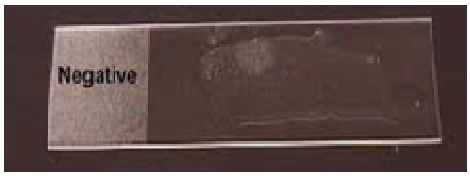
4.6.1. Les enzymes respiratoires :

✓ **Test de Catalase :**

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante : $2\ H_2O_2 \longrightarrow 2\ H_2O + O_2$. **[26]**

Le tableau suivent explique le test de catalase :**(Tableau N° :07)**

Tableau N°7 : Les caractères de test de catalase.

Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif
-Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, -A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum. -Observer immédiatement. **[21]**	-La catalase : Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram +. **[12]**	Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase (+) -Pas de bulles : catalase (–)	
			Aspect du test positif

✓ **Test d'Oxydase :**

L'oxydase : enzyme intervenant dans divers couples d'oxydo-réduction. La recherche de la phényléne-diamine-oxydase qui agissant sur un substrat incolore, entraîne la formation d'une semi quinone rouge. Cette dernière très instable, s'oxyde rapidement en donnant un composé noirâtre. [35] **(Tab.08.).**

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram (–) et permet de mettre en évidence une enzyme : **la phénylène diamine oxydase** des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : **le N diméthyl paraphénylène diamine.** [1]

Tableau N°8 : Les caractères de test d'oxydase. [35]

Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif
-Sur une lame propre et stérile dépose un disque d'oxydase ensuite prépare une suspension bactérienne a partir de la colonie voulue et déposer une goutte de la suspension sur le disque. **[16]**	-La phénylène diamine oxydase.	-Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est **positif**. - Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase : le test est **négatif**.	 **Aspect du test positif**

4.6.2. Galerie biochimique classique :

Nous avons utilisé la galerie biochimique présentée dans le tableau suivant :

Tableau N°9 : les caractères de la galerie biochimique. [17]

Milieu	L'ensemencement	Caractères recherches	Résultat attendu
TSI **(tri sugar_iron)**	-Ensemencer abondamment la surface par des stries serrées, puis le culot par simple piqûre. -Mettre à l'étuve 24h a 37°C.	-Utilisation du glucose. -Utilisation du saccharose**.** -Utilisation du lactose. -Production H_2S. -Production du gaz.	-Virage de la couleur vers le jaune : glucose, lactose et saccharose positif (+). -Formation de tache noire. **(H_2S^+)** -Bulles de gaz dans le culot, parfois même une surélévation de la gélose : **Gaz(+).**

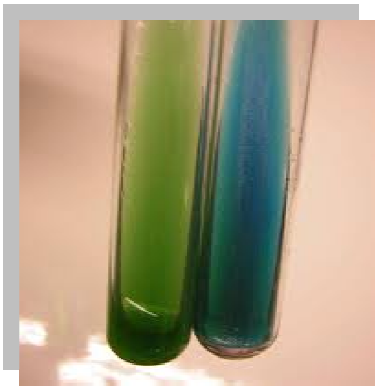
Citrate de Simmons	-L'ensemencement de la pente se fait par une strie longitudinale, au fil droit, à partir d'une suspension bactérienne. -- Ne pas visser le bouchon à fond, afin de permettre les échanges gazeux. Incuber pendant 24 heures voire 3à4 jours, à 37C°.	-Utilisation du citrate comme unique source de carbone est une utilisation aérobie et se traduira par une alcalinisation du milieu.	- Virage de l'indicateur de pH au bleu**.** 

Tableau N°9 (Suite)

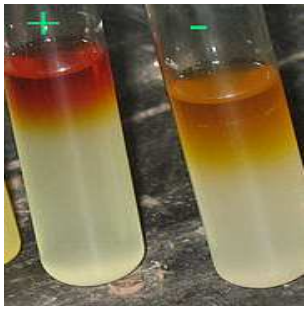
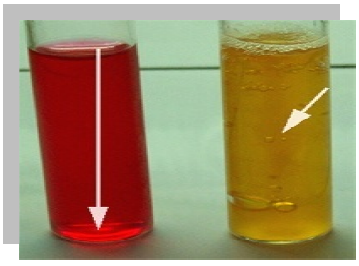
Milieu	L'ensemencement	Caractères recherches	Résultat attendu
Clark et lubs	-Ensemencer largement. -Incuber 24h a 37°C. **1. test VP** -Ajouter 10 gouttes d'alpha naphtol et le même volume de soude concentrée(ou de potasse) -Attendre quelques min a 1 heure. **2. Test RM** -Ajouter 2 à 3gouttes de rouge de méthyle -La lecture est immédiate.**[33]**	-Production de l'acétone. -La réaction de Voges Proskauer (VP) consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne. -Mise en évidence de la voie des fermentations acides mixtes par le test RM (au rouge de méthyle).	**1. Test VP** Rouge : VP+ / Jaune : VP **2. Test RM** Rouge :RM+ / Jaune :RM 
Mannitol **Mobilité**	-Ensemencer par piqure centrale à laide d'un fil droit. -Incuber pendant 24h à T° optimal. [5]	-Mannitol -Mobilité [5]	-Caractère mannitol : Apparition de couleur jaune. [2] -**La mobilité** : les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle ; (formation d'un voile autour de la piqure). 

Tableau N°9 (Suite)

Milieu	L'ensemencement	Caractères recherches	Résultat attendu
Urée indole	-Ensemencer largement, Incuber 24h à 37°C. **<u>Test d'indole</u>** - Après incubation on ajoute à la culture le réactif à l'indole de Kowacks.	- **l'uréase**, enzyme hydrolysant l'urée, activité directement détectable par le suivi de l'alcalinisation.[33] -**Formation d'indole** : la tryptophanase, après addition du réactif de Kowacks. Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kowacks réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge.	-Apparition de couleur rose : **Uréase (+)**. **<u>Test positif</u>** : Apparition d'un anneau rouge à la surface : **indole (+).** [33]

4.6.3. Les tests complémentaires :

- ✓ **Recherche de la Béta-galactosidase (ONPG) :**

La recherche de B-galactosidase ou test ONPG (Ortho-nitro phényle B-D galactosidase) permet de détecter l'enzyme capable de scinder la molécule de lactose positive, des bactéries

lactose négatives. Ce test est pratiqué uniquement pour toute bactérie lactose (-), en 24 h sur milieu solide. [23]

Le tableau suivent explique le test de l'ONPG : (Tableau N° :10)

Tableau N°10 : Les caractères de test Béta-galactosidase. [17]

Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif	Aspect du test positif
On utilise l'ONPG ou **O**rtho-**N**itro-**P**hényl-**G**alactopyranoside A partir : de Milieu lactosée -Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée. -Ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG. -Incuber 30 min à 37°C. -la majorité des réactions positives sont observées entre 15 et 30 mn.	**- une β-galactoside-perméase** membranaire **- une β-galactosidase**	-Milieu jaune : **ONPG +** -Milieu sans couleur : **ONPG -**		

- ✓ **Test TDA**:

La désaminase agit sur le L-tryptophane en donnant l'acide indole-pyruvique : l'acide indole pyruvique donne avec le perchlorure de Fer une coloration brune rouge. [23]

Le test est réalisé sur le milieu urée-indole selon le tableau suivant. **(Tab.11.)**

Tableau N°11 : Les caractères de test TDA. [17]

Techniques	Caractères recherchés	Résultats	Aspect du test négatif	Aspect du test positif
-Faire une suspension en milieu Urée-indole. -Étuver -Ajoute 2 ou 3 gouttes du réactif de TDA.	**- La tryptophane désaminase** (TDA), après addition de chlorure de Fer III: le Fer III forme un complexe avec le produit de l'activité de la TDA, l'acide indole-pyruvique, complexe décelable par la formation d'un précipité marron. [33]	-Obtention d'un précipité brun foncé : **TDA (+)** -Absence de précipité avec couleur de milieu : **TDA (-)**		

4.6.4. Etude des caractères biochimiques par la galerie API systèmes :

❖ La Galerie Api 20E :

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés **(Fig.18.)**, ainsi qu'une base de données. [9]

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.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. [23]

Figure 18: Galerie API 20E.

- **Mode opératoire :**

L'opération s'effectuée selon les étapes suivantes :

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boite 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, H_2S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- ✓ Refermer la boite d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures. [26]

- **Lecture :**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positif : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs. (Annexe 1).

- ✓ 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 Kowacs. Un anneau rouge obtenu en 2minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E. [28]

- **Identification :**

Avec le tableau d'identification :

Comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau 25;(Annexe 2)

Avec le catalogue analytique :

Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou4) est indiquée pour chacun.
Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.
On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification.

Avec un logiciel d'identification. [32]

❖ La Galerie Api 20 C AUX :

- **Introduction et objet du test :**

API 20 C AUX est un système d´identification précise des levures les plus couramment rencontrées.

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d´effectuer 19 tests d´assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d´utiliser le substrat correspondant. [1]

- **Mode opératoire :**

- La préparation de la galerie API 20 C AUX se fait de la même façon que l´API 20 E.
- Préparation de l´inoculum :
  - ❖ Ouvrir une ampoule d´API Suspension Medium (2 ml) ou une ampoule d´API NaCl 0,85% Medium (2 ml).
  - ❖ A l´aide d´une pipette, prélever une fraction de colonie par aspiration ou par touches successives. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes.
  - ❖ Réaliser une suspension de levures de turbidité égale à 2 de Mc Farland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
  - ❖ Ouvrir une ampoule d´API C Medium et y transférer environ 100 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir les cupules avec la suspension obtenue dans API C Medium. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Refermer la boite d´incubation et incuber 48-72 heures (± 6 heures) à 29ºC ± 2ºC.[5]

- **Lecture et Interprétation :**

Après 48 heures d´incubation, ou 72 heures (si les tests, en particulier le glucose, ne sont pas très nets après 48 heures), observer la croissance des levures comparativement à la cupule 0, témoin négatif. Une cupule plus trouble que le témoin indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux témoins de croissance et l´identification est obtenue à l´aide du Catalogue Analytique ou d´un logiciel d´identification.

En constituant un profil numérique, l´identification est obtenue à l´aide du Catalogue Analytique, de l´automate ATBTM, du mini API, ou du logiciel d´identification apiweb^{TM}. [4]

❖ **La galerie API Staph :**

La préparation de la galerie et identique à celle de l'API 20E.

- **La préparation de l'inoculum** :

- Réaliser une pré-culture sur gélose Chapman
- Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule API Staph Medium.

- **Inoculation de la galerie :**

- Introduire la suspension dans les tubes de la galerie en éviter la formation de bulles.
- Pour les caractères ADH, URE, remplir les cupules d'huile de paraffine.
- Incuber 24 heures à 37°C. [2]

- **Lecture de la galerie API Staph :**

- 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. **(Annexe 1)**

❖ **La galerie API 20 NE :**

La galerie biochimique standardisée et miniaturisée API 20 NE pour l´identification de certains bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux, oxydase positif. Elle se compose d´une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. [5]

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d´incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l´addition de réactifs.

Les tests d´assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d´utiliser le substrat correspondant. [9]

- **Mode opératoire :**

- La préparation de la galerie API 20 NE se fait de la même façon que l´API 20 E.
- Préparation de l´inoculum : Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d´eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l´étalon 0,5 Mc farland.
- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO3 à PNPG avec la suspension précédente. Eviter la formation de bulles. [11]
- Transférer 4 à 8 gouttes de la suspension précédentes, dans une ampoule AUX Medium.

- Remplir les tubes et les cupules des tests GLU à PAC.

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

-Incuber 24 heures à 30ºC. [13]

- **Lecture et interprétation :**

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.

L´identification est réalisée avec le catalogue analytique ou à l´aide d´un logiciel d´identification. [25]

4.6.5. Coloration de Gram :

La coloration de Gram a pour but de différencier les bactéries Gram positives des bactéries Gram négatives et aussi d´observer leur morphologie. [27]

La coloration de Gram s´effectue de la manière suivante :

- Préparation par le violet : Laisser agir la solution de cristal violet pendant 1 mn. Laver à l´eau.
- Mordançage : laisser agir le lugol 1 mn. Laver à l´eau.
- Décoloration : laisser agir l´alcool pendant 30 secondes. Laver à l´eau.
- Recoloration : laisser agir la solution de Fuschine pendant 30 à 40 secondes. Laver à l´eau, et sécher. [23]

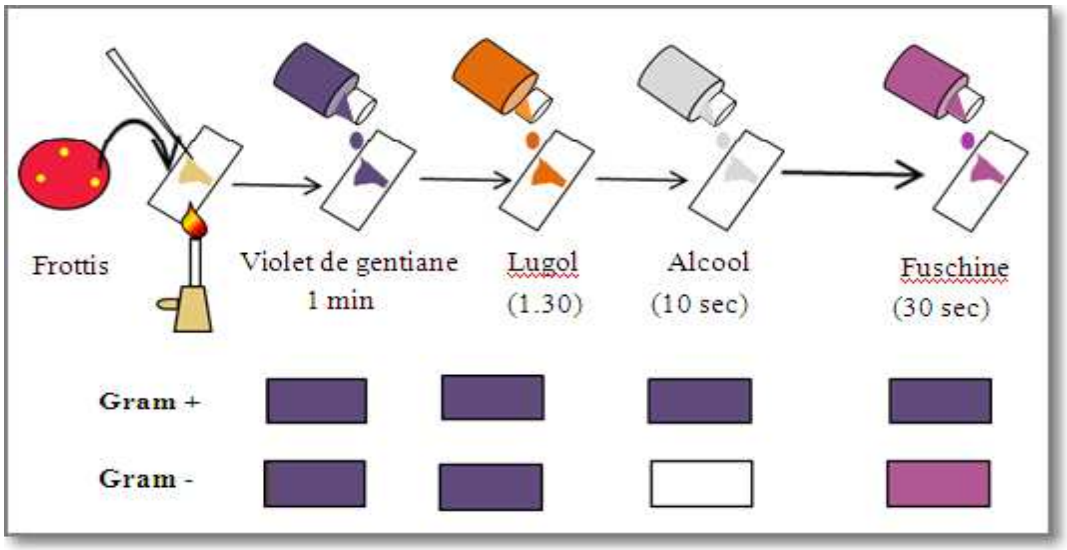


Figure 19 : Procédure de la coloration de Gram

Chapitre III

Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physicochimiques mesurés *in situ* :

1.1 La température :

La température est un facteur écologique très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques. Elle conditionne les possibilités de développement et la durée du cycle biologique des espèces aquatiques. [2]

Tableau N°12 : Variation de la température des deux stations de barrage Ain Dalia.

Station	S1	S2
Température (°C)	12.8	13
	20	22

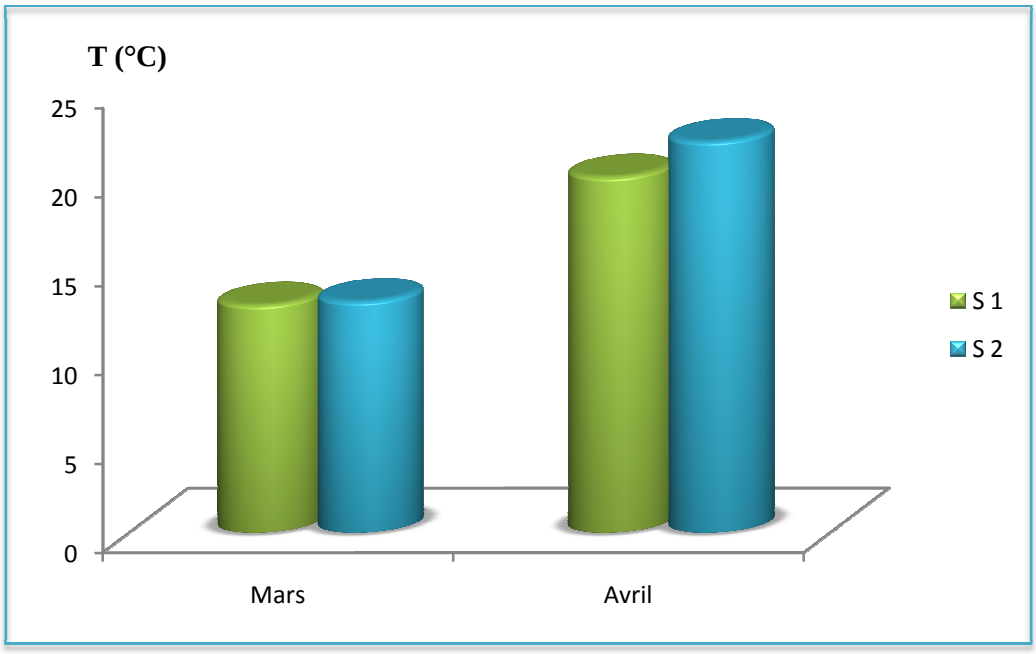


Figure 20 : Variations de la température de l'eau de barrage Ain Dalia.

D'après les résultats, la température minimale obtenue est de 12.8°C enregistrée dans la station 1 pendant le mois de Mars. La température maximale est de 22°C noté dans la station 2 pendant le mois d'Avril. (Fig.20.)

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température, notre eau est de qualité normale **(< 20°C)** à bonne **(20°C - 22°C).** [35]

1.2. Le pH :

Le pH est l'un des paramètres parmi les plus importants de la qualité de l'eau**.** [34]

Tableau N°13 : Le pH de l'eau de barrage Ain Dalia.

Station	S1	S2
pH	7.3	7.8
	8.2	8.5

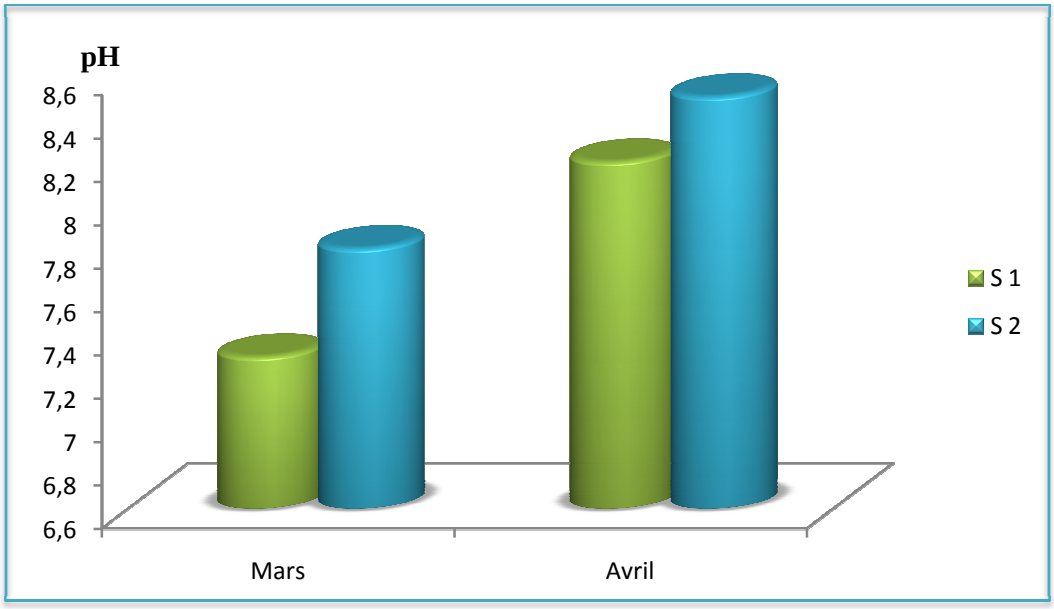


Figure 21 : Variations spatio-temporelles du pH de l'eau de barrage Ain Dalia.

La valeur le plus faible est de 7.3 mesurée dans la station1 pendant le mois de Mars et la plus élevée est de 8.5 obtenue dans la station 2 pendant le mois d'Avril. Le pH de l'eau de barrage d'Ain Dalia est plus au moins neutre ce qui est le cas de la majorité des eaux de surface. Cette gamme de pH favorise la multiplication et la croissance des microorganismes.

1.3. L'oxygène dissous :

Le dioxygène est un des facteurs fondamentaux de la vie. La présence de dioxygène dans les eaux joue un rôle primordial dans le maintien de la vie aquatique, et donc dans les phénomènes d'autoépuration (dégradation de la matière organique) et de la photosynthèse.

L'oxygène dissout provient en majeur partie de l'atmosphère. Une autre partie de l'oxygène est produite par les plantes aquatiques durant le jour.

De manière générale la teneur en dioxygène dépend de la respiration des organismes aquatiques, de la dégradation des polluants (consommation de dioxygène) et de l'activité de photosynthèse de la flore (production de dioxygène). Il constitue un excellent indicateur du fonctionnement du plan d'eau à différents titres :

-Sur le plan physique (indicateur de pollution) : les matières minérales et organiques réduites sont oxydées biologiquement et font diminuer la concentration en oxygène dissous. Une eau appauvrie en O_2 peut à ce titre être considérée comme polluée.

- Sur le plan biologique : l'oxygène présent dans l'eau est vital aux organismes vivants. [21].

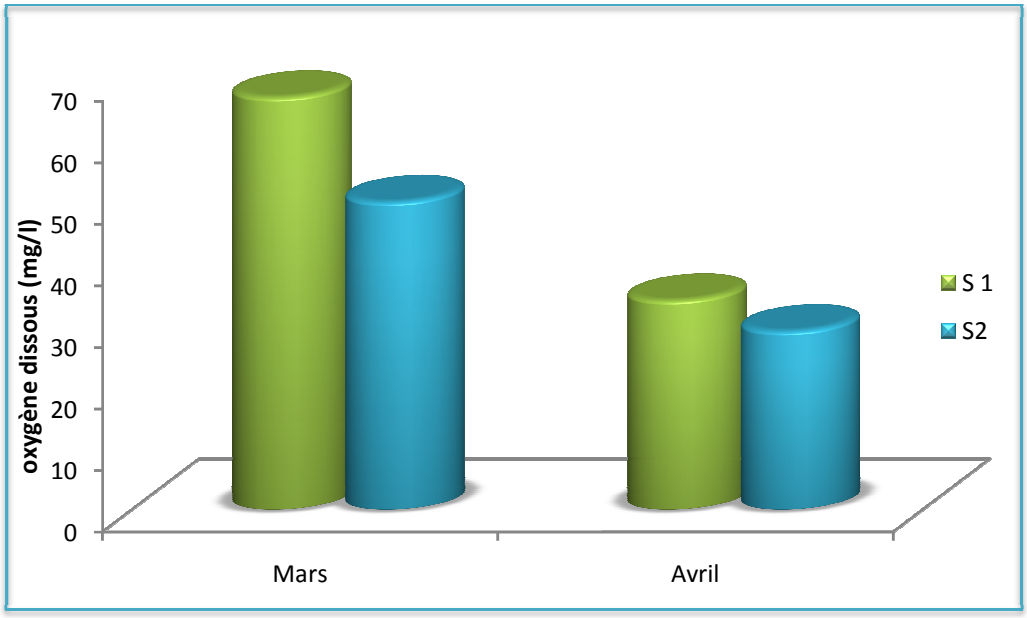


Figure 22 : Variations de teneur de l'oxygène dissout de l'eau de barrage Ain Dalia.

Selon les résultats enregistrés durant notre période d'étude, l'eau de barrage Ain Dalia est de qualité passable **(50 à 67%)** durant le mois de Mars et s'ait diminué pour devenir mauvaise **(30 à 34 %)** en mois d'avril dans les deux stations selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux en fonction de l'oxygène dissous**.(Voir l'annexe : Tab N°32)**

1.3. La conductivité électriques :

La mesure de la conductivité permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau et d'en suivre l'évolution .D'une façon générales, la conductivité s'élève progressivement de l'amont vers l'aval des cours d'eau. [34].

Tableau N°14 : La conductivité électrique de l'eau de barrage Ain Dalia (µs/cm).

Station	S1	S2
Conductivité électrique (µs/cm)	274	307
	305	350

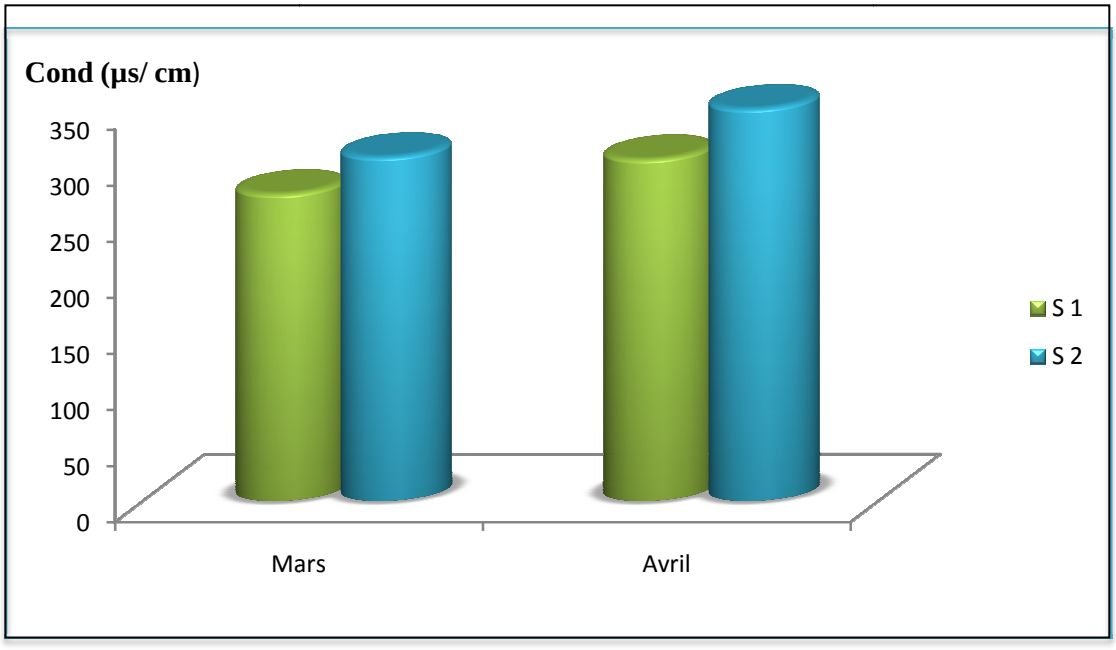


Figure 23 : Variations de la conductivité électrique de l'eau du barrage Ain Dalia.

La conductivité du l'eau du barrage durant le mois de mars varie entre 274 et 350 µs/cm respectueusement dans les stations 1 et 2, ce qui signifie que l'eau est moyennement minéralisée, donc, l'eau est de bonne qualité selon la grille de appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la conductivité **(voir l'annexe : Tab N°30).**

1.4. Le taux de solides dissous (TDS) :

Les teneurs en matières solides dissous de l'eau peuvent être mesurées et exprimées de différentes manières selon la période de prélèvement. [34].

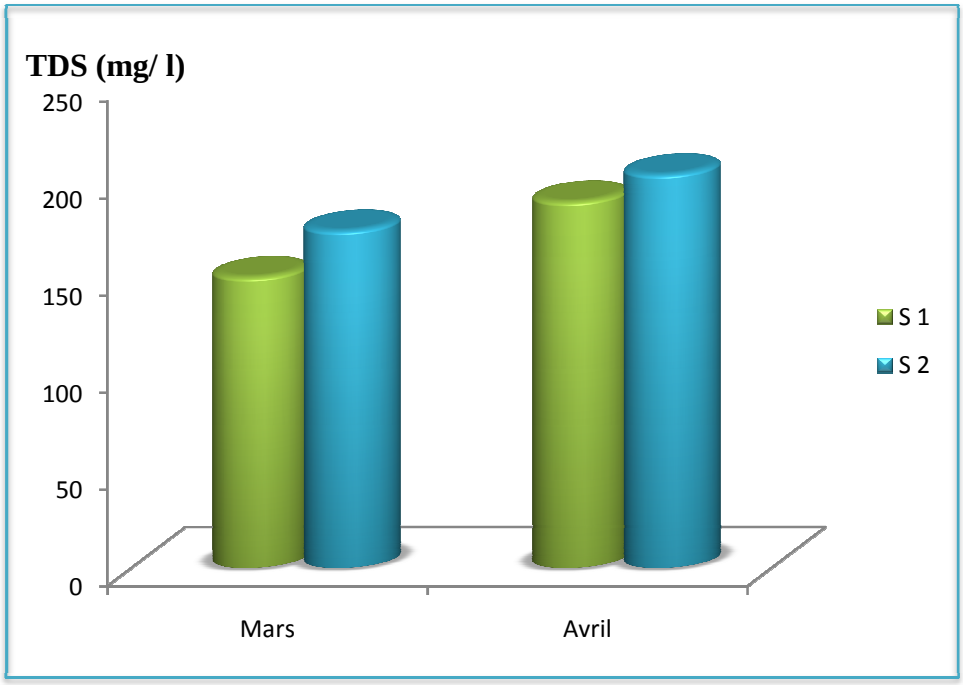


Figure 24 : Variation spatio-temporelles de la TDS de l'eau du barrage Ain Dalia.

La mesure de TDS pendant le mois d'Avril permet d'illustre que la valeur maximale enregistrée est 203 mg/l dans la station 2, tandis que la valeur minimale 150 mg/l enregistrée au niveau de la station 1 pendant le mois de Mars.

2. Résultats des analyses bactériologiques :

Une analyse bactériologique comporte d´une part, une analyse quantitative, qui nous donne une numération des germes et d´autre part, une analyse qualitative qui consiste à rechercher tous les germes en présence.

Une eau de qualité, doit être exempte de bactéries pathogènes et de virus. Elle ne doit non plus contenir des «germes tests» de contamination car ceux-ci, bien qu´inoffensifs, signalent la présence de germes pathogènes. Par contre la présence de germes banals est admise dans l´eau. [35]

2.1 Recherches et dénombrement des germes totaux :

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits "revivifiables" permet de dénombrer les bactéries 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. [1]

Tableau N° 15 : Dénombrement des germes revivifiables à 22°C et à 37°C (UFC/ml)

Période	Température	Site 1	Site 2
Mars	22°C	$5.2x10^4$ UFC/ml	$7.5x10^4$UFC/ml
	37°C	$3.4x10^4$UFC/ml	$6.3x10^4$UFC/ml
Avril	22°C	$3.8x10^4$ UFC/ml	$4.6x10^4$UFC/ml
	37°C	$3.0x10^4$ UFC/ml	$3.4x10^4$UFC/ml

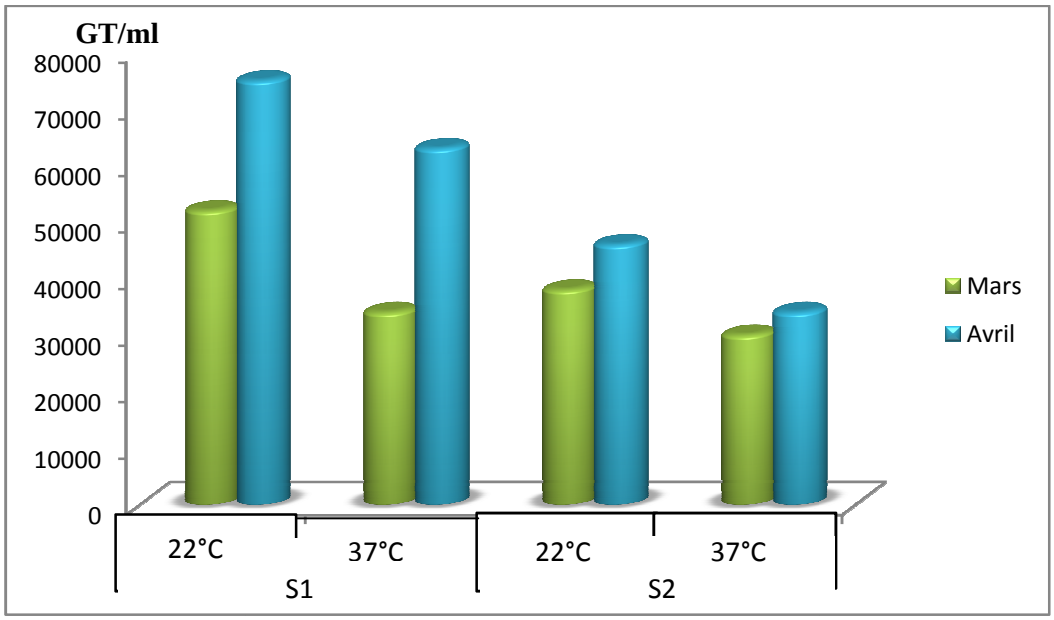


Figure 25 : Evaluation du nombre des germes revivifiables à 22°C et à 37°C de l'eau de barrage Ain Dalia.

Nos résultats ont montrés que le nombre des germes totaux incubés à 22°C en mois d'Avril est plus élevé qu'en mois de Mars dans les deux sites du barrage, avec un taux maximum de 75000 GT/ml dans la station 1 (en Avril) et un minimum de 30000 GT/ml(en Mars) (Fig. 24.) et même chose est observé pour ceux qui ont été incubés à 37°C, cela peut s'expliqué par la diminution et augmentation des chut de pluies.

2.2. Recherche et dénombrement des témoins de contamination fécale :

2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux :

- **Coliformes totaux :**

La recherche des coliformes est primordiale du fait qu´un grand nombre d´entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait constituent des indicateurs de première importance. [4]

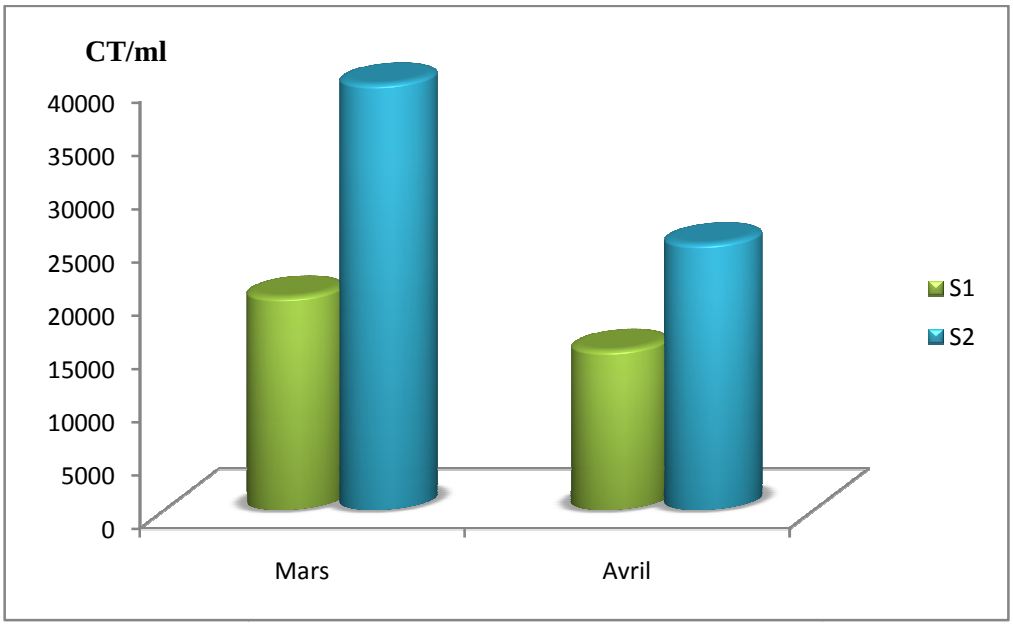


Figure 26 : Estimation des coliformes totaux/ml dans l'eau de barrage Ain Dalia.

L'effectif des coliformes totaux a atteint son maximum en mois de Mars dans la stations 2 avec 25000 CT/ml (Fig.26.). Par contre le minimum est observé dans la station 1 en mois d'Avril avec 15000CT/ml.

- **Coliformes fécaux :**

Escherichia coli est le type de coliforme d´habitat fécal exclusif ; sa recherche est donc extrêmement importante.

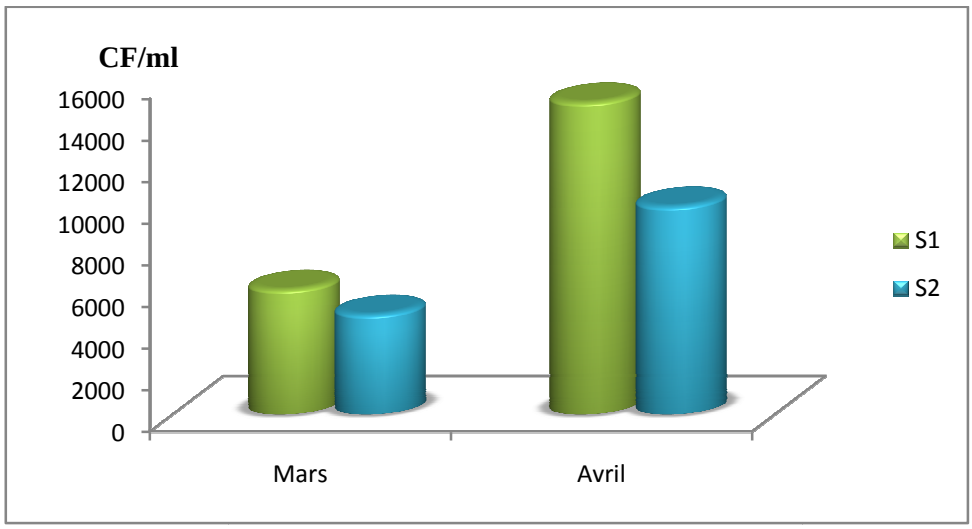


Figure 27 : Estimation des coliformes fécaux/ml dans l'eau Ain Dalia.

Le dénombrement des micro-organismes fécaux, dans les deux stations, a montré une différence significative quantitatif entre les stations 1 et 2 par un maximum enregistré avec 15000 CF/ml en mois d'Avril dans la station 1 et un minimum de 4800 CF/ml en mois de Mars dans la station 2. (Fig.27.).

2.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux sont des excellents indicateurs de contaminations récentes par la matière fécale des animaux. [34]

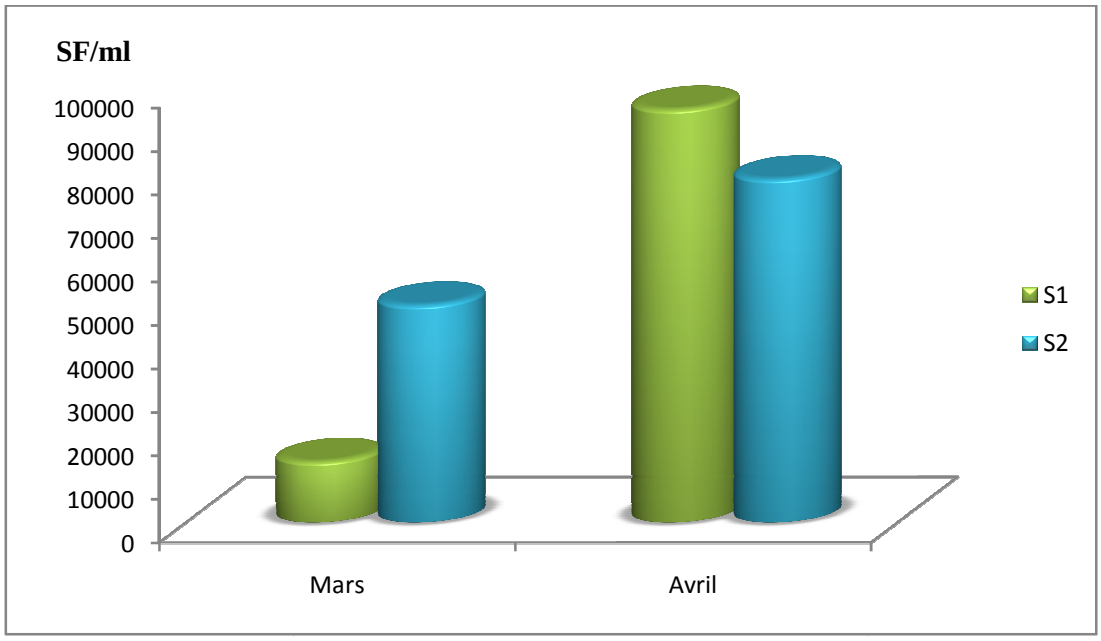


Figure 28 : Estimation des Streptocoques fécaux/ml dans l'eau de barrage Ain Dalia

Les streptocoques fécaux ou les entérocoques, sont des germes très sensibles aux variations physicochimiques du milieu et ne résistent pas dans l´eau (ils s´adaptent difficilement en dehors de leur milieu habituel qui est l´intestin). Mais leur présence est étroitement liée à la quantité et à la concentration de la matière fécale dans l´eau. [1]

Notre étude a montré que les valeurs les plus élevés sont observées dans la station 1 avec un maximum de 95000 SF/L en mois d'Avril, tandis que la valeur minimale est observée dans la même station en mois de Mars.

2.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) :

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des indices de contamination. La forme sporante beaucoup plus résistante que les formes exclusivement végétatives des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale ancienne, bien que l' puisse pas être toujours le cas, car les clostridies sulfito-réductrices avoir une origine tellurique. [4].

Tableau N° 16 : Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).

Période	Station 1	Station 2
Mars	Négatif	Négatif
Avril	Négatif	Négatif

2.3.Identification des colonies bactériennes:

Deux étapes primordiales ont été suivies durant la recherche des germes pathogènes : l'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées et une identification biochimique par la galerie biochimique classique, les API systèmes et les tests des galeries classiques. [34].

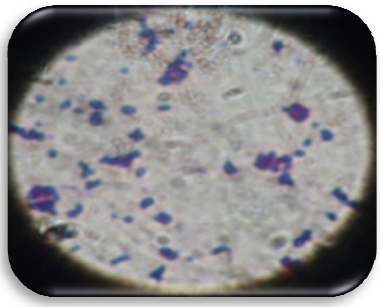
Les résultats sont résumés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

2.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram :

Tableau N° 17 : Aspect macroscopique, microscopique et identification des colonies bactériennes isolées dans l´eau de barrage Ain Dalia.

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique	Espèce
Gélose Mac Conkey (MC)	-Circulaire, ondulés, arrondie, rigoureuse, transparente légèrement blanchâtre. - Colonies irrégulières, colorée en roses	-bacilles isolés à Gram négatif. -bacilles à Gram négatif.	*Aeromonas hydrophyla* *Pseudomonas aeroginosa*

Gélose Hektoen (GH) 	-Verte ou bleuâtre, arrondie, circulaire, ondulés, rigoureuse, de taille petites. -Vertes, bombée, à contour régulier, grandes tailles.	-Bacilles isolés, Gram négatif. -Bacille, Gram négatif.	*Serratia odorifera1* *Enterobacter cloacae*
Milieu Chapman 	-Colonies petites, jaunes dorée, circulaires, bombées, lisses, translucides. -Colonies petites, jaunâtre, circulaires, bombées, lisses, translucides.	-Cocci regroupées en grappe de raisin, Gram positif. - Cocci regroupées en amas, Gram positif.	*Staphylococcus aureus* *Staphylococcus xylosus*
Gélose (GNAB) 	-Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes.	-Bacilles isolés, Gram négatif.	*Vibrio alginolyticus*
Gélose SS 	-Blanche, rondes, bombée, à contour régulier, brillantes -Colonies avec un contour régulier, translucides avec centre noire.	-bâtonnet courts à Gram négatif. -bacille à Gram négatif.	*Serratia marcescens* *Proteus mirabilis*
Gélose Cétrimide 	-Colonies très petites, bleu-vertes, rondes, convexes, lisses et translucides.	-Bâtonnet courte, Gram négatif.	*Pseudomonas aeroginosa*
Gélose Sabouraud 	-Grandes colonies muqueuse, bombée, blanchâtre.	-Cocci ovoïde plus sphérique que les bactéries colorées en violette.	*Candida zeylanoides*



Cocci à Gram positif

Bacilles à Gram négatif

Figure 29 : Détermination des caractères morphologiques

2.4. Résultats de l'identification biochimique :

Tableau N° 18 : Les enzymes respiratoires

Germes identifies	Oxydase	Catalase
Proteus mirabilis	-	+
Serratia marcescens	-	+
Serratia odorifera1	-	+
Enterobacter cloacae	-	+
Aeromonas hydrophyla	+	-
Vibrio alginolyticus	+	-
Pseudomonas aeroginosa	+	+
Staphylococcus aureus	-	+
Staphylococcus xylosus	-	+

- **Profil biochimique de *Staphylococcus* :**

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

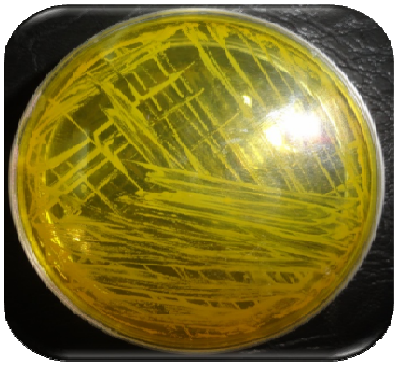


Figure 30 : Aspect des colonies sur gélose Chapman

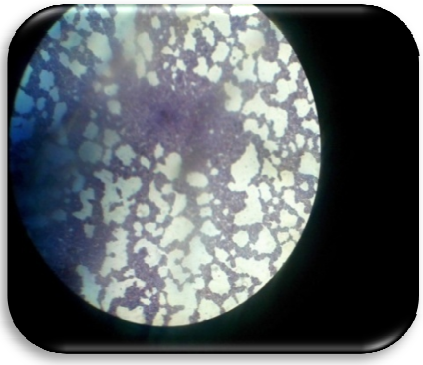


Figure 31 : Cocci à Gram positif regroupée en grappe de raisin

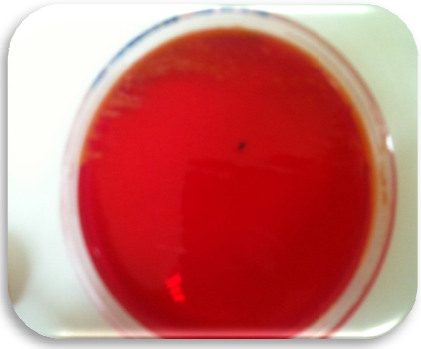


Figure 32 : Aspect des colonies sur gélose Chapman

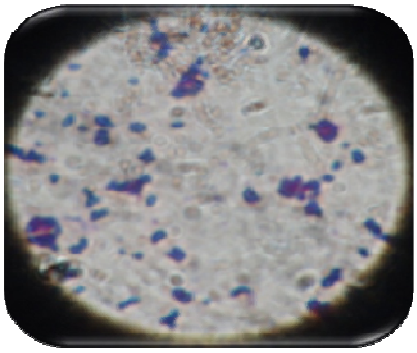


Figure 33 : Cocci à Gram positif regroupée en amas

Tableau N° 19 : Résultat de la galerie API 20 Staph

Milieu	Espèce
Chapman	*S.aureus*
Chapman	*S.xylosus*

Figure 34 : Profil biochimique de la souche *Staphylococcus aureus.*

Figure 35: Profil biochimique de la souche *Staphylococcus xylosus.*

L´identification de la bactérie repose sur la mise en évidence des caractères suivants : Catalase, fermentation du mannitol et staphylocoagulase.

Tableau N° 20 : Résultats du profil biochimique des *Staphylococcus* isolés.

	Catalase	Oxydase	Mannitol	Staphylocoagulase	Espèces isolées
Station 1	+	-	+	+	S. aureus
Station 2		-	-	-	S. xylosus

Présence de l'enzyme staphylocoagulase

Absence de l'enzyme staphylocoagulase

Figure 36 : La recherche de l'enzyme staphylocoagulase.

- **Profil biochimique de *Pseudomonas aeroginosa* :**

Pseudomonas aeroginosa vit à l´état saprophytique dans l´eau (eau douce ou eau de mer), le sol humide et sur les végétaux. (**Fig.41.**) (**Tab.21.**)

Tableau N° 21 : Résultats du profil biochimique des *Pseudomonas aeroginosa* isolés.

Coloration de Gram	Oxydase	Pyocyanine et pyoverdine	Nitrate	Citrate de Simmons	Mannitol
Bacilles à Gram négatif	+	+	+	+	+

Figure 37 : Aspect des colonies sur gélose cétrimide

Figure 38 : Bacilles Gram négatif

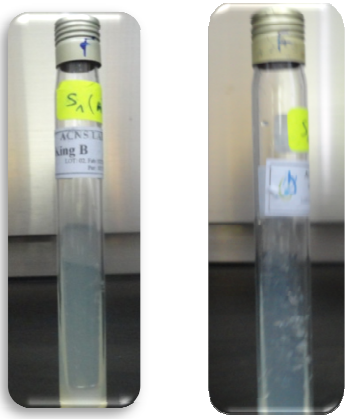


Figure 39 : Résultat de la recherche des pigments de la pyocyanine et pyoverdine dans les milieux King A et King B.

Figure 40: Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeroginosa*.

- **La détermination des caractères biochimique 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 N° 22 : Résultats de la galerie biochimique classique.

Test / Germe identifie	TSI			Citrate de Simmons	Mannitol mobilité		Urée indole			Clark et lubs		ONPG	Bouillon nitrate
	H_2S	Gaz	Suc		MAN	MOB	URE	IND	TDA	VP	RM		
Serratia odorifera1	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-
Serratia marcescens	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Aeromonas hydrophyla	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Vibrio alginolyticus	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-

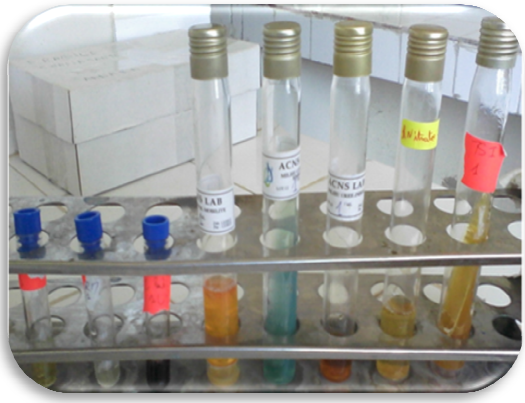
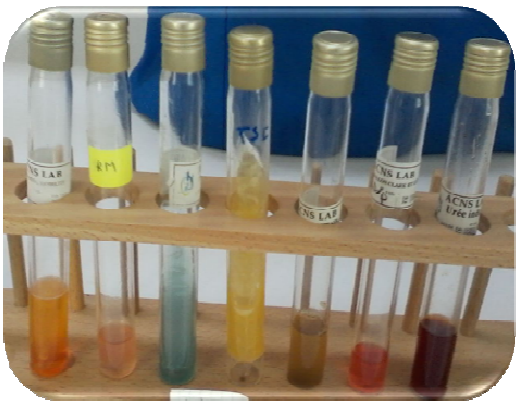



Figure 41 : Résultats de quelques galeries biochimiques classiques.

- **Identification par les API systèmes :**

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

Tableau N° 23 : Résultat d´identification des germes par les API systèmes

API système	Milieu	Espèce
API 20 E	SS	*Proteus mirabilis*
	Hektoen	*Enterobacter cloacae*
	Mac Conkey	*Pseudomonas aeroginosa*
API 20 NE	King A	*Pseudomonas aeroginosa*
API 20 C AUX	Sabouraud	*Candida zeylanoides*

Figure 42 : Profil biochimique de la souche *Proteus mirabilis*.

Figure 43 : Profil biochimique de la souche *Enterobacter cloacae*.

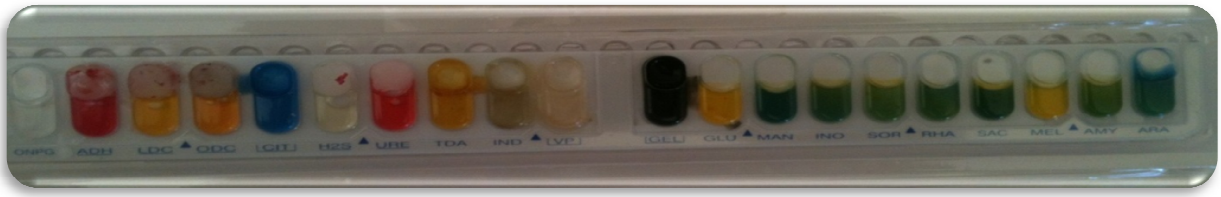


Figure 44 : Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeroginosa*.

Figure 45 : Profil biochimique de la souche *Candida zeylanoides*.

Conclusion

Conclusion :

Le risque de contamination des eaux de surface par des microorganismes d'origine fécale existe depuis très longtemps, dès que l'eau a été utilisée comme facteur d'hygiène d'élimination des déchets.

Avec le développement de l'urbanisation, les problèmes d'hygiène et de sante publique liés à la contamination bactérienne de l'eau sont devenus de plus critiques et constitue un problème environnemental croissant.

En Algérie, la qualité des eaux est soumise à une forte pression exercée par l'accroissement de la population et par l'activité industrielle.

Dans ce contexte notre étude a été basée sur l'analyse bactériologique ainsi que quelques paramètres physico-chimiques mesures *in situ* des eaux de barrage Ain Dalia (Souk Ahras, Nord Est algérien). Cette étude est basée sur le suivi de deux stations, sur une période de deux mois (Mars et Avril) dans le but à déterminer les microflores vivantes.

Les analyses bactériologiques obtenues à travers les dénombrements réalises ont permis de confirmer la contamination d'origine fécale de ces eaux par la présence d'un nombre élevé d'organismes indicateurs ainsi qu'une grande variété de germe pathogènes (*Aeromonas*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, et *Staphylococcus*).

En ce qui concerne les mesures *in situ* on constate que la qualité d'eau de ce barrage est bonne à moyenne.

Malgré la forte charge des indicateurs de contamination fécale, certains germes pathogènes n'ont pas été détecté au niveau des eaux de barrage d'Ain Dalia tel que *Salmonella* et *Shigella*, ceci ne permet pas d'exclure la possibilité que ces germes soient présent dans l'eau à analyser du fait que ces bactéries ne sont pas détectables par les techniques de culture classique.

Du point de vue nature de germes isolés et quantités de microorganismes, nous pouvons conclure que l'eau de ce barrage est fortement polluée. Ce qui peut engendrer des nuisances importantes que ce soit pour l'alimentation en eau potable, les poissons pêchés, et les pêcheurs.

Pour bien protéger la qualité des eaux de barrage d'Ain Dalia on propose de faire un traitement efficace au niveau de station d'épuration pour l'élimination totales des germes pathogènes, ainsi planter des végétaux adaptés aux rives pour crée un véritable bouclier anti-polluant.

Références Bibliographiques

BIBLIOGRAPHIES

[1]: Abdellioui S., Boukhdim A., Hamzaoui H., (2012). Qualité microbiologique d'un écosystème lotique Cas de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord-Est Algérien). Mémoire de Master. Université 08 Mai 1945 Guelma.

[2]: Aberkan M., Harkat R., Mkhalfi M., (2011). Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux d'un écosystème lacustre cas de Garaet Hadj Tahar (Skikda). Mémoire de Master. Université 08 Mai 1945 Guelma.

[3]: (ADE, Souk-Ahras).

[4]: Aouissi A., Fouzari A., Meziane N., (2007). Qualité bactériologique de l'eau d'oued Seybouse. Mémoire d'ingéniorat. Université 08 Mai 1945 Guelma. P 57.

[5] : Avril J. L., Dabernat H., Denis F., Montiel H., (1992). Bactériologie clinique. 2ème édition. Ellipses. Paris. P 522.

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

[7] : Boukhari S., Djebbar Y., Abida H., (2008). « Prix des services de l'eau en Algérie, un outil de gestion durable », 4éme conférence internationale sur Les Ressources en Eau dans le Bassin Méditerranéen. Université de Mohamed Echerrif Msaadia Souk Ahras. P 02.

[8] : 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 (Wilaya d'Oum el Bouaghi). Mémoire de Magister. Université 08 Mai 1945 Guelma. P 64.

[9] : Camille D., (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier : Tec & Doc. Paris. P 463.

[10] : Camille D., (2000). Microbiologie de l'environnement. Gaetan Morin. Pp 25-34

[11] : Camille D., Trébaol B., (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation, prélèvements, Analyses. Lavoisier Masson. P 594.

[12] : Cristian C., (2008). Microbiologie Hygiène. Lavoisier : Tec & Doc. Paris. Pp72-109.

[13] : Denis F., Ploy M. C., Martin C., Bingen E., Quentin R., (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson. P 594.

[14]: Direction d'hydraulique de Souk Ahras, (2013).

[15]: Djemili L., Benabelkader S., Rezgui N., Chiblak M. M., (2010). Étude de Rupture du Barrage Ain Dalia "Souk-Ahras- Algerie" Pour l'evaluation des Conditions de Securite de L'amenagement et des Dangers Potentiels en Aval. Université de Badji Mokhtar Annaba.

P 04.

[16]: Emberger L., (1955). Une classification biogéographique des climats. Rev. Trac. Bot. Géol. Zool. Fase. Sci. Montepellier. France. P 343.

[17]:Federighi M., (2005). Bactériologie alimentaire- compendium d'hygiène des aliments. 2ème édition : Economica. Paris. P 292.

[18]:Guasmi I., Dlabri L., Hani A., Lamouroux C., (2006). Pollution des eaux de l'oued Medjerda par les nutriments. Larhyss Journal. N°05. Pp 113-119.

[19]: Guiraud J. P., (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. France. P 651.

[20]: Guiraud J. P., (2003). Microbiologie alimentaire. Paris. P 99, 101, 133, 354, 374.

[21]: Hamed M., Guettache A., Bouamar L., (2012). Etude des propriétés physicochimiques et bactériologique de l'eau de barrage DJORF-TORBA Bechar. Thèse de Doctorat. Université de Bechar. P 1, 2, 42,42, 43.

[22]: Hidouci S., (2009). Qualité bactériologique des eaux du golf d'Annaba. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. P 132.

[23]: Joffin C., et Joffin G., (2003). Microbiologie alimentaire. C.R.D.P. Aquitaine. P 86.

[24]: Labres E., mouffok F. (2008). Les cours national d'hygiènes et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. Algérie.

P 53.

[25]:Labres E., (2002). Cours national d'hygiène et des microbiologies des aliments «Microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer». Institut Pasteur d'Algérie.P34

[26]: Leclerc, (1996). Microbiologie général. Doin. France. P 368.

[27]: Lightfoot N. F., (2002). Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directive pour l'assurance qualité. France. P 387.

[28]: Mouffok F., (2001). Guide technique d'analyses bactériologiques des eaux de mer. Institut Pasteur d'Alger. P 40.

[29]: Pilet C., Bourdon J. L., Toma B., Marchal N., Balbastre C., Person J. M., (1987). Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne. Doin. France. P 371.

[30]: Potelon et Zysman, (1998). Le guide d'analyse de l'eau potable. France. Pp 79- 213.

[31]: Préscott L. M., Harley J. p., Klein D. A., (2003). Microbiologie. 2ème édition. De Boeck. Paris. P 1163.

[32]: Raven P. H., Georges B., Kenneth A., Jonathan B., (2011). Biologie. Masson. Paris. P 1406.

[33]: 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. 8ème édition. Dunod. Paris. P 1383.

[34]: Rodier J., Legube B., Marlet N., et *coll*., (2009). L'analyse de l'eau. 9ème édition. Dunod. Paris. P 1579.

[35]: Sayad L., (2008). Qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (Wilaya de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. P 125.

[36]: Singleton P., (2005). Bactériologie. Dunod. 6ème édition. Paris. France. P 542.

Webographie :

[37] :www.souk-ahras.info/news/spip.php?109 (Date de consultation : 10/03/2013)

[38] :http://www.wilaya-soukahras.dz (Date de consultation : 12/03/2013)

[39] :http://www.citypopulation.de/php/algeria-admin.php?adm (Date de consultation : 12/04/2013)

[40] : http://www.djazairess.com/fr/elwatan/117304. (Date de consultation : 05/04/2013)

[41] : http://www.elmoudjahid.com/fr/actualites/19211(Date de consultation : 15/04/2013)

[42]:http://www.vitaminedz.com/les-responsable-du-barrage-de-ain-dalia-a-souk-ahras/ Articles_15688_220651_41_1.html. (Date de consultation : 20/05/2013)

[43]:http://www.transactiondalgerie.com/index.php?option=com_content&view=1575%3Aetat-de-65-barrages-en-exploitation-a-travers-le-territoire-national--un-taux-de-remplissage-de-plus-de-62-&Itemid=21 (Date de consultation : 06/05/2013)

[44] :www.soukahrastourisme.com/(Date de consultation : 20/05/2013)

[45] Google earth, (2013). Europa Technologies. Tele Atlas. www.google earth.com (2012/2013)

Annexes

Les milieux de culture en boites :

- <u>Milieu de Chapman :</u>

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

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

Peptone bactériologique…….. 10
Extrait de viande de bœuf ……1
Chlorure de sodium …….75
Mannitol ……..10
Gouge de phénol ……..….0.025
Agar ……..…15
pH =7.5 (environ)

- **Préparation** :

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

- <u>Gélose Hektoen</u> :

La gélose Hektoen est un milieu utilisé pour l'isolement des Entérobactéries. Il permet la différenciation des Entérobactéries pathogènes.

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

Peptone pepsique de viande ……12
Extrait de levure ……3
Chlorure de sodium ……..….5
Thiosulfate de sodium ……..5
Sels biliaires ……. 9
Citrate de fer ammoniacal …… …1.5
Salicine …….2
Lactose …….. 12

Saccharose ……..12
Fuschine acide …… 0.1
Bleu de bromothymol …… 0.065
Agar …… 14
pH = 7.5 (environ)

- **Préparation** :

Verser 76g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer légèrement et laisser bouillir quelques secondes. Ne pas autoclaver. Refroidir à 60°C et couler en boite de Pétri.

- <u>Milieu de Mac Conkey</u> :

L'utilisation de ce milieu est recommandée pour isoler et énumérer les entérobactéries dans les eaux, le lait, les matières alimentaires, les urines. Il peut aussi être utilisé pour la recherche, dans les matières fécales, des *Salmonella*, *Shigella* et des *E. coli* entéropathogènes pour le nourrisson.

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

Peptone bactériologique ……..…20
Sels biliaires ……....1.5
Chlorure de sodium ……..…5
Lactose …… 10
Rouge neutre …… 0.03
Cristal violet ……. 0.001
Agar ……..… 15
pH = 7.1

- **Préparation** :

Verser 51,5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 221°C pendant 15 minutes. Liquéfier au bain-marie bouillant et couler en boite de Pétri. Après solidification, laisser sécher à l'étuve à 37°C (couvercle entrouvert).

- <u>Gélose S.S. (*Salmonella-Shigella*)</u>:

La gélose S.S. est un milieu solide, sélectif pour l'isolement des *Salmonella* et des *Shigella*. Il inhibe totalement la croissance des bactéries à Gram positif et partiellement celle de nombreux coliformes et *Proteus*.

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

Peptone ……..…5
Entrait de viande de bœuf …….5
Sels biliaires …….8.5
Citrate de sodium …….10
Thiosulfate de sodium …… 8.5
Citrate se fer ……. 1
Lactose …….. 10
Rouge neutre ……. 0.025
Vert brillant …….0.00033
Agar …….15
pH : 7.0 (environ)

- **Préparation** :

Verser 63g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Ne pas autoclaver.

Porter à ébullition en agitant fréquemment pour dissoudre l'agar.

Refroidir à 50°C. Mélanger et couler en boite de Pétri.

-<u>Cétrimide</u> :

La gélose Cétrimide est un milieu solide et sélectif, utilisé pour la croissance et l'identification des ***Pseudomonas aeruginosa***. Le cétrimide inhibe la croissance des bactéries autres que le ***P. aeruginosa*** et favorise la production des pigmentations fluorescéine et pyocyanine.

- **Formule (en gramme par litre d´eau distillée) :**

Peptone de gélatine (bovin ou porcin)……20
Chlorure de magnésium……..1.4
Sulfate de potassium……...10
Cétrimide…….0.3
Glycérol……10ml
Agar……..13.6
pH= 7.2

- **Préparation :**

Verser 45.3 g de milieu déshydraté dans 1000 ml d'eau purifiée filtrée. Chauffer en agitant fréquemment et laisser bouillir une minute. Ajouter 10 ml de Glycérol. Stériliser à 121º C pendant 15 minutes. Refroidir à 45–50º C. Mélanger délicatement et distribuer dans des plats de Pétri ou des tubes à culture stériles.

-**Gélose GNAB :**

- **Formule (en gramme par litre d´eau distillée) :**

Peptone…….10 g
Extrait de viande.....3 g
Chlorure de sodium……5 g
Bile de bœuf……....2g
Agar……...8.6 g
pH = 8.6.

- La gélose Sabouraud:

La gélose Sabouraud est un milieu d'isolement des *Fungi* (moisissures et levures).

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

Peptone ……..…….10g
Glucose massé…….20g
Agar…….15g
pH = 6.

- **TGEA Gélose tryptone –glucose-Extrait de levure :**

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

-Tryptone…….5g.
-Extrait de viande de bœuf……3g.
-Glucose……1g.
-Agar…….15g.
-pH final à 25ºC: 7.0 ± 0.2

Les milieux de culture en tubes :

- **Milieu Clark et Lubs**

Ce milieu sert à l'étude de deux réactions :

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

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

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

Peptone ……..5
Phosphate bipotassique ……5
Glucose ……..….5
pH : 7.5 (environ)

Préparation :

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

- **Eau peptonée exemple d'indole :**

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

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

Peptone exemple d'indole ……..10
Chlorure de sodium ……..……5
pH final= 7.2

- **Préparation** :

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

Ajuster, si nécessaire, le pH à 7.2. Répartir puis stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- <u>Milieu de Litsky :</u>

Le milieu de Litsky est utilisé pour la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux.

Cette recherche comprend deux temps : présomption et confirmation. Le milieu de Rothe sert au test présomptif, le milieu de Litsky au test confirmatif.

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

Peptone ……..20
Glucose ……...5
Chlorure de sodium ……5
Phosphate monopotassique ……. 2.7
Azothydrate de sodium ……....0,3
Ethyl-violet …….0.0005
pH final = 6.8 - 7

- **Préparation** :

Mettre 35,7 g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 6,8-7. Répartir à raison de 10 ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

- <u>Milieu mannitol - mobilité - nitrate:</u>

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

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

Peptone ……..20g
Nitrate de potassium ……..…….2
Mannitol ……2
Rouge de phénol à 1% ……..4
Agar ……4
pH final : 8.1- 8.2

- **Préparation** :

Mettre 28g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 8,1- 8,2. Répartir en tubes de façon à obtenir un culot de 6 à 7cm. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- <u>Bouillon de Rothe :</u>

Le milieu de Rothe est utilisé pour la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux.

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

<u>Milieu simple concentration</u>

Peptone …….20
Glucose ……...5
Chlorure de sodium ……5

Phosphate bipotassique ……2.7
Phosphate monopotassique …….2.7
Azothydrate de sodium ……......0.2
pH final= 6.8-7

Milieu double concentration

Peptone …….40
Glucose …….10
Chlorure de sodium ……..10
Phosphate bipotassique ……..…5.4
Phosphate monopotassique ……....5.4
Azothydrate de sodium ……...0.4
pH final= 6.8-7

- **Préparation** :

Pour obtenir le milieu de Rothe « simple concentration », mettre 35.6g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

Pour obtenir le milieu de Rothe « double concentration », mettre 71.2g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. . Ajuster, si nécessaire, le pH à 6.8-7. Répartir à raison de 10ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes.

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

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

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

Sulfate de magnésium ……..…0.2
Citrate de sodium ……2
Chlorure de sodium ……5

Phosphate d'ammonium ……... 0.2
Phosphate d'ammonium monosodique ……0.8
Bleu de bromothymol ……..0.08
Agar ……....15
pH : 7.0 (environ)

- <u>Gélose T.S.I (gélose glucose-lactose- saccharose- H_2S)</u>

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

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

Peptone …….20
Extrait de viande ……3
Extrait de levure …….3
Chlorure de sodium …….….5
Citrate de ferrique ……...0.3
Thiosulfate de sodium …….0.3
Lactose ……..10
Saccharose ……10
Glucose ……..1
Rouge de phénol ……0.024
Agar ……...12
pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : 7.4 ± 0.2.

- <u>Bouillon lactosé bilié au vert brillant :</u>

Bouillon lactosé bilié au vert brillant est utilisé pour recherche et dénombrer les coliformes dans le lait et les produits alimentaires. On l'utilise aussi pour dénombrer *E.coli* au moyen du test de Mackenzie dans les mêmes produits et au cours de l'analyse bactériologique des eaux.

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

Peptone bactériologique …….10

Bile de bœuf ……20
Lactose …….10
Vert brillant ……..0.0133
pH : 7.4 (environ)

- **Préparation** :

Verser 40g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Bien mélanger et répartir dans des tubes contenant une cloche de Durham. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- B.C.P. (bouillon lactosé au bromocrésol- pourpre) :

Le bouillon lactosé au bromocrésol- pourpre est utilisé en bactériologie alimentaire, principalement au cours de l'analyse de l'eau. Il permet de rechercher et de dénombrer les coliformes, par la fermentation du lactose et la production de gaz.

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

Peptone ……..….5
Extrait de viande ……..….3
Lactose ……...…5
Pourpre de bromocrésol ……0.025
pH final : 6.7

- **Préparation** :

Mettre 12g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution.

Ajuster, si nécessaire, le pH à 6.9. Répartir en tube, avec cloche de Durham, à raison de 10 ml par litre. Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

-Bouillon cœur-cervelle

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

- Extrait cœur-cervelle .....17.5 g
- Peptone pancréatique de gélatine .....10.0 g
- Chlorure de sodium.....5.0 g

- Phosphate disodique .....2.5 g
- Glucose .....2.0 g
- pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : 7.4 ± 0.2.

- **King A**

Formule (en gramme par litre d´eau distillée) :

- Peptone de gélatine…….20
- Glycerol……...10
- Sulfate de potassium anhydre…….10
- Chlorure de magnésium anhydre…….1.4
- Agar…….15

- **King B**

Formule (en gramme par litre d´eau distillée) :

-Peptone de gélatine……20
-Glycerol…….10
-Phosphate bi potassique anhydre……..1.5
-Sulfate de magnésium (7H2O)……...1.5
-Agar…….15

- **Urée tryptophane (Urée-Indole)**

-Urée…….2.0g/l
-L-tryptophane…….0.3g/l
-Ethanol à 0,95…….1 ml/l
-Rouge de phénol…….2.5 mg/l
-Chlorure de sodium…….0.5 g/l
-Dihydrogénophosphate de potassium…….0.1 g/l
-Hydrogénophosphate de potassium……0.1 g/l
-pH= 7.

Les réactifs utilisés

- Réactif rouge de méthyle (RM)

Rouge de méthyle ……....0.5g

Alcool à 60° ……100ml

- Réactif de Vosges Proskauer (VP)

Pour la recherche de l'acétoine :

VP1 :

Hydroxyde de potassium ……40g

Eau distillée ……100 ml

VP2 :

Alpha naphtol …… 6g

Ethanol ……...100ml

- Réactif de Kowacks

La mise en évidence de la production d'indole :

Paradimmethylaminobenzaldéhyde ……. 5g

Alcoolamylique ……75g

HCl pur ……. 25ml

- Réactif de TDA

Pour la recherche du tryptophane désaminase

Peptone de fer …….3.4g

Eau distillée ……. 100ml

-Réactif de coloration de Gram :

- **Lugol**

-Iode…….1g

-Iodure de potassium……2g

-Eau distillée……1000ml

- **Violet de gentiane**

-Violet de gentiane……...1g

-Ethanol à 90%……10ml

-Phénol…….2g

-Eau distillée……..1000ml

- **Fuschine**

-Fushine basique……1g/l

-Alcool étylique……..100ml/l

-Phénol……...5 g/l

-Eau distillée…….1000ml.

Tableau Nº 24 : Table de Mac Grady

3 Tubes par dilution					
Nombre Caractéristique	Nombre de cellules	Nombre Caractéristique	Nombre des cellules	Nombre Caractéristique	Nombre des 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		

Tableau Nº 25 : Tableau de lecture de l'APi20E (AmorAbda, 2009)

micro tube	SUBSTRAT	REACTIONS/ENZYME	RESULTATS	
			NEGATIVE	POSITIVE
ONPG	ortho-nitro-phenyl-B-D-galactopyranoside	beta-galactosidase	incolore	jaune
ADH	arginine	arginine dés hydrolase	jaune	rouge / orange
LDC	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orange
ODC	ornithine	ornithine décarboxylases	jaune	rouge / orange
[CIT]	sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	bleu-vert/ bleu
H_2S	Thiosulfate de sodium	production d'H_2S	incolore	noir
URE	urée	uréase	jaune	rouge / orange
TDA	tryptophane	tryptophane désaminase	jaune	noir
IND	tryptophane	production d'indole	incolore	rose
[VP]	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP 1 + VP 2 / 10min	
			incolore	rose/rouge
[GEL]	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	diffusion de pigment noir
GLU	glucose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune/ vert jaune
MAN	mannitol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	sorbitol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
RHA	rhamnose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
SAC	sucrose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	melibiose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdalin	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	arabinose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune
$N0_3$-NO_2	GLU tube	production de NO_2 reduction N_2 gas	*NIT 1 + NIT 2 2-3 min* jaune	rouge

Tableau N° 26 : Tableau de lecture pour l´API 20 NE

Tests	Substrat	Enzymes/Réaction	Résultats	
			Négatif	**Positif**
NO3	Nitrate de potassium	Réaction des nitrates en nitrates	**NIT 1 + NIT 2 / 5mn**	
			Incolore	Rose-rouge
		Réaction 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-ßDgalactopyranoside	ß-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	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

Tableau Nº 27: Tableau de lecture pour l´API 20 C AUX

Tests	Substrats	QTE (mg/cup)
0	Aucun	-
GLU	D-GLUcose	1,2
GLY	GLYcérol	1,2
2 KG	Calcium 2-céto-Gluconate	1,2
ARA	L-ARAbinose	1,2
XYL	D-XYLose	1,2
ADO	ADOnitol	1,2
XLT	XyLiTol	1,2
GAL	D-GALactose	1,9
INO	INOsitol	2,36
SOR	D-SORbitol	1,2
MDG	Méthyl-□ D-Glucopyranoside	1,2
NAG	N-Acétyl-Glucosamine	1,2
GEL	D-CELlobinose	1,2
LAC	D-LACtose (origine bovine)	1,2
MAL	D-MALtose	1,2
SAC	D-SACcharose	1,2
TRE	D-TREhalose	1,2
MLZ	D-MéLéZitose	1,2
RAF	D-RAFfinose	1,9

Tableau N°28 : Tableau de lecture pour l´API Staph

Tests	Réactions/enzymes	Résultats	
		Négatif	**Positif**
o	Aucun (témoin négatif)	Rouge	-
GLU	D-glucose (témoin positif)	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose		
MNE	D-mannose		
MAL	D-maltose		
LAC	D-lactose (bovin)		
TRE	D-tréhalose		
MAN	D-mannitol		
XLT	Xylitol		
MEL	D-mélibiose		
NIT	Nitrate de potassium (Réduction des nitrates en nitrites)	Incolore à rose pâle	Rouge
PAL	ß-naphtyl phosphate (phosphatase alcaline)	Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium (production d´acétoine/Vosges Proskauer	Incolore à rose pâle	Violet à rose
RAF	D-raffinose	Rouge	Jaune
XYL	D-xylose		
SAC	D saccharose		
MDG	Méthyl-□D-glucopyranose		
NAG	N-acétyl-glucosamine		
ADH	L-arginine (arginine dihydrolase)	Jaune	Orange à rouge
URE	Urée (uréase)	Jaune	Rouge à violet

Tableau Nº29 : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température. (Merzoug, 2009).

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

Tableau Nº30 : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique (Merzoug, 2009).

Conductivité électrique (µs/cm)	Qualité des eaux
CE<400	Bonne
400<CE<750	Bonne
750<CE<1500	Passable
1500<CE<3000	Médiocre

Tableau Nº31 : Classifications des eaux d´après leur pH. (Hakmi, 2002 ; Agrigon, 2000)

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

Résumé

Le barrage d'Ain Dalia se situe dans le Nord-Est Algérien à la wilaya de Souk Ahras. Il joue un rôle important dans l'alimentation en eau potable de quelques villes des Wilayas de Souk-Ahras, Oum El Bouaghi, Tebessa et Guelma.

Afin de déterminer la qualité bactériologique de l'eau de barrage d'Ain Dalia, deux prélèvements ont été effectués pendant les mois de Mars et Avril et qui sont bases principalement sur la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale et la recherche des germes pathogènes.

Les résultats des analyses bactériologiques réalisés ont montré des concentrations peut élever en coliformes et streptocoques fécaux qui dépassent largement les directives de l'OMS concernant les eaux destinées à une alimentation en eau potable, ainsi que la présence de germes pathogènes susceptibles de causer des maladies graves (*Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeroginosa, vibrio alginolyticus*, etc.).

Le barrage d'Ain Dalia est fortement pollué et de mauvaise qualité bactériologique, l'exploitation de ces eaux pourrait constituer un risque sanitaire important pour les différents utilisateurs.

Mots clés : Barrage d'Ain Dalia, Souk Ahras, qualité bactériologique, contamination fécale, bactéries pathogènes.

Abstract

The Ain Dalia dam is located in the North-East to the Algerian province of Souk Ahras. It plays an important role in the drinking water of some cities Wilayas Souk Ahras, Oum El Bouaghi, Tebessa and Guelma.

To determine the bacteriological quality of the water dam of Ain Dalia, two samples were made while the months of March and April, which are based mainly on the quantification of bacterial indicators of fecal contamination and the search for pathogens .

The results of bacteriological analyzes performed showed high concentrations may coliform and fecal streptococci that far exceed the WHO guidelines on water intended for drinking water and the presence of pathogens that can cause serious illness (*Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, vibrio alginolyticus,* etc..).

The Ain Dalia dam is heavily polluted and poor bacteriological quality, the use of these waters could be an important health risk for different users.

Keywords: Ain Dalia Dam, Souk Ahras, bacteriological quality, water pollution, bacteriological analysis, fecal contamination, pathogenic bacteria.

ملخص

يلعب سد عين الدالية (ولاية سوق أهراس) دورا هاما في تزويد بعض الولايات بالماء الشروب على غرار ولاية أم البواقي,تبسة و قالمة.

لتحديد النوعية البكتيريولوجية لمياه السد أجريت تحاليل لعينتين خلال شهر مارس وكذلك أفريل استندت أساسا على القياس الكمي لبكتيريا البراز و البحث عن البكتيريا المسببة للأمراض.

كشفت نتائج التحاليل عن تراكيز مرتفعة للقولونيات و العقديات البرازية تفوق بكثير تعليمات منظمة الصحة العالمية في ما يخص المياه الصالحة للشرب، بالإضافة للعديد من البكتيريا الممرضة مثل (*Staphylococcus aureus , Pseudomonas aeroginosa, Vibrio alginoliticus*)

على ضوء ما سبق تعتبر مياه سد عين الدالية شديدة التلوث, واستخدامها يشكل خطر صحي كبير.

الكلمات المفتاحية : سد عين الدالية, سوق اهراس, النوعية البكتيرية , تلوث برازي, بكتيريا ممرضة.