

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

UNIVERSITE 08 Mai 1945 de GUELMA
FACULTÉ DES SCIENCES ET DE L'INGÉNIERIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ÉTUDE
Pour l'obtention du Diplôme de master

BIOLOGIE

Option : Santé, Eau et Environnement

THÈME

**Evaluation de la qualité physico-chimiques et
microbiologique (paramètres physico-chimiques et
bios-indicateurs fécaux) du Lac Oubeira**

Présentées par :

* khalfoune Amina

* zeglami Manel

Membres de jury :

Président : M^{me} Iben Cherif Hayet (Maitre assistante Université de Guelma)

Examineur : Melle Amri .S (Maitre assistante Université de Guelma)

Promoteur : Melle Bidioui. S (Maitre assistante Université de Guelma)

Promotion Juin 2011

Remerciements

Nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé et le pouvoir d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions nos parents pour leur patience, leurs encouragements et leur soutien.

Nous tenons, à remercier les membres du jury de nous faire l'honneur de lire et d'évaluer ce travail. Mme IBEN CHIRIF .H, a leur présidé

Et Melle Amri .S, a leur examinassions

Nos remerciements vont à melle Bidjouï S, d'avoir accepté de nous encadrer, pour ces précieux conseils et sa disponibilité.

Nous remercions également tous les personnes qui nous aident de loin et de proche, surtout Kais et Achref.

Nous remercions aussi à tous les enseignants du département de biologie ainsi qu'à tous les enseignants qui ont participé à notre formation.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I/ Généralité sur les eaux lacustres

I/ Définition des zones humides.....	3
I-1/ Généralité sur les lacs	3
I-1-1/ Définition des lacs	3
I-2/ Le peuplement des lacs	3
I-3/ Les milieux aquatiques et les microorganismes	4
I-4/ Bilan hydrique.....	4
I-5/ Impacte sur les eaux superficielles	4
I-6/ Types morphométriques	5
I-6-1/ Zonation verticale des facteurs physiques	5
I-6-1-1/ La stratification thermique des lacs	5
I-6-2/ Zonation verticale des facteurs physico-chimiques	6
I-7/ Substance dissoutes en eau douce	6
II/ Présentation de la zone d'étude.....	6
II-1 /La région d'El- kala.....	6
II-1-1/ situation géographique	6
II-2/ Lac oubeira	7
II-2-1/Définition	7
II-2-2/ La description du site	7
II-2-3/ Leur position géographique.....	8
II-2-4/ Site de prélèvement	8
II-3/ Justification des Critères Ramsar	9
II-3-1/ Critère 1	9
II-3-2/ Critère 3.....	9
II-4/ Importance Géographique	9
II-4-1 /Flore	9
II-4-2/Faune	9
II-5/ Structure.....	9
II-5-1/ selon les habitats	9
II-5-2/ Selon la biocavite	9
II-5-3 / selon le plan du lac	10
II-6 / Lac oubeira et son bassin versant	10
III/Caractéristiques écologiques	11
IV/ Pollution du lac Oubeira I/Propriétés physico-chimiques des eaux des lacs	11

Chapitre II les paramètres de pollution de l'eau

I-1/ La couleur	12
I-2-/ La turbidité	12
I-3/ Le pH	12
I-4/ La température	12
I-5/ Conductivité.....	12
I-6-/ L'alcalinité (TA-TAC)	12
I-7/ Les phosphate.....	12
I-8-/ Oxygène dissous	14
I-9/ Azote ammoniacale NH_4^+	14
I-10 / Les nitrites NO_2^-	14

I-11/ Matière en suspension	14
II/ Coliformes (totaux) et Fécaux	14
III/ Streptocoques fécaux I/ Une Mesure physico-chimique	14

Chapitre III Matériels et méthodes

I-1/ Mesure de PH.....	16
I-1-1 / Principe	16
I-1-2 / Appareil	16
I-1-3/ Mode opératoire	16
I-2/ Mesure de la conductivité électrique (CE).....	16
I-2-1/ Principe	16
I-2-2/ Matériel	16
I-2-3/ Mode opératoire	16
I-3/ Mesure de la turbidité	17
I-3-1/ Principe	17
I-3-2/Appareils.....	17
I-3-3/ Mode opératoire.....	17
I-4/Mesure de la température.....	17
I-5/ L'oxygène dissous	17
I-6/Détermination du titre Alcalimétrique simple et complet (TA et TAC).....	18
I-6-1/ Principe.....	18
I-6-2/ Réactifs	18
I-6-3/ Mode opératoire	18
I-6-4/TA.....	18
I-6-5/ TAC	18
I-7/ Détermination des phosphates (PO ₄ ³⁻).....	19
I-7-1/ Principe	19
I-7-2/ Appareils	19
I-7-3/ Mode opératoire	19
I-7-4/ Expression des résultats	19
I-8/ Détermination du Nitrites (NO ₂ ⁻).....	19
I-8-1/ Principe	19
I-8-2/ Réactifs	19
I-8-3/ Appareil	19
I-8-4/ Mode opératoire	19
II/ Analyses microbiologiques de l'eau	20
II-1/ Prélèvement et conservation des échantillons	20
II-1-1/ Méthodes de prélèvement.....	20
II-2/ Recherche et dénombrement des coliformes	21
II-2-1/ Mode opératoire	21
II-3/Recherche et dénombrement des streptocoques	23
II-3-1/Mode opératoire	23
III/Recherche bactériologique.....	25
III-1/ Isolement des différentes flores microbiennes de l'eau	25
III-1-1/Milieus de culture	25
III-1-2/Préparation des boîtes de Pétri	25
III-1-3/ Inoculation des boîtes de Pétri	25
III-1-4/ Repiquage	25
III-2/ Identification des germes.....	25
III-2-1/ Identification morphologique	25
III-3/Identification biochimique	26

III-3-1/ Les tests complémentaires	26
III-3-1-1/Recherche de la catalase	26
III-3-1-2/Teste oxydase.....	27
III-3-1-3/Recherche de L'enzyme Bêta-galactosidase (ONPG).....	27
III-4/ Galerie Classique	29
III-4-1/Etude de la mobilité et la fermentation du mannitol.....	29
III-4-2/ Milieu de TSI (trie sugar iron. agar)	30
III-4-3/ Milieu au citrate de Simmons	30
III-4-4/ Test de rouge de méthyle	30
III-4-5/ Test d'indole	30
III-5/ La galerie biochimique Api 20 E	31
III-6 / La galerie API staph	32

Chapitre IV / Résultat et discussion

I / Les Mesure physico-chimique.....	34
I-1/ le potentiel d'hydrogène (pH).....	34
I-2/ la température (Tc°)	34
I-3/ turbidité (NTU)	35
I-4/L'oxygène dissous	36
I-5/ conductivité	36
II/ Mesures chimiques.....	37
II-1/La 'azote ammoniacal (NH ₄)	37
II-2/Nitrite (NO ₂ ⁻).	38
II-3/Phosphate (PO ₄ ⁻³)	38
II-4/ le titre alcalimétrique (TA) et le titre alcalimétrique complet (TAC).....	39
II-5/matière en suspension (MES)	40
III/ Résultats bactériologiques	41
III-1/ Les coliformes fécaux	41
III-2/ Dénombrement des coliformes totaux.....	41
VI/ Résultats des cultures microbiennes.....	42
VI-1/ Prélèvement I	42
IV-2/ Prélèvement II	46
V/ Resultats de l'API	52
V-1/ Résultat de l'API20E.....	52
V-2/ Résultat de l'API staph.....	52

Conclusion

Liste des figures

Figures	Titre	Pages
Figures n° 01	carte du lac Oubeira	8
Figures n° 02	les sites de prélèvements	8
Figures n° 03	Le lac Oubeira épargné par les huiles de vidange.	11
Figures n° 04	recherche et dénombrement des coliformes fécaux	22
Figures n° 05	recherche des streptocoques fécaux	24
Figures n° 06	lecture du résultat de l'ONPG	28
Figures n° 07	Schéma de la galerie Api 20 E	31
Figure n° 08	graphe des variations de pH en fonction des sites	34
Figure n° 09	graphe des variations de température en fonction des sites	35
Figure n° 10	graphe des variations de turbidité en fonction des sites	35
Figure n° 11	graphe des variations d'oxygène dissous en fonction des sites	36
Figure n° 12	graphe des variations de conductivité en fonction des sites	37
Figure n° 13	graphe des variations de NH ₄ en fonction des sites	37
Figure n° 14	graphe des variations de NO ₂ en fonction des sites	38
Figure n° 15	graphe des variations de PO ₄ en fonction des sites	39
Figure n° 16	graphe des variations de MES en fonction des sites	39
Figure n° 17	graphe des variations de TA en fonction des sites	40
Figure n° 18	graphe des variations de TAC en fonction des sites	40
Figure n° 19	graphe des variations de coliformes fécaux en fonction des sites	41
Figure n° 20	graphe des variations des coliformes totaux en fonction des sites	41
Figure I-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN	42
Figure I-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement	42
Figure I-3	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur chap	43
Figure I-2-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN	44
Figure I-2-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur MC	44
Figure I-3-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN	45
Figure I-3-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur MC	45
Figure I-4-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN	45

Figure I-4-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur MC	46
figure II-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC	46
Figure II-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur chap	46
Figure II-3	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Hec	47
Figure II-4	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur GN	47
Figure II-2-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC	47
Figure II- 2-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Chap	47
Figure II-2-3	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Hec	48
Figure II-2-4	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur GN	48
Figure 3-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC	48
Figure II-3-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC	49
Figure II-3-3	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Hec	49
Figure II-3-4	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC	49
Figure II-4-1	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC	50
Figure II-4-2	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Chap	50
Figure II-4-3	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur GN	50
Figure II-4-4	aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Hec	51
Figure 5 -1	galerie biochimique pour <i>E. coli</i> (site 3)	51
Figure 5-2	:galerie biochimique pour <i>Proteus mirabilis</i> (site 1)	51
Figure 5-3	Resultat de l'API 20E pour <i>shigella</i> (site 1)	52
Figure-5-4	Resultat de l'API 20E pour <i>shigella</i> (Site 2)	52
Figure-5-5	Api staph pour <i>pseudomonas fluorescens</i> (Site 4)	52

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Tableau n°01	Rsultat de la galerie biochimique	53
Tableau n°02	Résultat de l'identification bactérienne par système API 20 E	53

Introduction

Introduction Général

L'eau douce est une ressource dont la disponibilité a depuis toujours guidée le développement des formes de vie sur la terre. Elle a également conditionnée et conditionne encore dans une large mesure, la présence et les activités humaines. Le développement économique s'accompagne aujourd'hui d'une augmentation de la consommation d'eau douce qui suscite l'apparition de problèmes liés à la disponibilité ou la qualité de la ressource. [6]

Il existe sous différentes formes, pour répondre à nos besoins biologiques, domestiques et agricoles. Elle est sans doute la ressource qui définit les limites du développement durable. [6]

L'eau ne demeure pas constamment dans le même état ni au même point. Ce qu'on appelle le cycle de l'eau est le résultat de transferts incessants entre les différents réservoirs qui constituent hydrosphère : écologie des eaux courantes, lacs, glaciers et roches poreuses. [2]

L'Algérie dispose d'un ensemble de zones humides, se situant à l'interface entre les milieux aquatiques et les milieux terrestres. Le rôle multifonctionnel (fonction écologique, biologique, d'alimentation, de reproduction, d'abri, de refuge et climatique) de ces zones conduit à leur conférer un statut d'infrastructure naturelle. [20]

Le Nord-est algérien et plus particulièrement la région d'El Kala possède un ensemble de zones humides unique au Maghreb par sa dimension et sa diversité : lacs, étangs, marais, aulnaies, oueds, ... forment une mosaïque de biotopes remarquables où l'on peut voir côtoyer des espèces endémiques, boréales et tropicales dans un secteur qui rassemble plus de la moitié de la faune et de la flore aquatiques du pays. Ces zones sont des milieux vulnérables soumis à une forte pression anthropique intense. Parmi les facteurs de dégradation des zones humides, l'introduction des espèces exotiques est particulièrement redoutable car potentiellement dévastatrice sur les écosystèmes. [20]

Les eaux de surfaces d'une zone humide peuvent se présenter sous forme d'eaux courantes ou d'eaux stagnantes, qui se distinguent par des vitesses d'écoulement respectivement plutôt élevées et plutôt faibles sinon nulles. Cependant, alors même que la distinction entre ces deux types de milieux est intuitive, il est bien difficile de définir une limite nette entre eux en termes de vitesse d'écoulement, car les milieux stagnants sont aussi le siège de mouvements d'eau bien que très lents : un lac de gravière isolé des rivières participe à l'écoulement général de la nappe phréatique environnante et n'est donc pas stagnant.

plus ,les différences de températures entre la surface et le fond provoquent des courants a l'intérieur du plan d'eau.par ailleurs, chacun de ces milieux est par nature hétérogène et on observera des zones d'eau stagnante dans les rivières et des courants dans les lacs. [11]

Les lacs connaissent des écarts de salinité beaucoup plus larges que ceux des mers et à fortiori , de océan allant de L'eau douce extrêmement peu minéralisée à des valeurs de plusieurs centaines de grammes par litre . [21]

Les lacs tonga et oubeira ont été cité sur la liste des zones humides d'importance internationale de la convention RAMSAR. Mais malheureusement la situation en cette région est devenue alarmante avec l'huile de vidange et les eaux usées qui sont déversées dans ces lac et qui sont utilisées par les agriculteurs pour l'irrigation ces pourquoi nous nous proposons d'étudier quelques paramètres physico-chimique et les paramètres de pollution fécales dans les eaux du lac oubeira pour réaliser cette étude on a préparé un mémoire structuré en 3chapitres :

Chapitre I : généralité sur les eaux lacustres.

Chapitre II : Paramètres de pollution

Chapitre III : matérielle et méthode

Chapitre IV: Résultats et discussion.

chapitre II

Généralité sur les eaux lacustre

I/ Définition des zones humides

Au sens de la convention de Ramsar : “Les zones humides sont des étendues de marais, de marécages, de tourbières, d’eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires où l’eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée y compris des étendues d’eau marines dont la profondeur à marée basse n’excède pas six mètres”.

Les milieux humides sont aussi représentés par des chotts et Sebkhass, ainsi que les retenues d’eau artificielles ou barrages remaniés ou créés par l’homme. [25]

I-1/ Généralité sur les lacs

I-1-1/ Définition des lacs

Sont des réservoirs d’eau de surface naturels ou artificiels, de volume et superficie pouvant être très importants. Ils interviennent directement dans le bilan hydrologique par les échanges d’eau avec le sol (relation eau de surface –nappe), en favorisant l’évaporation à leur surface ou encore, en retardant l’écoulement en rivière par laminage. L’étude de ce type de réservoir fait appel à limnologie. [19].

I-1-2/ Les caractéristiques physicochimiques des lacs :

❖ Oligotrophes : possèdent des eaux pauvres en azote et en phosphore. Ils ont peu de phytoplancton et ce dernier est composé de beaucoup de chlorophycées et de diatomées et de peu de cyanophycées. La teneur de l’eau en oxygène dissous y est élevée ; les eaux sont bleues, transparentes. [7]

❖ Eutrophe : riches en substances nutritives (figure : 29.17b).les lacs eutrophes ont habituellement des sédiments chargés de matières organiques. Dans les lacs ayant une stratification thermique, l’épilimnion (couche supérieure chaude) et aérobie, alors que l’hypolimnion (couche inférieure plus froide et plus profonde) est souvent anaérobie (en particulier si le lac est riche en éléments nutritifs).

L’épilimnion et l’hypolimnion sont séparés par une zone de décroissance brutale de température appelée Thermocline qui limite fort le mélange des eaux. [18]

I-2/ Le peuplement des lacs

On peut distinguer divers zones dans un lac.

❖ La zone littorale

- Une ceinture de roseaux (phragmitaie)
- Une ceinture de scirpus

- Une ceinture de nymphéacées et de potamots vers 1 mètre de profondeur.
 - Une ceinture de characées : vers 2 à 3 mètres. Dans les lacs oligotrophes : la végétation est moins dense avec des isoètes, littorella et des characées. La faune est riche et variée avec des crustacés, annélides et de nombreux insectes. [7]

❖ **Lazone sublittorale**

Est une zone de transition qui s'étend jusqu'à 30 mètres environ. Elle est surtout peuplée de lamellibranches, et les chironomides commencent à y prendre de l'importance. La zone profonde n'existe que dans les lacs comme le Léman. [7]

I-3/ Les milieux aquatiques et les microorganismes

Présentent des superficies et volumes très divers. On les trouve dans les endroits aussi différents que le corps humain, les boissons et dans les milieux les plus évidents : les fleuves, les lacs et les océans. En font aussi partie, les zones saturées en eau, de matières que nous considérons habituellement comme des sols. Ces milieux peuvent aller de l'alcalinité à l'acidité extrême. Les températures auxquelles les microorganismes se développent dans les milieux aquatiques, s'échelonnent de 5°C à 15°C vers le bas, jusqu'à 113°C au moins dans les régions géothermiques. [18]

I-4/ Bilan hydrique

La connaissance du bilan hydrique du site est fondamentale pour obtenir une estimation de la production de lixiviats.

L'eau étant le principal vecteur de pollution depuis la décharge. Il est important de quantifier le flux liquide traversant les déchets et participant à l'enlèvement vers l'extérieur des polluants potentiels. L'évaluation du devenir des eaux tombées (ruissellement infiltration, évaporation) est le bilan hydrique. [5]

I-5/ Impacte sur les eaux superficielles

L'émission des polluants vers les eaux de surface (lacs, cours d'eau, zone humide) est conditionnée par les mêmes facteurs que pour les eaux souterraines.

Le transfert vers ces eaux est dicté par les facteurs suivants :

- L'imperméabilité des sols qui favorise le ruissellement au détriment de l'infiltration ;
- L'encombrement de la ligne d'eau (obstacle, rétention, végétation...) qui dicte le temps de transit.
- la distance aux berges. [5]

Durant ce transfert, vers les eaux de surface, une atténuation naturelle de la charge polluante est souvent constatée. Elle peut être très efficace dans les zones

humides ou la présence conjuguée de la strate des macrophytes (joncs, roseaux, végétation hygrophile) et de sole vaseuses très riches en matière organique jouent en faveur d'une dégradation rapide et d'un piégeage des micropolluants. De même, la capacité auto-épuratrice des cours d'eau peut être significative, limitant ainsi le tronçon impacté. [5]

Les impacts types résultent surtout de la mise en solution des polluants solubles, de la sur-multiplication d'une microflore spécifique et d'un déficit en oxygénation du milieu (consommation de l'oxygène dissous par les processus de biodégradation). Ils sont les suivants :

- perte de la qualité des eaux, perte de la potabilité des eaux ;
- perte de la biodiversité (surdéveloppement d'espèces au détriment d'autres) ;
- intoxication de la faune et de la flore par anaérobiose, voire de la chaîne alimentaire par bioaccumulation (micropolluant). [5].

I-6/ Types morphométriques

Les lacs, qui sont caractérisés par la prépondérance de la zone limnétique sur la zone littorale laquelle couvre moins de 10% de la surface totale ;

I-6-1/ Zonation verticale des facteurs physiques

I-6-1-1/ La stratification thermique des lacs

Les pays tempérés ou à climat froid, on observe souvent dans les lacs un premier type de zonation verticale qui résulte de la stratification des couches d'eau de température différente, les eaux chaudes superficielles moins denses constituant l'**épilimnion** et les eaux froides s'accumulant dans le fond –puisque'elles ont le maximum de densité à 4°C et constituant ipso facto la zone profonde (hypolimnion). [19].

En hiver, au contraire, les eaux les plus froides, et a fortiori la glace, sont bien évidemment en surface et l'eau à 4°C occupe le fond. Cette stratification estivale et hivernale se traduit par l'existence d'une thermocline séparant deux domaines thermiques dans le lac. [19].

Cette zone de discontinuité de température est appelée **métalimnion**. On assiste donc en début et en fin de belle saison à une inversion thermique précédée d'une homogénéisation automnale et printanière où la température devient identique à tous les niveaux de la colonne d'eau par suite des mouvements convectifs. On dénomme de ce fait dimictiques de tels lacs. Sous d'autres climats, la stratification thermique peut être constante tout au long de l'année les lacs concernés sont alors dit monomictiques. Dans les

régions tropicales, certains lacs, dits holomictiques, ne présentent pas de stratification thermique des eaux par suite de l'absence de période froide au cours du cycle annuel. [19]

I-6-2/ Zonation verticale des facteurs physico-chimiques

En règle générale, il existe en première approximation une certaine superposition entre zones épilimnétique et euphotique. L'existence d'une zone euphotique va créer dans la colonne d'eau des conditions de pH et surtout de potentiel oxydo-réducteur, radicalement différentes. La teneur en oxygène dissous va être radicalement différente de part et d'autre de la surface et cela d'autant plus que la matière organique morte s'accumule à la surface des vases benthiques va consommer l'oxygène dissous dans les eaux profondes les rendant même en certains cas réductrices. À l'opposé, en surface, l'activité photosynthétique va pendant la belle saison saturer l'eau en oxygène dissous. Il va donc apparaître dans le lac une oxycline, zone de discontinuité où la concentration en oxygène dissous varie rapidement au niveau de celle-ci. [19].

I-7/ Substance dissoutes en eau douce

La salinité est de l'ordre de 1‰. Elle est en fait assez variable quantitativement (plus forte, par exemple, au voisinage des sources thermale) et qualitativement (dépendant des terrains géologiques parcourus). Ce n'est jamais « une eau de mer diluée » les ions principaux sont les ions calcium, responsables de la dureté d'une eau douce (caractère ayant une action sur les organismes qui y vivent, et conditionnant souvent leurs répartitions), ces ions sont dits « non conservatifs » car leur teneur dans l'eau varie au gré des échanges entre cette eau et les organismes vivants qu'elle abrite. [23].

II/ Présentation de la zone d'étude

II-1 /La région d'El- kala

La région d'El-kala est un immense écosystème humide constitué d'une mosaïque d'habitats : marins, lacustres, lagunaires, forestiers..., par sa richesse écosystémique, elle présente une importance évidente sur les plans touristique, économique scientifique.

II-1-1/ situation géographique

La région d'El-kala est située à l'extrême nord-est de l'Algérie (tell nord-oriental). Selon Marre (1987), elle présente deux ensembles structuraux : les monts gréseux de la Cheffia et leur prolongement jusque vers le Cap Rosa, et la terminaison orientale de la plaine d'Annaba occupée par le lac de la Mekhada.

Deux principaux cours d'eau drainent la région : l'oued Bounamoussa à l'Ouest et l'oued Kbir à l'Est, qui convergent vers le marais de la Mekhada avant de rejoindre la mer par l'intermédiaire d'un exutoire unique : l'oued Mafragh.[24]

Le complexe de zones humides du Parc National d'El Kala, situé à l'extrémité nord-orientale de l'Algérie, comprend les lacs Tonga Oubeira et la lagune El Mellah. [10].

II-2/ Lac oubeira

II-2-1/Définition

Oubeira appartient aux zones humides qui se caractérisent par la présence, permanente ou temporaire, en surface ou à la faible profondeur dans le sol, d'eaux disponibles douces, saumâtres ou salée. [18].

II-2-2/ La description du site

Le lac obéirai est plan d'eau douce de moins de 6m de profondeur, situé à 5km au sud-ouest d, El-kala et 54km à l'est d'Annaba ses coordonnées géographiques au centre du plan d'eau sont 36 50 695 nord-8 23 272 Est. Il est distant de 2, 3km du mellah qui se trouve au nord ouest. [4].

C'est un site de 2200ha, profond de 4 mètres au maximum. Il s'inscrit dans un quadrilatère de 5x4km et développe 19km de rives.

Il est alimenté par quatre cours d'eau importants : l'oued demet rihana au nord, l'oued boumerchêne au nord-est l'oued deyelgaraa à l'est et l'oued messieda au sud.

En hiver, à l'occasion des fortes précipitations, les eaux de l'oued el-kebir parviennent au principalement par l'oued Messida. En été, quand le niveau de l'oued el-kebir est au plus bas, le système hydrologique fonctionne en sens inverse, l'oued messied ayant cette singularité de couler dans les deux sens selon la crue ou l'étiage. [4].

Oubeira est très important pour l'hivernage des oiseaux d'eau et a un degré moindre pour la nidification de quelques espèces rares, il abrite une flore aquatique intéressante dont la châtaigne jaune (*Trapa natans*) le nénuphar blanc *nymphaea alba* et l'unique station du Nénuphar jaune (*Nuphar luteum*). C'est également le lieu d'une pêche artisanale [14]



Figure 1: carte du lac Oubeira

II-2-3/ Leur position géographique

Tonga (36°51.511'N ; 8°30.100'E), Oubeira (36°50.695'N ; 8°23.272'E).[10]

II-2-4/ Site de prélèvement

Le Lac Oubeira, (Lat. 36 50'E; Long. 8 23' N) présente une superficie de 2200 ha et une profondeur maximale de 2,5 m. Sur le plan international (Convention RAMSAR – Zones Humides – 1971), cette réserve d'eau douce possède le statut de Zone Intégrale au sein du PNEK. [12].



Figure 2: les sites de prélèvements

II-3/ Justification des Critères Ramsar :

II-3-1/ Critère 1 : Le lac Oubeïra est un bon exemple d'une zone humide représentative, rare et unique de type de zone humide naturelle de la région méditerranéenne se situant dans un complexe de zones humides qui viendrait en troisième position après ceux du Delta de l'Ebre, en Espagne et la Camargue en France.[13].

II-3-2/ Critère 3:

Le lac Oubeïra abrite des populations d'espèces animales et végétales parmi lesquelles Plusieurs sont rares. Une ceinture d'Hélophytes indispensable à la nidification des oiseaux D'eau. Parmi les espèces rares et très rares, nous citons: la châtaigne d'eau *Trapa natans* (Unique station en Algérie), le Nénuphar blanc *Nymphaea alba*, le Nénuphar jaune *Nuphar luteum*, dont le site est désormais la seule station nord-africaine pour cette espèce qui auparavant existait aussi au niveau du Lac Noir, situé au nord-ouest de l'Oubeïra, aujourd'hui sec. Le Polygonome *Polygonum senegalense*, le Scirpe incliné *Scirpus inclinatus*, et l'Utriculaire *Utricularia exoleta*. [13].

II-4/ Importance Géographique

Selon deux critères :

II-4-1 /Flore :

Le lac Oubeïra est le seul site algérien abritant la châtaigne d'eau *Trapa natans* et le nénuphar jaune *Nuphar luteum*. On note également le nénuphar blanc *Nymphaea alba*, le Scirpe incliné *Scirpus inclinatus*, le *Sparganium erectum* et le Rubanier rameux *Zanichelia palustris*. [13]

II-4-2/Faune : Le lac Oubeïra abrite plusieurs espèces aviaires, parmi lesquelles nous citons la Talève sultane *Porphyrio porphyrio*, l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala*, le Fuligulenyroca *Aythya nyroca*, l'Ibis falcinelle *Plegadis falcinellus*, l'Oie cendrée *Anser anser*, le Flamant rose *Phoenicopterus ruber*, le Grand cormoran *Phalacrocorax carbo*, le Blongiosnain *Ixobrychus minutus*, et le Balbuzard pêcheur *Pandion haliaetus*, etc.

Les Mammifères sont notamment représentés par la loutre *Lutra lutra*. [13]

II-5/ Structure

II-5-1/ selon les habitats

- **benthal :** Zone du fond d'un lac. [14]
- **Littoral :** la partie atteinte par la lumière de la zone benthique = zone rives d'un lac d'un lac. [14]

- **Profondal** : la partie sombre de la zone benthique=zone des eaux profondes d'un lac. [14]
- **Pélagial** : espace d'eau au centre du lac.
- **Zone euphotique** : couche superficielle d'un lac laissant pénétrer jusqu'à 1% de la luminosité n profondeurs 100%=intensité directement sous la surface. [14]

II-5-2/ Selon la biocavite

- **Zone trophogène** : zone de surface d'un lac atteinte par la lumière à production organique (excédentaire). Zone de constitution, zone pélagique supérieure (épipélagique) et littorale.[14].
- **Zone tropholytique** : Zone n profondeur d'un lac, dans laquelle les substances organiques se dégradent, se situe sous le niveau de compensation (hypopélagique et profondal). [14].

II-5-3 / selon le plan du lac

- **Epilimnion** : c'est la couche d'eau en surface.
- **Hypolimnion** : la zone de transition de température entre la surface et les zones plus profonde est appelé métalimnion ou thermocline. [14]

II-6 / Lac oubeira et son bassin versant

Le bassin versant du lac oubeira, d'une superficie de 12500ha, fait partie de la zone lacustre d'el-kala.

Sa limite nord s'étend d'est en ouest de l'altitude 170m à 182m. Cette ligne de crête, légèrement sinueuse ou culmine le Kef trébiche à 256 mètres marque la limite avec le bv du mellah. [4].

La bordure ouest du bassin versant progresse vers le sud en longeant les sommets du djebel oubeira (100 m) jusqu' au voisinage de fedj zana(91 m) avant d'être relayés dans la partie sud par les djebels ach lahmar (138 m) et hellilif (189 m) qui constituent les flancs ouest de l'oued messida. [4].

A l'est, le bassin versant est formé d'une bordure plane qui s'étale au pied du djebel Boumerchène (184 m) au nord-est. [4].

III/Caractéristiques écologiques

Le site présente une organisation spatiale typique d'une végétation en ceintures dont la plus grande partie est colonisée par des herbiers flottants. En été, les ceintures de végétation, bien visibles sont pratiquement ininterrompues tout autour du lac. Les plus larges, environ 400 m, sont formées essentiellement de Phragmites, Thypha et Scirpes et les herbiers flottants par la châtaigne d'eau et des myriophylles et ceratophylles. Considéré comme un site d'hivernage par excellence, c'est également un lieu de nidification pour plusieurs espèces d'oiseaux. [25].

IV/ Pollution du lac Oubeira

EL-TARF- Une importante flaque d'huile de vidange a été découverte lundi au niveau du pont-vanne de l'Oued Bouhchicha qui se jette dans le lac Oubeira, a-t-on indiqué au parc national d'El-Kala. Des traînées de ce produit, très dangereux pour l'environnement, ont été également observées tout au long des rives de cet Oued et des terres agricoles environnantes. Cette situation a entraîné la mort d'une importante quantité de poissons ainsi que des oiseaux d'eau, alors que d'autres volatiles se sont retrouvés englués dans cette nappe visqueuse et extrêmement polluante qui s'est répandue dans le lac Oubeira, a-t-on précisé. [26]



Figure 3 :Le lac Oubeira épargné par les huiles de vidange.[27].

Chapitre III

Les paramètres de pollution

I/Propriétés physico-chimiques des eaux des lacs

I-1/ La couleur

La coloration d'une eau est dite vraie ou réelle lorsqu'elle est due aux seules substances en solution. Elle est dite apparente quand les substances en suspension y ajoutent leur propre coloration. Les couleurs réelles et apparentes sont approximativement identiques dans l'eau claire et les eaux à faible turbidité. La couleur permet de donner une idée sur la composition qualitative de l'eau. En fonction de la turbidité, de la présence de plancton, des matières en solution (acides humiques, fer, manganèse, rejets industriels...). Des saisons elle pourra virer au vert, jaune ou brun. (16)

I-2-/ La turbidité

La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspension finement divisés : argile, grains de silice, limon, matières organiques, etc. Elle donne une idée sur la quantité des matières en suspension contenues dans l'eau, plus la charge des matières en suspension est élevée plus la turbidité est remarquable, elle est liée à la couleur qui est elle-même liée aux matières en suspension. (22)

I-3/ Le pH

Le pH est une mesure de l'activité des ions d'hydrogène (H^+) contenus dans l'eau, il correspond au logarithme de la concentration des ions H^+ .

L'échelle du pH varie entre 0 et 14, soit une forte acidité (0) et une base forte (14). Une eau légèrement acide sera entre 6,5 et 7 tandis qu'une eau légèrement alcaline sera entre 7,2 et 8,3.

La valeur du pH donne donc une idée de son alcalinité et de sa teneur en CO_2 (Il faut toutefois faire attention, une eau qui a un pH 7 peut être agressive si la dureté et l'alcalinité sont faibles). (22)

I-4/ La température

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout les gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels, etc.

La température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air, et ceci d'autant plus que leur origine est moins profond. (22)

I-5/ Conductivité

La conductivité de l'eau est en fonction de son contenu en ions, spécialement de leur capacité à conduire l'électricité. La conductivité de l'eau est directement liée à la concentration des impuretés présentes dans l'eau sous forme ionique dont sa mesure est influencée par le pH et la température. Il est aussi possible de déduire le résidu sec filtrable par la conductivité.

Il existe une relation entre la teneur en sels dissous dans une eau et la conductivité. Elle donne une idée sur le degré de minéralisation de l'eau, pour les eaux de minéralisation moyenne la conductivité est comprise entre 333 et 833 us/cm.(22)

I-6-/ L'alcalinité (TA-TAC)

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence d'hydrogénocarbonates (**HCO₃⁻**), de carbonates (**CO₃²⁻**), d'ions hydroxydes (**OH⁻**) .elle est mesurée par 2 paramètres ;

- > le titre alcalimétrique ou TA : mesure la teneur de l'eau en alcalis libres et en carbonates alcalis caustiques.
- > le titre alcalimétrique complet ou TAC : correspond à la teneur de l'eau en alcalis libre, carbonates et hydrogénocarbonates, c'est la somme des ions **OH⁻** et **CO₃²⁻**.

Dans les eaux naturelles l'alcalinité exprimée en **HCO₃⁻**, varie de 10 à 350mg/l.

I-7/ Les phosphate :

Les phosphates font partie des anions facilement fixés par le sol, leur présence naturelle dans les eaux est liée aux caractéristiques des terrains traversés et à la décomposition de la matière organique. Des teneurs supérieures à 0,5mg/l doivent constituer un indice de pollution

Les eaux de surface peuvent être contaminées par les rejets industriels (industries agroalimentaires, laveries, etc..) et domestique ou par le lessivage des terres cultivées renfermant des engrais phosphatés ou traitées par certains pesticides.

Le phosphore joue un rôle important dans le développement des algues, il est susceptible de favoriser leur multiplication dans les eaux des lacs, ou il contribue à l'eutrophisation. (22)

I-8-/ Oxygène dissous

Dans les milieux à faible taux de renouvellement (lacs, retenues des barrages, baies, etc.)

La teneur en oxygène dissous a tendance à diminuer avec la profondeur. Quand la température s'élève, la teneur en oxygène diminue en raison de sa plus faible solubilité.

Ainsi peut favoriser la réduction de nitrates en nitrites et des sulfates en sulfures. Ces modifications peuvent entraîner des goûts et des odeurs désagréables à cause de la consommation accrue par les être vivants et les microorganismes. [21]

I-9/ Azote ammoniacale NH_4^+

L'azote ammoniacal des eaux superficielles peut avoir pour origine: La matière végétale des cours d'eau, la matière organique animale ou humaine, les rejets industriels, les engrais, etc. Sa présence est à rapprocher des autres éléments azotés identifiés dans les eaux : nitrates et nitrite. [21]

I-10 / Les nitrites NO_2^-

Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, la nitrification n'étant pas conduite à son terme, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiant. [21]

I-11/ Matière en suspension

La teneur et la composition minérale et organique des matières en suspension dans les eaux sont très variables selon les cours d'eaux (sables, boues, particules organiques, plancton, etc.). Elle est fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de la pluviométrie, des travaux, des rejets, etc.

II/ Coliformes (totaux) et Fécaux

La recherche et le dénombrement des coliformes (totaux) et fécaux comprennent deux méthodes classiques:

-l'une, par **filtration sur membrane** pour les eaux peu polluées.

-L'autre, par **ensemencement en milieu liquide (MacGrady)** pour les eaux chargées en matières en suspension (eau de surface..), fondée sur la norme. Cette méthode est employée dans cette manipulation.

III/ Streptocoques fécaux

Plus précisément, il s'agit de *streptocoques*. Les *streptocoques* fécaux sont des cocci Gram positif, formant quand ils sont cultivés en milieu liquide diplocoques, des chainettes. Ils sont catalases négatives et possédant un antigène de groupe D. cet antigène correspond

au polyside C pariétal, caractéristique des streptocoques et support de la spécificité du groupe.

La recherche et le dénombrement des "*streptocoques fécaux*" sont réalisées suivant deux méthodes classiques:

-l'une, par filtration sur membrane pour les eaux peu polluées, fondée sur la nouvelle norme AFNOR XP T 90-416 (MARS 1996) pour la recherche et le dénombrement des entérocoques. Elle est applicable aux eaux douces.

-L'autre, par **ensemencement en milieu liquide** de pour les eaux riches en matières en suspension (eau superficielles,...), fondée sur **la norme AFNOR BF T 90-411**. Cette est utilisée dans cette manipulation. [9]

chapter III

**Matériels et
méthodes**

I/ Une Mesure physico-chimique

I-1/ Mesure de PH

I-1-1 / Principe

Le PH est en relation avec la concentration des ions hydrogène (H) présents dans l'eau. La différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence. Plongeant dans une même solution neutre. Le potentiel de l'électrode est lié à l'activité des ions (H).

I-1-2 / Appareil : PH mètre

I-1-3/ Mode opératoire

- prendre environ 100 ml d'eau à analyser.
- Mettre un agitateur avec une faible agitation.
- Tremper l'électrode dans le bécher.
- Laisser stabiliser un moment avec une faible vitesse d'agitation.
- Noter le PH. (NFT90-800)

I-2/ Mesure de la conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1cm² de surface et séparées l'une de l'autre de 1cm.

Elle est l'inverse de la résistivité électrique.

L'unité de conductivité est le Siemens par mètre (S /m).

La conductivité électrique d'une eau s'exprime généralement en microsiemens par centimètre (μ /cm). La relation entre la résistivité et la conductivité est la suivante :

$$\text{Résistivité (} \Omega \cdot \text{cm)} = 1000000 / \text{conductivité}(\mu\text{S/cm)}$$

I-2-1/ Principe

Mesure de la conductance électrique d'une colonne d'eau délimitée par deux électrodes de platine (Pt) maintenues parallèles.

I-2-2/ Matériel : Conductimètre ou multi paramètre.

I-2-3/ Mode opératoire

- D'une façon générale, à l'aide d'une verrerie rigoureusement propre et rincée, avant usage avec l'eau distillée.
- Rincer plusieurs fois la cellule à conductivité, d'abord avec l'eau distillée puis en la plongeant dans récipient contenant de l'eau à examiner ; Faire la mesure dans un

deuxième récipient en prenant soin que les électrodes platine soient complètement émergées.

-Ajouter le liquide afin que la concentration ionique entre les électrodes soit identique à celle du liquide ambiant cette agitation permette aussi d'éliminer les bulles d'air sur l'électrode.

-Le résultat est donné directement en $\mu\text{s/cm}$. (NFT90-031).

I-3/ Mesure de la turbidité

La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspension finement divisées :

Argiles, limon, grains de silice, matière organique.....etc.

I-3-1/ Principe

Comparaison de la lumière diffusée et la lumière transmise par l'échantillon d'eau et par une gamme étalon constituée de solution de formazine.

I-3-2/ Appareils : -Turbidimètre

-Cuvette d'évaluation de la transparence constituée d'une cuvette de verre incolore de 50mm de diamètre.

I-3-3/ Mode opératoire

Remplir une cuvette de mesure propre et bien essuyer avec du papier hygiénique avec l'échantillon à analyser bien homogénéisé et effectuer rapidement la mesure, il est nécessaire de vérifier l'absence de bulle d'air avant la mesure.

La mesure est obtenue directement en NTU. (NFT90-033)

I-4/Mesure de la température

La mesure de la température est effectuée sur terrain.

On utilise souvent un thermomètre ; la lecture est réalisée après une immersion de 10 minutes. La moyenne de deux lectures donne la température de l'eau au moment de l'observation.

I-5/L'oxygène dissous

L'oxygène, toujours présent dans l'eau, n'en est pas un élément constitutif. Sa solubilité est en fonction de la température et la pression partielle dans l'atmosphère et de la salinité.

L'oxygène dissous conserve ses propriétés oxydantes, soit par des phénomènes électrochimiques, d'où son importance dans les phénomènes d'arrosions. La teneur de l'oxygène dans l'eau dépasse rarement 10ml/l.

I-6/Détermination du titre Alcalimétrique simple et complet (TA et TAC)

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence des hydrogénocarbonates, carbonates et hydroxydes.

Le titre alcalimétrique ou TA mesure la teneur de l'eau en alcalis libre et en carbonates alcalins caustiques.

Le titre alcalimétrique complet ou TAC correspond à la teneur de l'eau en alcalins libre, carbonates et hydrogénocarbonates.

I-6-1/ Principe

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un volume d'eau par un acide minéral dilué en présence d'un indicateur coloré.

I-6-1-1/ Réactifs

- Acide chlorhydrique ou sulfurique N/50.
- Solution de phénolphtaléine dans l'alcool à 0,5%.
- Solution de méthylorange à 0,5%.
- Eau permutée exempte d'anhydrique carbonique libre (par ébullition de 15 mm).

I-6-2/ Mode opératoire

I-6-2-1/ TA

- 100ml d'eau à analyses
- 2à 3 gouttes de phenolphthalein.
- ✓ Si une coloration rose apparaît avec l'H₂SO₄ (N/50) jusqu'à la disparition de la couleur.
- ✓ Si la couleur n'apparaît pas TA =0 (PH < 8.3=>TA=0.

Expression des resultants

$$TA(F^\circ) = V (H_2SO_4)_{\text{titré}}$$

I-6-2-2/ TAC

- 100 ml d'eau à analyser
- 2à3 goutte de méthylorange à 0.5%
- Titre par l'H₂SO₄ (N/50) jusqu'au virage rouge orange.

Expression des résultats

$$TAC (F^\circ) = V (H_2SO_4)_{\text{titré}} \cdot 0.5$$

I-7/ Détermination des phosphates (PO₄³⁻)

I-7-1/ Principe

Formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium
Réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente une valeur maximale d'absorption l'une vers 700 nm.

I-7-2/ Appareils : Spectrophotomètre UV. Visible

I-7-3/ Mode opératoire

20 ml d'eau à analyser.

1 ml acide ascorbique

04 ml de la solution Molybdique

Attendre 10 mn le développement de la couleur bleue.

Effectuer la lecture à une longueur d'onde de 700nm.

I-7-4/ Expression des résultats

Le résultat est donné directement en mg/l.

I-8/ Détermination du Nitrites (NO₂⁻)

Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, la nitrification n'étant pas conduite à sa teneur, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiant. [21]

Une eau qui renferme des nitrites est considérée comme suspecte car lui, est souvent associée une détérioration de la qualité microbiologique.

I-8-1/ Principe

Les nitrites réagissent avec le sulfamide pour former un composé diazoïque qui, après copulation avec le N-1Naphytlethylénediamire dichloride donne naissance à une coloration rose mesurée à 543nm.

I-8-2/ Réactifs

Réactif de mixte.

I-8-3/ Appareil : spectrophotomètre UV- Visible

I-8-4/ Mode opératoire

-prendre 50 ml d'eau à analyser.

-ajouter 1 ml du réactif de diazoïque. –attendre 10 mm.

L'apparition d la coloration rose indique la présence des NO₂⁻

- Effectuer la lecture a543nm.

- le résultat est donné directement en mg/l. (ISO5667). [14].

II/ Analyses microbiologiques de l'eau

Les analyses microbiologiques ont pour objectif de mettre en évidence la présence ou l'absence des bactéries ou des microorganismes eucaryotes qui modifient la qualité organoleptique d'une eau. L'analyse microbiologique fait appel à diverses techniques de dénombrement basées pour la plupart sur l'obtention de culture à partir des cellules présentes dans le milieu. On oppose souvent une analyse quantitative qui détermine un nombre de germes par "ml" de l'eau; test de présence et d'absence de microorganismes. [15]

Les analyses microbiologiques ont été réalisées au niveau de laboratoire de microbiologie du département de Biologie de l'université de Guelma. Au cours de ces analyses nous avons respecté toutes les conditions d'hygiène et de stérilisation afin d'éviter toute contamination possible.

Avant d'entamer l'analyse de chaque échantillon, il faut agiter le flacon contenant la solution mère, pour mettre les organismes y existant en suspension. [6]

II-1/ Prélèvement et conservation des échantillons

II-1-1/ Méthodes de prélèvement

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Il faut utiliser des flacons en verre avec des bouchons en aciers stériles. [15].

D'une contenance de 250 ml, préalablement lavés, rincés, et étiquetés. Pour les analyses bactériologiques, les flacons sont stérilisés par la chaleur au four Pasteur à 180 °C, pendant 90 minutes ou à l'autoclave pendant 15 min à 120 °C ou dans des flacons en matière plastique à usage unique .[9].

Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. [15].

L'agent responsable du prélèvement devra recueillir le maximum de renseignements en relation avec la qualité bactériologique de l'eau : origine de l'eau, nature du captage, nature du traitement éventuel, causes probables de contamination, température lors du prélèvement. [6].

le flacon est refermé dans les conditions aseptiques requises jusqu'au moment de l'analyse bactériologique [6].

II-2/ Recherche et dénombrement des coliformes

II-2-1/ Mode opératoire

➤ Dilutions

Agiter vigoureusement l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes et réaliser immédiatement des dilutions successives à partir de l'échantillon en utilisant des tubes de 9 ml d'eau distillée stérile jusqu'à la dilution désirée.

Ensemencement et incubation du milieu présomptif (BCPL)

- Introduire 10 ml d'échantillon bien homogénéisé dans 2 tubes de milieu présomptif (bouillon lactose au BCP) simple concentration. On appelle série I.
- Introduire 1 ml d'échantillon dilué dans chaque tube.
- Prendre ensuite 3 tubes à essai du même milieu simple concentration et réaliser la même opération pour chaque dilution. On appelle série II.
- Prendre ensuite 5 tubes à essai du même milieu, série III.
- Incuber les tubes ensemencés à l'étuve à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 24 à 48 heures s'ils ne peuvent être considérés comme positifs au bout de 24 heures.
- Considérer comme positifs les tubes qui, après 24 h ou 48 h d'incubation, nous observons un trouble lié au développement bactérien, un dégagement gazeux notable dans la cloche de Durham due à la production de gaz par fermentation du lactose, ainsi qu'un virage au jaune de l'indicateur. [6].

➤ Test confirmatif : ensemencement du milieu eau peptonée exempte d'indole

✎ Technique

Prélever à l'aide d'une anse bouclée stérile une goutte à partir d'un tube positif de BCPL, et ensemencer le milieu eau peptone, l'incubation se fait à 44 °C pendant 24 heures **comme la montre la figure**. Dans les tubes montrant un trouble, ajouter quelques gouttes de réactif de Kowacks.

✎ Lecture

Une réaction est considérée positive correspond à la formation d'anneau rouge

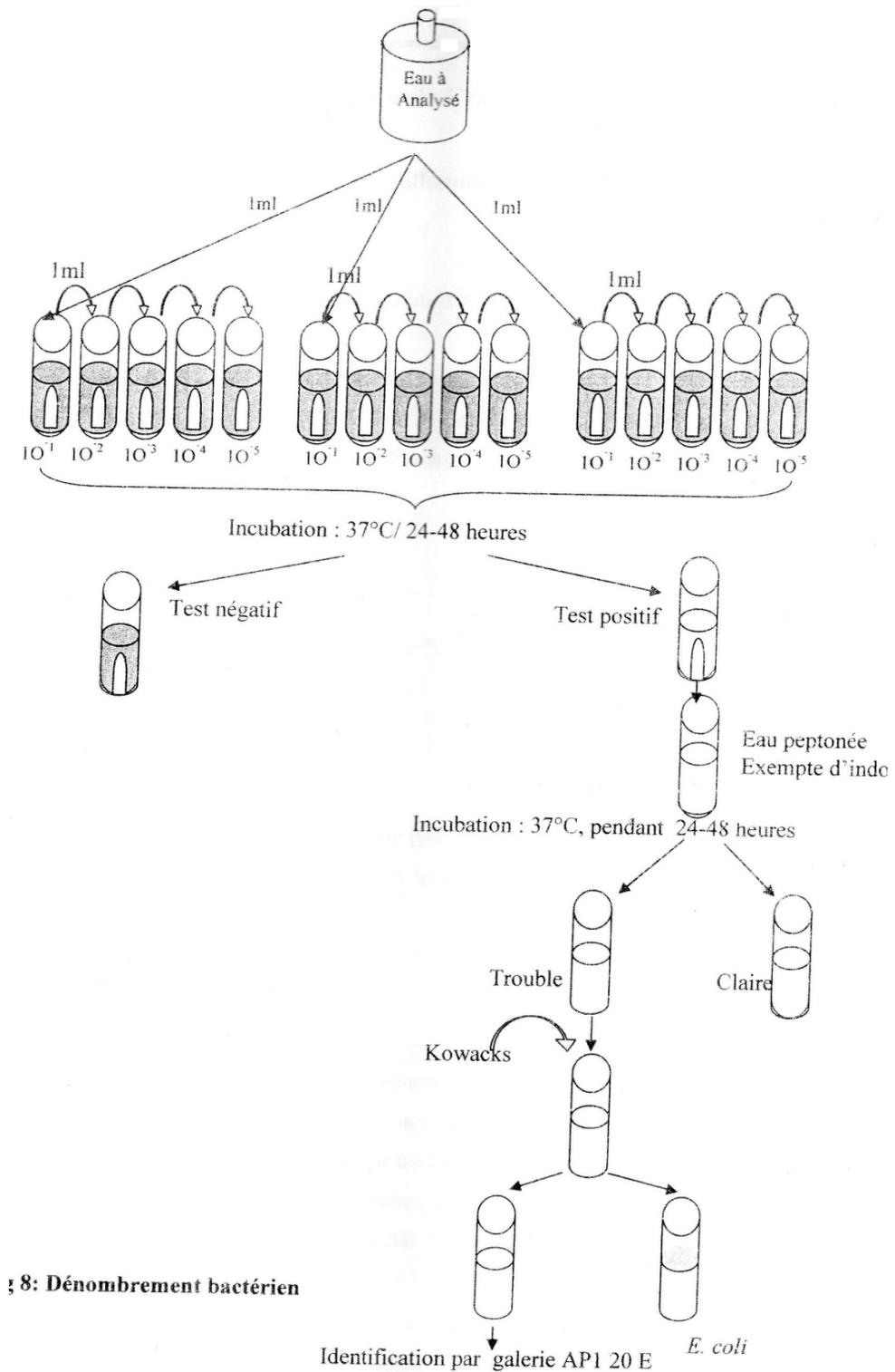


Figure 4: recherche et dénombrement des coliformes

II-3/Recherche et dénombrement des streptocoques

✎ Principe

Les microorganismes donnant une réaction positive en 48 h à 37 °C dans un bouillon lactose bilié sur un milieu de Litsky.

II-3-1/Mode opératoire

➤ Ensemencement des milieux présomptifs : (milieu Rothe)

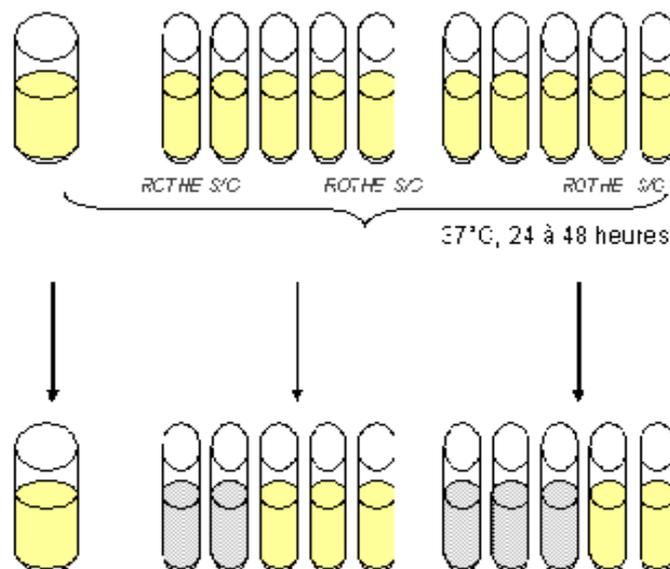
- Prendre ensuite 6 tubes du même milieu simple concentration et transférer dans chacun 1 ml d'échantillon dilué.
- Incuber les tubes à 37 °C pendant 24 à 48 h (s'ils ne peuvent pas être considérés comme positifs au bout de 24 h).
- Considérer comme positifs les tubes pour lesquels nous observons un trouble dû à une croissance bactérienne.

➤ Ensemencement et incubation des milieux confirmatifs

- A partir de chaque tube positif, ensemercer, à l'anse calibrée, un milieu de litsky.
- Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 h.

✎ Lecture

Sur le milieu Litsky, la présence de streptocoque se caractérise par l'apparition d'un trouble dû au développement bactérien, avec ou sans dépôt violet.



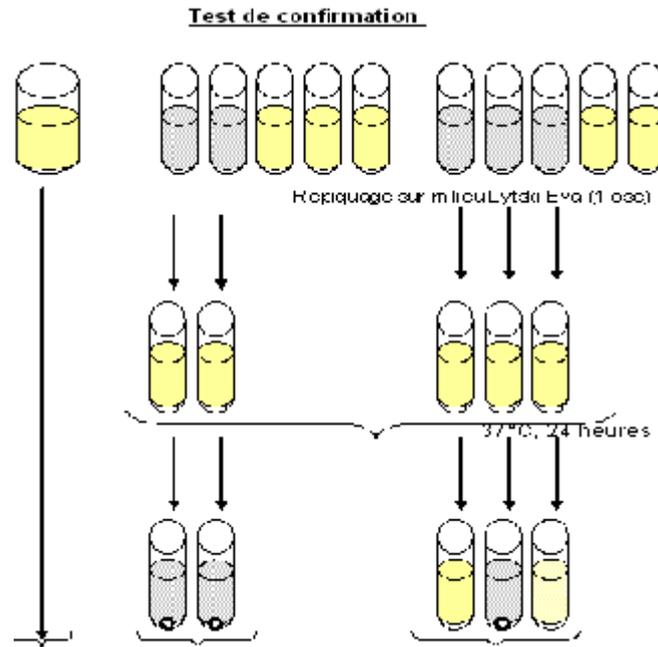


Figure 5 : recherche des streptocoques fécaux

III/Recherche bactériologique

III-1/ Isolement des différentes flores microbiennes de l'eau

III-1-1/Milieus de culture

Nous avons utilisé pour cela 4 milieux de culture qui permettent le développement de groupes microbiens caractéristiques.

☞ **Gélose nutritive**

La gélose nutritive est un milieu d'isolement ordinaire permettant la croissance des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières. Nous l'avons utilisé comme témoin et pour permettre l'isolement de toutes les bactéries Gram – et Gram +. [1].

☞ **Gélose Mac Conkey**

Il s'agit d'un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des bacilles Gram -. Il est employé entre autre pour la culture des Entérobactéries. [1].

☞ **Gélose Chapman**

La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol, sa teneur en NaCl est élevée pour cela nous l'avons utilisé pour l'isolement des staphylocoques. [1].

Gélose Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu d'isolement des Salmonelles et des Shigelles, bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur ce milieu. L'identification d'entérobactéries pathogènes repose sur la non utilisation des glucides présents dans le milieu.

III-1-2/Préparation des boîtes de Pétri

Les flacons contenant la gélose sont portés au bain-marie à 100 °C jusqu'à fusion complète du milieu, puis coulés aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles et laisser refroidir sur la paillasse température ambiante.

III-1-3/ Inoculation des boîtes de Pétri

L'échantillon d'eau à analyser est agité et diluée jusqu'à 10^{-6} et l'ensemencement par stries à la surface du milieu gélosé à l'aide d'une anse de platine stérile. Les boîtes ensemencées sont ensuite scotchées et incubées à 37 °C pendant 24 heures.

III-1-4/ Repiquage

Après incubation, nous avons observé sur les boîtes ensemencées des colonies de taille, de forme et de couleurs différentes. Réaliser des repiquages successifs sur la gélose standard, jusqu'à l'obtention des colonies bien isolées. [6]

III-2/ Identification des germes

L'identification des souches bactériennes isolées de nos eaux s'est basée sur

L'étude morphologique (macroscopique et microscopique) et la recherche de certains caractères biochimiques.

III-2-1/ Identification morphologique

- **Examen macroscopique**

Ce test vise à avoir la taille, l'aspect, le contour, la surface, l'élévation et la couleur des colonies sur les boîtes de Pétri après incubation à 37 °C pendant 24 h.

- **Examen microscopique (Coloration de Gram)**

L'examen de préparation microscopique révélé par la coloration différentielle de Gram permet de faire la distinction entre les bactéries Gram + et les bactéries Gram – et de connaître le mode de regroupement et la morphologie des bactéries.

Principe

Le violet de Gentiane se fixe sur des composants cytoplasmiques et colore toutes les bactéries en violet. Chez les bactéries à Gram -; la paroi riche en lipides laisse passer

l'alcool qui décolore le cytoplasme alors que chez les bactéries à Gram +, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet. [01].

Technique

✓ **Préparation du frottis bactérien**

Ajouter une goutte d'eau distillée stérile sur une lame propre, puis grâce à l'anse de platine stérile prendre une colonie bactérienne à partir de la culture sur les milieux précédents. Mélanger avec la goutte d'eau distillée avec passage rapide sur la flamme du bec Bénédict.

✓ **Coloration simple :** Recouvrir le frottis par le violet de Gentiane ; laisser agir une minute.

✓ **Fixation et mordantage :** Verser le Lugol et le laisser agir pendant une minute.

✓ **Décoloration :** Laver la lame avec l'alcool éthylique jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis puis rincer à l'eau de robinet.

✓ **Recoloration :** Verser quelques gouttes de Fuchsine basique et laisser agir pendant 30 secondes, Rincer à l'eau de robinet.

✎ **Séchage :** Laisser la lame sécher puis ajouter une petite goutte d'huile de cèdre et examiner avec un microscope optique à l'objectif à immersion (grossissement x 100).

✎ **Lecture**

L'observation microscopique des frottis montre qu'il y a deux grandes catégories de bactéries :

- Les bactéries "Gram positifs" qui garde leur coloration violette après décoloration par l'alcool.
- Les bactéries "Gram négatifs" décolorées par l'alcool sont teintées par la fuchsine et apparaissent roses .

III-3/Identification biochimique

III-3-1/ Les tests complémentaires

III-3-1-1/Recherche de la catalase

Ce test sert notamment à différencier les bactéries de la famille des Micrococaceae (*Staphylococcus*) catalase (+) de celle des *Streptococaceae* catalase (-). Ce test est appliqué sur toutes les colonies apparaissant sur gélose Mac Conkey et Chapman.

🔍 Principe

La catalase est une enzyme contenant du fer, ayant la propriété de décomposer l'eau oxygénée issue de la voie respiratoire oxydative directe en eau et en oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



🔍 Technique

Sur une lame, nous avons déposé une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) et nous avons ajouté une colonie de bactéries prélevées sur milieu gélosé. [01].

🔍 Lecture

La réaction positive se traduit par des effervescences : la formation de bulles dues à un dégagement gazeux immédiat (oxygène).

III-3-1-2/Teste oxydase

La recherche de l'oxydase est l'un des critères les plus discriminatifs et le plus employé dans le diagnostic des bacilles G⁺. ce test simple consiste à mettre en évidence la capacité de la souche à tester à oxyder la forme réduite, incolore de dérivés de N-diméthyle-para-phénylène diamine, en leur forme oxydé semi-quinonique rose violacée.

Technique

Dans 10 gouttes d'une suspension épaisse de la bactérie à tester, introduire un disque imprégné d'une solution d'oxalate de N-di méthylène diamine (disque OX Biomérieux).

Lecture

Pas de coloration violette foncé : bactérie oxydase négatif

III-3-1-3/Recherche de L'enzyme Bêta-galactosidase (ONPG)

But

La dégradation du lactose (substrat) est un caractère qui est souvent utilisé pour discriminer certaines espèces afin d'identifier une bactérie.

Le caractère Lactose (+) peut parfois apparaître faussement négatif.

Dans ce cas Des enzymes qui permettent la dégradation du lactose (Bêta-galactosidase) mais elle ne possède pas la une protéine membranaire qui permet au lactose de pénétrer spécifiquement dans la cellule bactérienne : la Bêta-galactoside-perméase. [33].

Dans le cas où une bactérie apparaît comme lactose (-) sur un milieu lactose il peut se présenter plusieurs possibilités.

Ce test permet donc de faire la différence pour une bactérie apparaissant lactose (-) entre le lactose (-) "vraie" de celles qui sont lactose (+) "lente".

La recherche de la Bêta-galactosidase est un des premiers tests réalisés en pratique courante.

La recherche de la Bêtagalactosidase explore la présence d'une enzyme utile au métabolisme du lactose.

On ne réalise ce test que pour les bactéries qui dégradent le glucose et ne dégradent pas le lactose - . [33]

Technique

Le test utilisé uniquement chez les bactéries lactose - en 24 h sur milieu solide.

- 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.
- lire

Résultat

- ✓ **Négatif** : aucun changement de couleur dans un délai de 24 heures
- ✓ **Positif** : couleur jaune indique que l'organisme à produit de l'orthonitrophénol à partir de l'ONPG suite à l'action de la bêta-galactosidase.

Certains organismes produisant une coloration jaune visible en 5 à 10 minutes seulement. La plupart des tests positifs le sont en 1 heure. Cependant une réaction ne peut être interprétée comme étant négative avant 24 heures d'incubation. [30]

Precaution

- Ce test ne peut pas être effectué avec des souches bactériennes produisant un pigment jaune.
- La présence de glucose dans le milieu inhibe la production de bêta-galactosidase; c'est pourquoi les colonies prélevées à partir d'un milieu contenant du glucose produiront une réaction plus faible. [30].

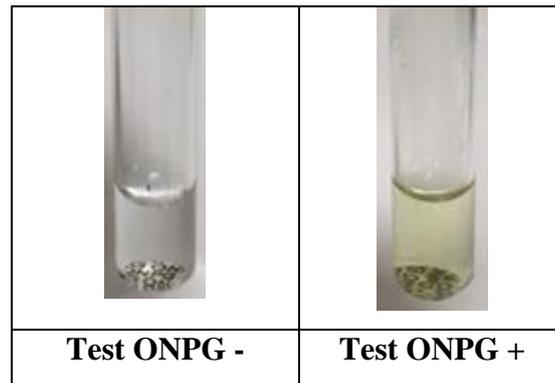
Lecture de résultat

Figure 6: lecture du résultat de l'ONPG [32].

III-4/ Galerie Classique**III-4-1/ Etude de la mobilité et la fermentation du mannitol****✎ Principe**

Le mannitol est un produit de la réduction du D- mannose; Le milieu mannitol mobilité en culot permet à la fois de connaître la capacité de la bactérie à dégrader le mannitol et vérifier sa mobilité. Ce milieu contient un indicateur de PH' le rouge de phénol qui devient jaune au PH acide et rose au pH alcalin. [01].

✎ Technique

Ensemencer le milieu Mannitol Mobilité par piqûre centrale grâce à une anse de platine à fil droit. Incuber à 37 °C pendant 24 h.[10]

✎ Lecture

Lorsqu' il y a fermentation du mannitol le milieu vire au jaune la cellule est dite mannitol (+), dans le cas contraire les milieux garde sa couleur initiale et la cellule dite mannitol (-).

La mobilité bactérienne se traduit par un développement bactérien sous forme d'un nuage autour de la piqûre centrale (mobilité +). Par contre si la bactérie est immobile, elle ne se développe que sur trace de la piqûre qui demeure fine (mobilité -). [01]

III-4-2/ Milieu de TSI (trie sugar iron. agar)**🔍 Principe**

Se milieu est utilise dans l'identification des entérobactéries, il permet en évidence la dégradation du glucose et du lactose et /ou saccharose .ainsi que la production d'hydrogène sulfure et la production de gaz.

🔍 Technique

Ensemencer la surface par des stries puis le culot par pique centrale, ne pas viser le bouchon de flacon a permettre l'aération du milieu.

Incubation pendant 24 à48 heurs dans l'étuve à 37°C.

III-4-3/ Milieu au citrate de Simmons**🔍 Principe**

Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation de citrate par les bactéries comme source de carbone.

🔍 Technique

Le milieu de citrate de Simmons est ensemencé sur la pente, puis incubé à l'étuve à 37°C pendant 24 heurs

III-4-4/ Test de rouge de méthyle**🔍 Principe**

Il permet d'identifier des entérobactéries capables de croitre dans un milieu glucose et de l'acidifier.

🔍 Technique

Après 24 h d'incubation, prélever 1 à 2 ml de culture de Clark et lubs.

Ajouter 1 à 2 gouttes d'une solution de rouge de méthyle.

III-4-5/ Test d'indole**🔍 Principe**

Il permet de savoir si une bactérie peut produire de l'indole à partir du tryptophane à l'aide de tryptophanases.

🔍 Technique

Mettre en culture la bactérie à test dans l'eau péptonée ou à 37°C pendant 24 heurs après incubation, on ajoute à la culture le réactif de kowacs (0,5 ml pour 0,5 ml de culture).

III-5/ La galerie biochimique Api 20 E

Il s'agit d'une galerie de 20 microtubes prêts à l'emploi permettant d'identifier des bacilles Gram - appartenant à la famille des Enterobacteriaceae utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés.

La galerie APi 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratés. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se produisant par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.



Figure 7. Schéma de la galerie Api 20 E

🔍 Technique

❖ Préparation de l'inoculum

- Prélever à l'aide d'une anse de platine une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé (Mac Conkey).
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans 5 ml d'eau distillée stérile.

❖ Inoculation de la galerie

- Humidifier le fond de la galerie APi 20 E avec de l'eau distillée;
- Inoculer tous les tubes de la galerie avec la suspension bactérienne;
- Remplir toutes les cupules des tests : CIT VP GEL et créer une atmosphère anaérobie dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE et H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37 °C pendant 18 à 24 heures. [10]

❖ **Lecture et identification**

Reporter sur la fiche d'identification tous les résultats spontanés. Vérifier si le test glucose est positif et/ou si trois tests ou plus sont positifs. Révéler les tests nécessitant l'addition ou l'ajout de réactifs.

- Tests VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Aucun virage de couleur n'indique une réaction négative.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA le non virage de couleur qu'indique que la réaction n'est négative.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacs la non formation d'anneau rouge indique une réaction négative.

La lecture se fait à l'aide du tableau d'identification Api20 E après avoir calculer et déduire le nombre caractéristique de 7 chiffres qui sera lu directement du codeur galerie Api 20. [10].

III-6 / La galerie API staph

API staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus* *Micrococcus* et *Kocura* , comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données.

🔍 **Principe**

La galerie comporte 20 micro tubes renferment des substrats sous formes déshydratés.les différents tubes sont inoculés a l'aide d'une suspension bactérienne de la bactérie à identifier, qui reconstitue le milieu de réaction. Les réactions produites pendant la durée de l'incubation se traduisent soit par un virage spontné du milieu ou bien par virage révélé par l'addition d'un réactif approprié.

🔍 **Mode opératoire**

❖ **Préparation de l'inoculum**

-Prélever à l'aide d'une anse de platine une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé (Chapman).

-Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans 5 ml d'eau distillée stérile.

❖ **Inoculation de la galerie**

-Humidifier le fond de la galerie APi staph avec de l'eau distillée;

-Inoculer tous les tubes de la galerie avec la suspension bactérienne;

- Et créer une atmosphère anaérobie dans les tests ADH, URE

en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.

-Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37 °C pendant 18 à 24 heures. [10].

❖ **Lecture et identification**

Après l'incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants.

Tests VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. une couleur rose franche indique une réaction positive. Aucun virage de couleur n'indique une réaction négative.

- Test NIT : attendre 10 minutes .une coloration rouge indique une réaction positive.
- Noter les résultats sur la fiche de résultats.
- Interprétation : l'identification est obtenue à partir du profil numérique.

chapitre IV

Résultat et discussion

I / Les Mesure physico-chimique

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de lac Oubeira, nous ont montre des taux et des valeurs très variables. Certains sont cependant largement supérieurs aux normes.

I-1/ le potentiel d'hydrogène (pH)

La valeur de pH maximale est observée durant le mois d'avril au niveau du site 4 (nord) est 8,4 et la teneur minimale est 6,2 au niveau du site 1 (sud).

La valeur de pH maximale est observée durant le mois de mai au niveau du site 4 (nord) est 7,2 et la teneur minimale est 6,8 au niveau du site 2 (ouest).

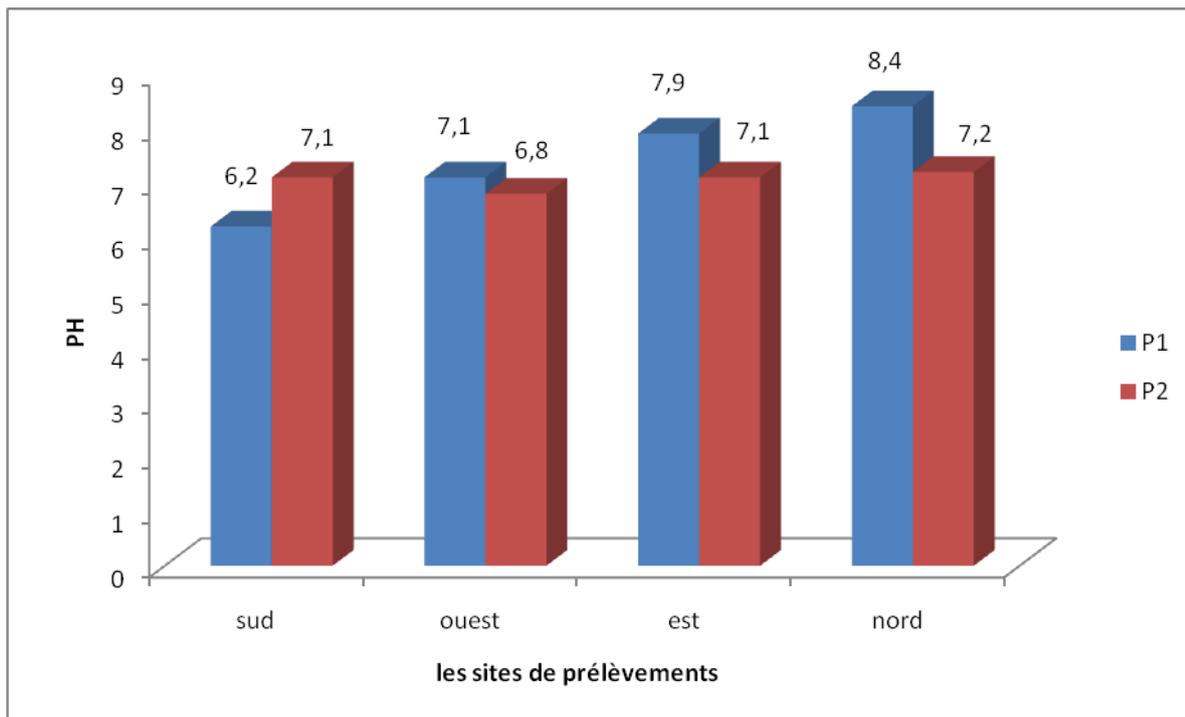


Figure 8 : Les variations de pH en fonction des sites

I-2/ la température (Tc°)

La température d'une eau douce devrait être inférieure en été et supérieur en hiver à la température de l'air. Pour l'eau douce soit désaltérante, sa température doit se situer entre 20et 25c° elle désaltère mal .la température supérieure à15c°favorise le développement des micro-organismes qu'elle peut intensifier les odeurs et les saveurs. Elle est nécessaire pour déterminer les équilibres chimiques entre les diverses espèces en présence tel les ions et les molécules non dissociées. [21]

Les eaux ont des températures qui fluctuent entre une valeur minimale de l'ordre 19c° (site 4 nord) enregistrée durant le mois d'avril et une valeur maximale de l'ordre de 25c° (site4nord) pendant le mois de mai.

La température est élevée car considérée comme une pollution du fait qu'elle modifie le taux d'oxygène dissous.

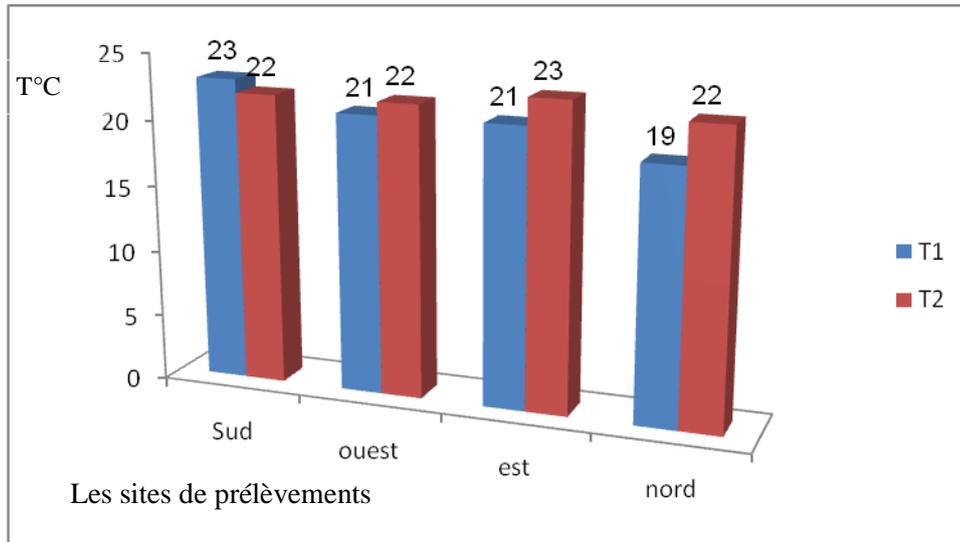


Figure 9 : Les variations de température en fonction des sites

I-3/ turbidité (NTU)

La turbidité est liée à la présence de particules organiques diverses d'argile, de colloïde, de plancton, etc. Elle peut être favorisée par la pluviométrie.

Les particules en suspension peuvent entraîner des goûts et odeurs désagréables par la présence de turbidité.[21]

Selon les valeurs de la turbidité, nous constatons que l'eau la plus turbide c'est que le site 1.2.3.et4 durant au mois de mai entre (530 et 520) par rapport au site durant le mois d'avril les valeurs de la turbidité entre (420 et 450).

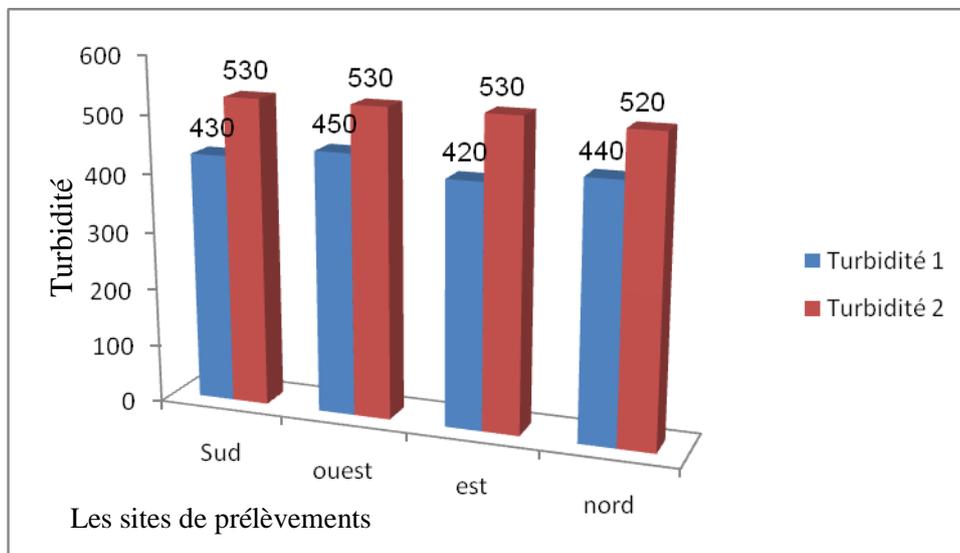


Figure 10 :Les variations de turbidité en fonction des sites

I-4/L'oxygène dissous

Selon les résultats présentés dans la figure, nous ne constatons que la teneur maximale de l'oxygène est observée durant le mois de mai au niveau du site 1 (sud) 49,4mg/l et la teneur minimale est 35,7 mg/l au niveau du site 2 (ouest).

La teneur maximale de l'oxygène est observée durant le mois d'avril au niveau du site 1 (sud) 48,6 mg/l et la teneur minimale est 36 mg/l au niveau du site 4 (nord).

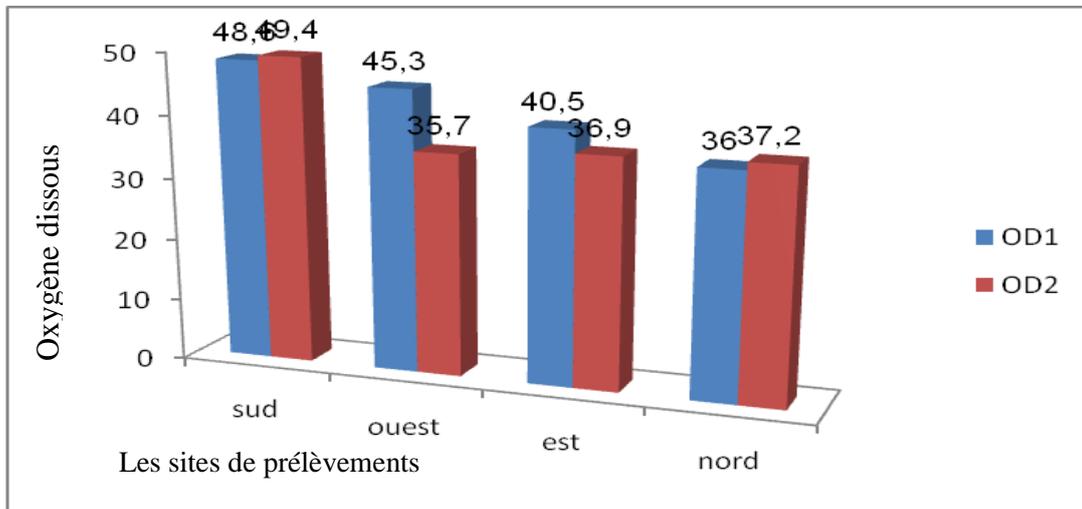


Figure 11 :Les variations d'oxygène dissous en fonction des sites

I-5/ conductivité

Ces valeurs vérifiant une minéralisation importante dont l'origine principale sont les rejets des eaux usées. Une importante flaque d'huile de vidange, et le déterre agricoles est aussi d'une grande importance. Le maximum est enregistré durant le mois de mai le site 3 (1080µs/cm) .la conductivité électrique est comprise entre un minimum de (840µs/cm) enregistré dans le site 1et3 pendant le mois d'avril.

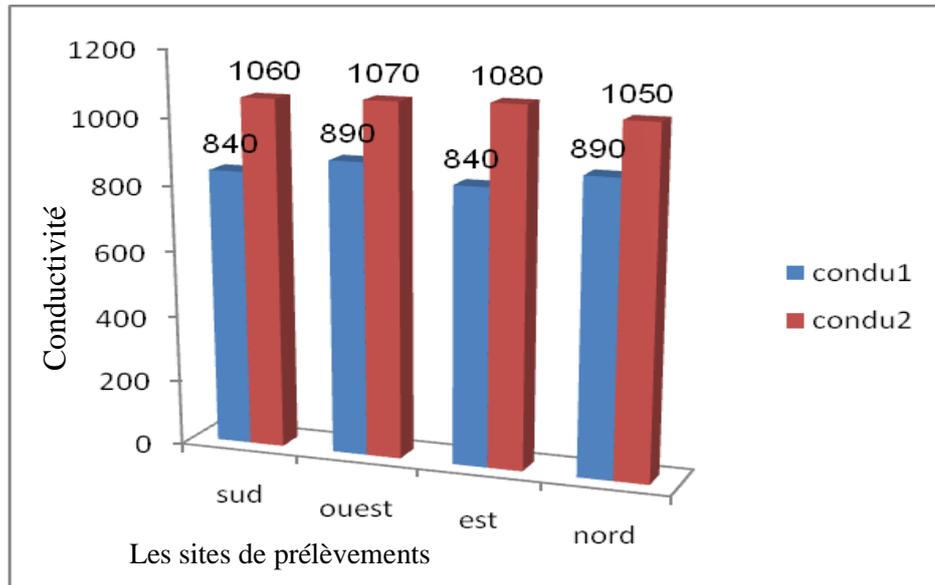


Figure 12 :Les variations de conductivité en fonction des sites

II/ Mesures chimiques

II-1/La 'azote ammoniacal (NH4)

Les taux les plus élevés des nitrites sont observés au niveau du site 2 (ouest) avec un maximum de 0.06 mg/l enregistré Durant le mois de mai et un minimum de 0.027 mg/l signalé au niveau du site 4(nord) durant le mois d'avril et0.037mg/l du site 3 Est pour le mois de mai du fait qu'elle est exposée à différents types de pollutions.

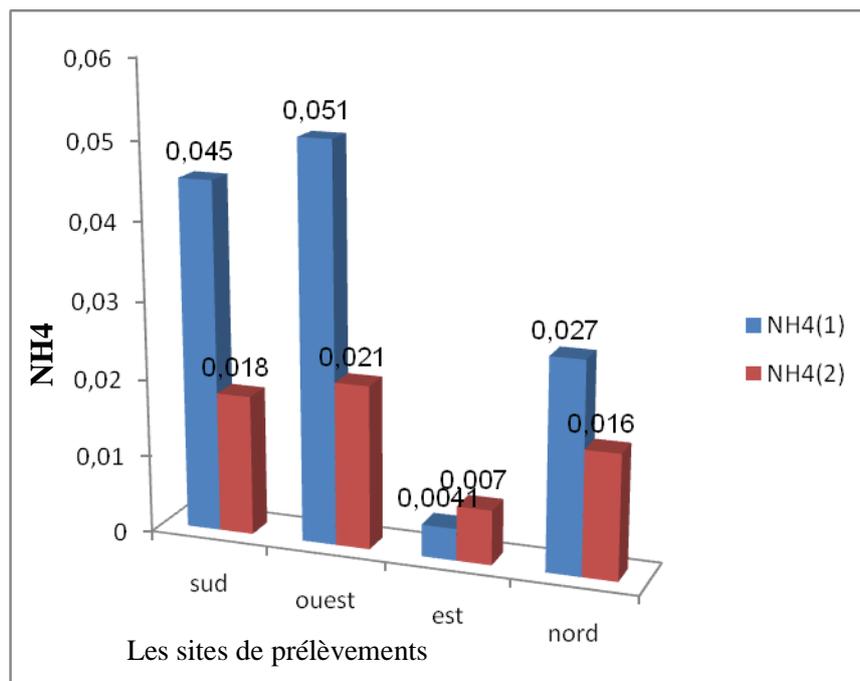


Figure13 :Les variations de NH4 en fonction des sites

II-2/Nitrite (NO_2^-)

Les taux les plus élevés des nitrites sont observés au niveau du site 4 avec un maximum de 0.3 mg/l enregistré Durant le mois de mai et un minimum de 0.01mg/l signalé au niveau du site 1 (sud) durant le mois d'avril et mai. En effet la dégradation des nitrates aboutit à la formation des nitrites qui sont des molécules instables dans l'eau du fait qu'ils sont facilement assimilables par les microorganismes aquatiques.et leur apparition est contrariée par la métabolisation bactérienne des précurseurs aminés.

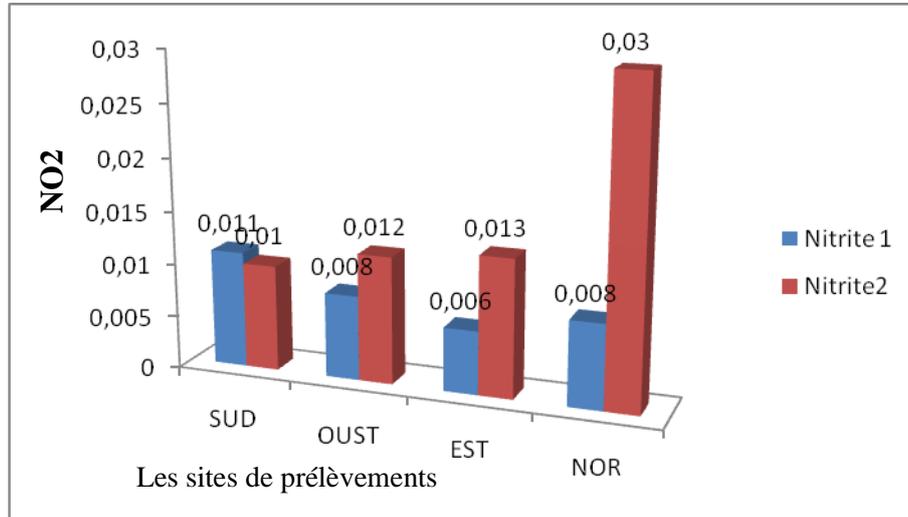


Figure 14 :Les variations de NO_2 en fonction des sites

II-3/Phosphate (PO_4^{-3})

Le phosphore joue un rôle important dans le développement des microorganismes (la synthèse de l'énergie des algues); leur présence naturelle dans les eaux est liée aux caractéristiques des terrains traversés et à la décomposition de la matière organique. Des teneurs supérieures à 0,5mg/l doivent constituer un indice de pollution. [21].

Le maximum est enregistré pendant le mois de mai au niveau de site 4(nord).

Les sites de prélèvements

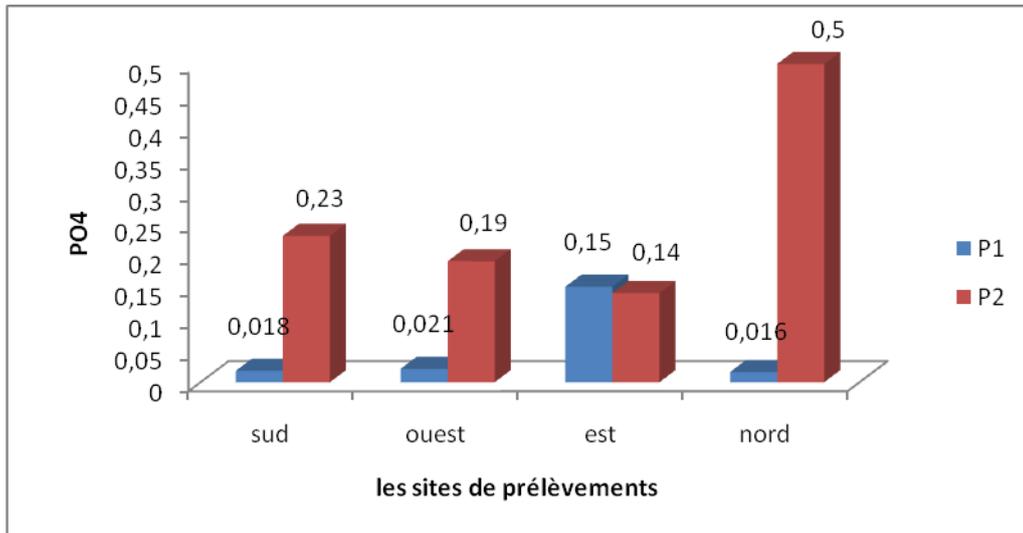


Figure 15 : Les variations de PO₄ en fonction des sites

II-4/ le titre alcalimétrique (TA) et le titre alcalimétrique complet (TAC)

La valeur maximale est enregistrée durant le mois d'avril au niveau du quatrième site (le nord:5.7) et une valeur minimale 4.4 au niveau de site3 (est).

La valeur maximale est enregistrée durant le mois de mai au niveau du quatrième site (le nord:5.2) et une valeur minimale 4.7 au niveau de site 3. (Est) qui permet d'eau une minéralisation importante.

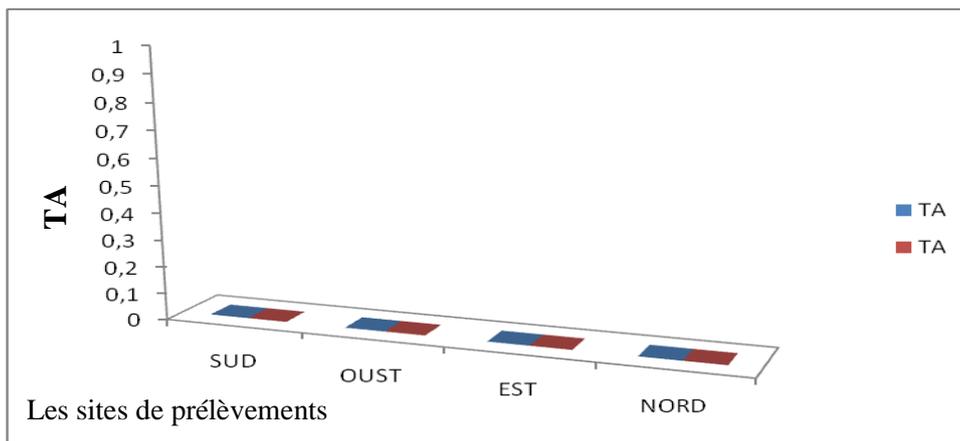


Figure 16 : Les variations de TA en fonction des sites

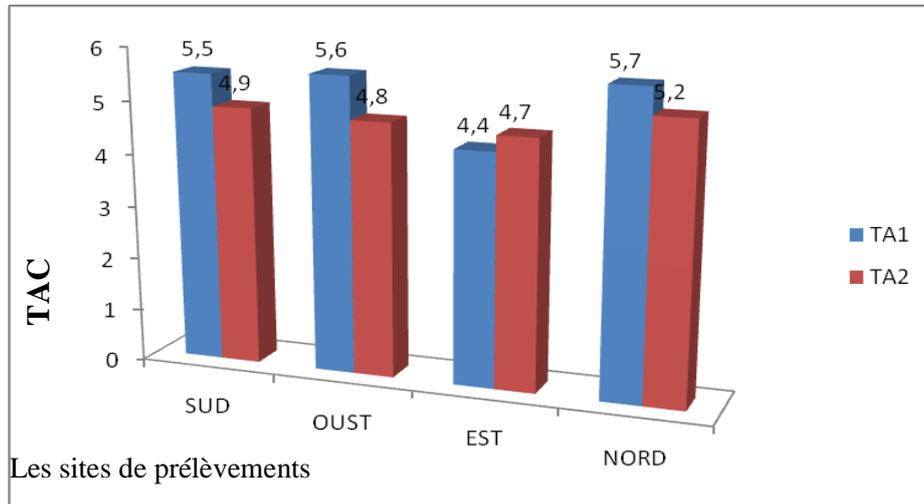


Figure 17 :Les variations de TAC en fonction des sites

II-5/matière en suspension (MES)

L'eau de Lac Oubeira a présenté des valeurs de (MS) plus élevés sont enregistrés dans les différents sites. Ces teneurs peuvent empêcher la pénétration de la lumière, diminuer l'oxygène dissous. [21].

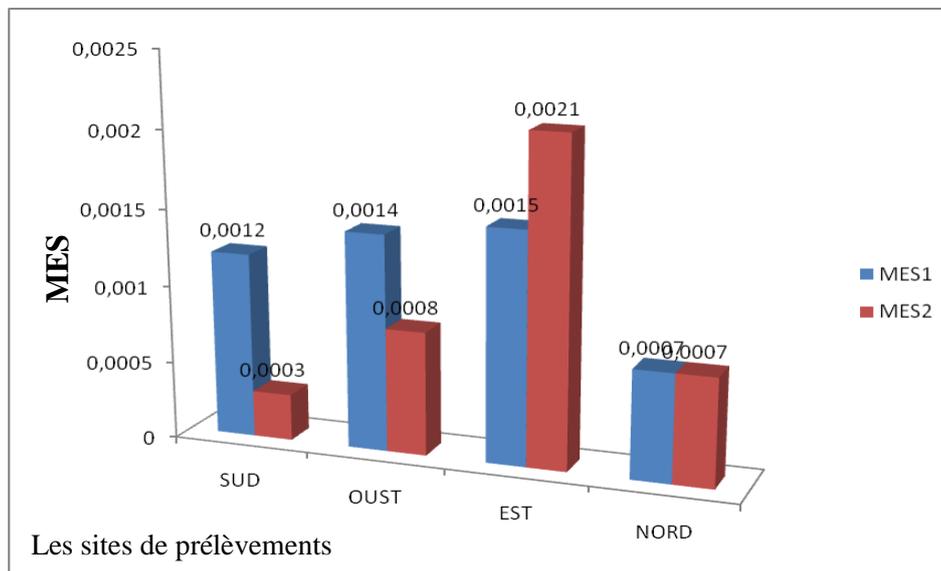


Figure18 :Les variations de MES en fonction des sites

III/ Résultats bactériologiques

III-1/ Les coliformes fécaux

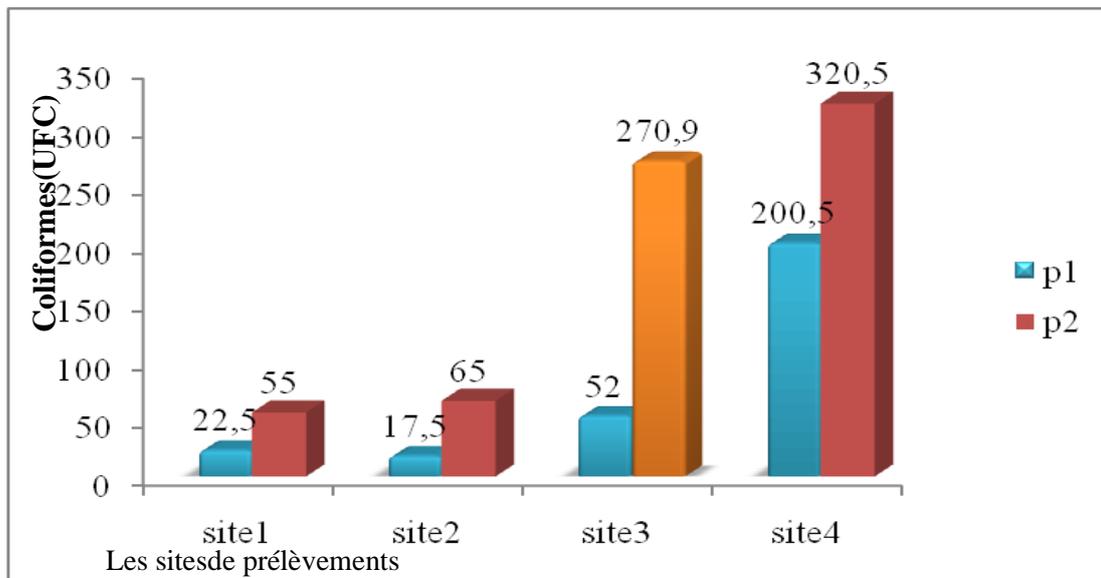


Figure 19 : Variation des coliformes fécaux selon les sites

D'après ce graphe, le site 4 présente le nombre le plus élevés pendant les 2 mois tandis que la valeur maximal est de 320,5c.f./100ml, alors que le site 1 présente les valeurs les plus faibles 22,5c.f./100ml le mois d'avril .la valeur maximale est observée durant le mois de mai. D'une manière générale ces eaux sont impropre même pour l'irrigation ce qui conduit a due que ces eaux ont une contamination fécale après le vidange d'huile.

III-2/ Dénombrement des coliformes totaux

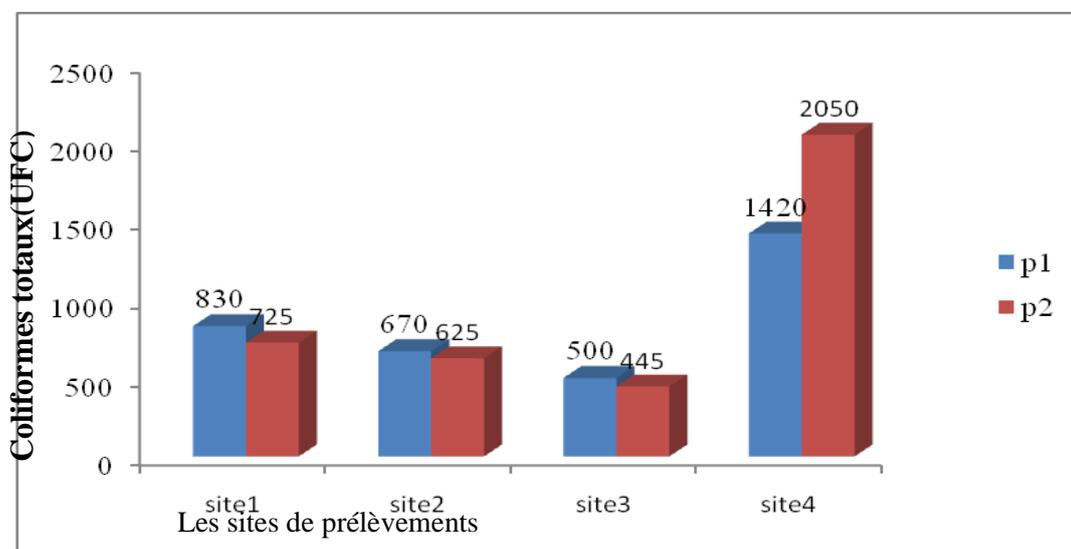


Figure 20 :Variation des coliformes totaux selon les sites

Le nombre des coliformes et varie d'un site à l'autre .le site 4 présente le nombre le plus élevée que les autres sites, le nombre le plus faible durant le mois de mai dans le site3, tandis que le site 3 présente le nombre le plus faible le mois de mai.

On constate dans le site 4 la valeur maximal est de 2050 C.T/100ml durant le moi de mai et le minimum est de 500C.T/100ml durant le moi d'avril.

La présence des streptocoques dans le Lac Oubeira indique qu'il ya une contamination due a la déjection des animaux a cause des ruissèlements de pluie qui prennent les déchets et les excréments de ces animaux qui vivent a coté du lac.

IV/ Résultats des cultures microbiennes

IV-1/ Prélèvement I

❖ Site1

Sur la GN



Aspect microscopique G x 100

BACILLE G-



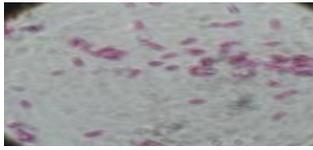
Colonie blanc châtre, oranges bombée, lisses contour irrégulier, bombée odeur de fermentation et de ≈ 2 mm de \varnothing

Figure I-1 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN

-

- sur le macconkey

Baïlle G-



Colonies rouges → le pH est acide .Les bactéries fermentent le lactose en produisant des acides: Lactose-

- **Figure I-2** : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur MC sur Chapman



Aspect microscopique G x 100

BACILLE G +

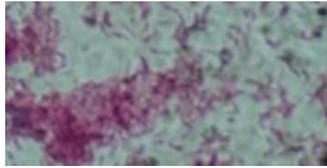


des colonies jaunes, bombés, contour régulier virage de couleur du milieu en jaune.

Figure I-3 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur chap

❖ Site 2

Sur la GN.



Aspect microscopique G x 100

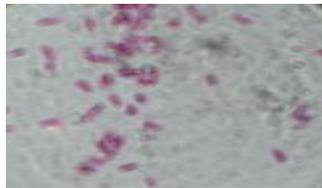
Bacille G-



Colonie blanc châtre, jaunâtres, plate, contour régulier, odeur de fermentation et de ≈ 2 mm de \varnothing .

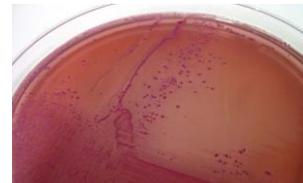
Figure I-2-1 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN

- sur le macconkey



Aspect microscopique G x 100

BACILLE G-



Colonies rouges → le pH est acide.

Les bactéries fermentent le

Lactose en produisant des acides

Lactose+

Figure I-2-2: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur MC

Sur Chapman : absence de culture.

❖ Site3

-sur la GN



Aspect microscopique G x 100
Bacille G-



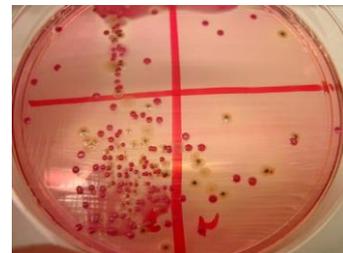
colonie blanc châtre, bombée, contour régulier, lisses, odeur de fermentation et de ≈ 3 mm de \varnothing .

Figure I-3-1 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN

sur le macconkey



Aspect microscopique G x 100
Bacille G-

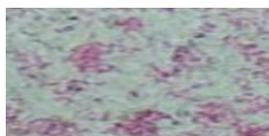


colonie rose, bombé, contour régulier, odeur de fermentation et de ≈ 2 mm de \varnothing .

Figure I-3-2: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur MC

-sur Chapman : absence de culture.

❖ Site 4 Sur la GN



Aspect microscopique G x 100
Bacille G-



Colonie blanc châtre, oranges bombée, lisses contour irrégulier, bombée odeur de fermentation et de ≈ 2 mm de \varnothing .

- **Figure I-4-1 :** aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur GN

Sur Chapman : absence de culture.

-sur macconkey



Aspect microscopique G x 100
Bacille G-



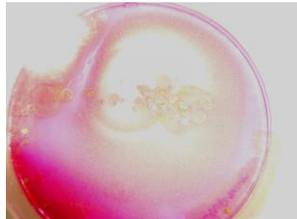
les colonies marrons clairs contour régulier,
plates, odeur de fermentation et de ≈ 6 mm
de \varnothing .

Figure I-4-2: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 1 sur MC

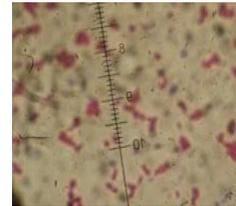
IV-2/ Prélèvement II

Site I

Sur le mac conkey



des colonies bombés couleur rose, contour
irrégulier, odeur de fermentation



Aspect microscopique
G x 100 Bacille G-

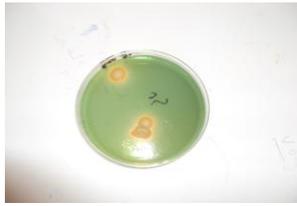
figure II-1 : aspect microscopique
et culturaux du prélèvement 2 sur MC

-sur Chapman : une seule colonie jaunes, bombé, contour régulier



Figure II-2 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur chap

-sur Hectoene



des colonies jaunes bombées, contour irrégulier, odeur de fermentation



Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -

Figure II-3 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Hec - sur GN



Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -



des colonies blanchâtres, bombées, contour régulier, odeur de fermentation

Figure II-4 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur GN

❖ **Site II**
Sur le macconkey



Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -



des colonies roses, bombées, contour régulier, odeur de fermentation

Figure II-2-1 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC
- sur chapman: pas des colonies

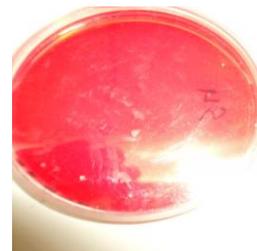
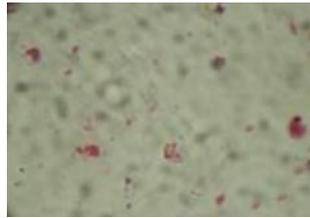


Figure II- 2-2 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Chap
- sur Hectoene



Aspect
microscopique

G x 100 Bacilles Gram -



des colonies jaunes bombées, contour
régulier, odeur de fermentation.

Figure II-2-3: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur Hec
-sur GN



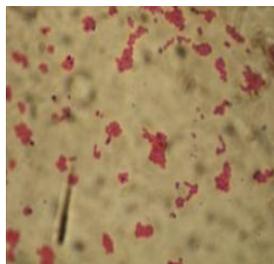
Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -



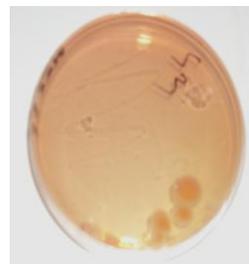
des colonies blanc châtres, lisses, contour
régulier, odeur de fermentation

Figure II-2-4: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur GN

❖ **Site III**
Mac conkey



Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -



Colonies jaune → le pH est neutre ou
basique .
Les bactéries ne fermentent pas le
lactose : LACTOSE -

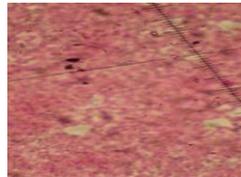
Figure3-1 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2 sur MC

-Sur chapman. : Pas des colonies



Figure II-3-2: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2sur MC

- sur Hektoene



Aspect microscopique

G x 100 Bacilles Gram -

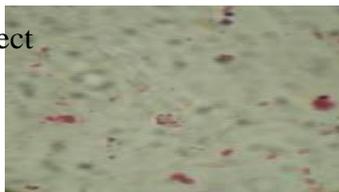


des colonies jaunes bombées, contour régulier, odeur de fermentation

Figure II-3-3 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2sur Hec

-sur GN

Aspect



microscopique

G x 100 Bacilles Gram -

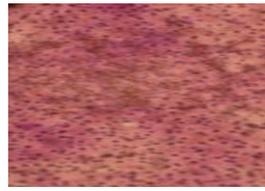


des colonies blanc châtres, lisses, contour régulier, odeur de fermentation

FigureII-3-4: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2sur MC

Site IV

Sur le mac conkey



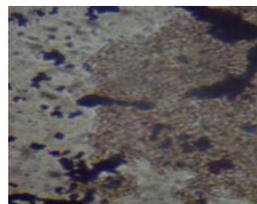
Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -



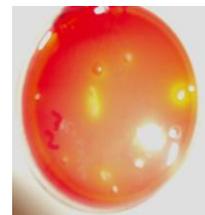
Colonies rouges → le pH est acide .
Les bactéries fermentent le lactose en
produisant des acides: LACTOSE +

Figure II-4-1 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2sur MC

-Sur chapman



Aspect microscopique
G x 100 Cocci Gram+



des colonies jaunes bombés, contour
régulier virage de couleur du milieu.

Figure II-4-2 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2sur Chap

Sur GN



Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -



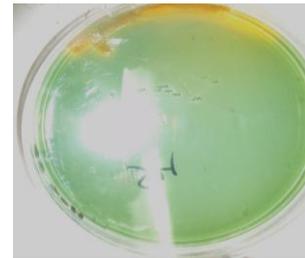
des colonies blanc châtres, lisses, contour
régulier, odeur de fermentation.

Figure II-4-3 : aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2sur GN.

-sur Hektoene



Aspect microscopique
G x 100 Bacilles Gram -



des colonies jaunes bombées, contour irrégulier ,odeur de fermentation

FigureII-4-4: aspect microscopique et culturaux du prélèvement 2sur Hec



Figure 5 -1 :galerie biocimique pour *E. coli* (site 3)

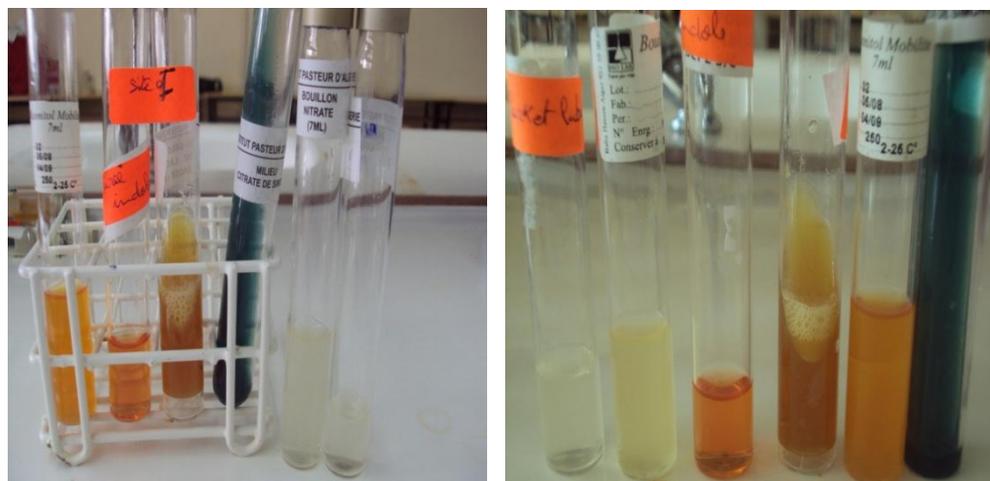


Figure 5-2:galerie biochimique pour *Proteus mirabilis* (site 1)

V/ Résultats de l'API

V-1/ l'API 20E



Figure 5-3 :Resultat de l'API 20E pour *shigella* (site 1)



Figure-5-4 : Resultat de l'API 20E pour *shigella* (Site2)

V-2/ L'API staph



Figure-5-5 : Api staph pour *pseudomonas fluorescens* (Site 4)

Tableau -1: **Rsultat de la galerie biochimique**

		Mannitol mobile		Milieu TSI				Citrates de Simmons	indole	Clark et lubus		Genres identifiées
		mobilité	mannitol	lactose	saccharose	Gaz en	H2S			RM	VP	
Avril	Site 3	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	<i>E. coli</i>
Mai	Site 1	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	<i>Proteus mirabilis</i>
	Site 3	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	<i>E. coli</i>

Tableau -2 Résultat de l'identification bactérienne par système API 20 E

		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	Genres identifie
avril	Site 3	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	<i>enterobactere</i>
	Site 1	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	<i>klebsiella</i>
mai	Site 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Shigella</i>
	Site 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Shigella</i>

Conclusion

Conclusion

Notre stage a été effectuée sur de deux prélèvements du lac oubeira selon les situations géographique, physico-chimique a révélé que l'eau du lac oubeira au niveau des quatre stations étudiées marque une pollution accrue et la majorité des paramètres mesurés ne sont pas conformes aux normes exigées. car le Lac subit une pollution essentiellement organique suite au volume important des eaux usées urbaines et industrielles déversées.

L'analyse microbiologique a porté sur les germes indicateurs de pollution qui regroupent les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux.

La pollution de l'eau due à des micro-organismes d'origine fécale est apparue lorsque le milieu aquatique reçoit des rejets d'origine animale ou anthropique, le nombre et le type de bactéries présentes sont capables de rendre l'eau impropre à l'utilisation humaine.

Les origines de pollution diffèrent selon le type d'occupation des sols. Les rejets des eaux usées et le lessivage des sols peuvent être considérés comme les sources principales de la contamination microbiologique du lac. Une contamination in situ du lac oubeira apparaît très clairement dans cette étude.

Référence Bibliographique

Bibliographie

- 1) Amira ,W. , 2008 . Degré de contamination de l'eau de la mare Redjla(Tahar) par les nitrate : Détermination de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau.Mémoire de magister.Université de Jijel, p :103.
- 2) Angelier .E.écologie eaux courantes. Tec &doc. Paris, p :199.
- 3) Aouissi., 2000. mémoire magister en hydro écologie S.E.E de microbiologie et physique chimique de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (nord-est de l'algérie).
- 4) Bendjama ,A., niveaux de contamination par les métaux lourds de complexe lacustre<tonga, oubeira, elmellah>du parc national d'el – kala. memoire magistere. Université de badji mokhtar Annaba ,p :104 .
- 5) Chassanac,T.,juillet 2007 . technique de l'ingénieure. <environnementG3>.paris.
- 6) Chibani ,S., 2009 . Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux de surface et souterraine de la région de Ain Makhlof (Wilaya de Guelma).memoire de magister .universite 8 Mai 1945 guelma,p 104.
- 7) Dajoz,R.,Précis d'écologie, 8^{eme} edition.dunod. Paris, p :631.
- 8) Delarras, C. Morin, G, 1998 . Microbiologie : 90heur de travaux pratiques , Europe.p :276.
- 9) Delarras, C. Morin, G ,2000.microbiologie de lenvironnement aveclegislation. france fevrier.
- 10) Djebbari N, Boudjadi Z & Bensouilah M, (2009), L'infestation de l'anguille *Anguilla anguilla* par le parasite +*Anguillicola crassus* Kuwahara, Niimi & Itagaki, 1974 dans le complexe de zones humides d'El Kala (Nord-Est algérien). Université Badji Mokhtar Annaba, Faculté des Sciences, Laboratoire d'écobiologie des milieux marins et littoraux B.P. 12,Annaba. Algérie n°31 (1), 45-50 .
- 11) Eliane ,fustec .Claude, J. 2000 . Fonctions et valeurs des zones humides. dunod, paris,p :426.

- 12) European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X Vol.48 No.1 (2010), pp.129-141 © EuroJournals Publishing, Inc. 2010
- 13) Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar 1. Date à laquelle la Fiche descriptive a été mise à jour : 01-06-2002 2. Pays : Algérie 3. Nom de la zone humide : Réserve Intégrale du Lac Oubeïra, Wilaya d'ElTarf)
- 14) Ghodbane, H.Layada ,W. ,Jun 2009 .contrôle de qualité et dosage des métaux lourds à partir des eaux douces (lac oubeira) ,option génie biologique pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie . ,Université 8 Mai Guelma, p :103.
- 15) Guraud, J. Rosec, J, 2004.Les pratiques des normes en microbiologie alimentaire.Fluor, France, p :300.
- 16) Halassi ,I. ,2009. De contamination du lac des oiseaux et contribution à l'étude du pouvoir auto-épurateur de l'eau : isolement et étude de bdellovibrio bacteriovorus. option hydro-écologie santé et eau et environnement, pour l'obtention du diplôme de magister en biologie ..université 8 mai guelma,p :102
- 17) Musy ,A. Higy ,C,2004.Hydrologie : 1 une science de la nature. Edition :Press polytechnique et universitaire Romande.Italie.p : 314 .
- 18) Prescott,Harly, Klein. Microbiologie. 2eme Edition française (traduction de la 5^{ème} édition américaine-calberg M.;et jean dusart) .de boeck ,p :1137.
- 19) Ramade, F. élément d'écologie. 3^{ème} édition dunod. France.p :690.
21/Rodier, J .et coll, janvier 2007. l'analyse de l'eau. 8^{ème} Edition dunod. Belgique, p :1383.
- 20) Touati, L. ,2008. Distribution spatio-temporelle des Genre Daphnia et Simocephalus dans la mare temporaire de la Numidie.Memoire de magistrale,Université 8MAI1945 DE Guelma,p : 88.
- 21) Touchart ,L, 2003.hydrologie mers, fleuves et lac. Armand colin. Belgique,p :190.
- 22) Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie .ca Meddour-Bouderda K. Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie Brahim-Tazi Nawel Amel , Université Es-Senia

Oran, Algérie Zouakh Djamel Eddine ENSSMAL, Delly Brahim, Alger Mehennaoui Smail Laboratoire Environnement Santé et Production Animale Université Hadj Lakhdar Batna, Algérie)

23) Viale, S. leprétre, D, Davoult, A et Luckzak ,C,2004. Ecosystèmes. 3^{eme} édition. Dunod. Paris,p :549.

24) Zerguine, K., 2009-2010. contribution a l'étude des chironomidae<Diptera,Insecta>des mares temporaires de la Numidie orientale.Aspect de Biologie,Écologie et Systématique,pour l'obtention du diplôme de Doctora,option :biologie animale et environnement .,université Badji Mokhtar annaba,p :289.

SITE WEB

25) www.blog.saeed.com/.../zone-humide-definition-problemes-convention-de-ramsar/ - (05/4/2011).

26) www.midipress.com/.../grave-incident-ecologique-au-lac-oubeira-a-el-tarf/ - (20/04/2011).

27) [www.algerie-news.com/.../pollution-au-parc-national-d'el-kala-le-lac-oubeira-epargne-par-les-huiles-de-vidange/](http://www.algerie-news.com/.../pollution-au-parc-national-d-el-kala-le-lac-oubeira-epargne-par-les-huiles-de-vidange/) (15/05/2011).

28) www.ornithomedia.com/magazine/mag_art140_2.htm (23/05/2011).

29) www.eurojournals.com/ejsr.htm (30/05/2011) .

30) www.agora.crosemont.qc.ca/dtln/.../onpg.htm -)30/05/2011

31) www.romain.ferry.pagesperso-orange.fr/.../milonpg/onpg0000.htm(30/05/2011)

32) www.romain.ferry.pagesperso-orange.fr/.../milonpg/onpg0000.htm(30/05/2011)

33) www2.ac-lyon.fr/enseigne/.../Tests/ONPG.htm(30/05/2011

A I N I N E X E

Annexe I

Materiel utilisées au laboratoire

Composition des milieux de culture et des réactifs

1. Milieux de culture

Milieux liquides

- **Eau peptonée exempte d'indole** : Elle est surtout utilisée pour la recherche de la production d'indole.

Formule (en grammes par litre d'eau distillée)

Peptone exempte d'indole	10
Chlorure de sodium	5
pH final	7,2

- **B.C.P.L (bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol)** : 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 final6, 9.

- **Milieu Rothe : (g/l d'eau distillée)**

Hydrolysats trypsique de caséine.....	12,6
Peptone bactériologique.....	8,0
Glucose.....	5,0
Chlorure de sodium.....	5,0
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄).....	2,7
Phosphate mono potassique (KH ₂ PO ₄)....	2,7
Azide de sodium.....	0,2
pH final=	6,8 ± 0,2.

- **Milieu Litsky : (g/l d'eau distillée)**

Peptone	20
Glucose.....	5,0
Chlorure de sodium.....	5,0
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄).....	2,7

Phosphate mono potassique (KH ₂ PO ₄).....	2,7
Azothytate de sodium.....	0,3
Ethyl-violet.....	0,0005
pH final = 6,8 ± 0,2.	

-Stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes.

- **Eau physiologique** : g/l d'eau distillé.

Chlorure de sodium :	9g.
Eau distillée :	1000 ml.

- **Réactif kowacks** : la mise en évidence de la production d'indole :

Formule

Paradiméthylamino-benzaldéhyde	5g
Alcolamylique.....	75ml
HCl pur	25ml

- **Réactif TDA** : Pour la recherche de la tryptophane désaminase :

Perchlorure de fer.....	3.4 g
Eau distillée.....	100 ml

- **Réactif IND** : Pour la recherche de l'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....	5.0 g
Alcool isoamylique.....	75.0 ml
HCl 37%.....	25.0 ml

- **Réactifs de Voges Proskauer (VP)** : pour la recherche de l'acétoïne :

VP 1

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

VP 2

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

- **Colorant** :

- ✓ **Violet de Gentiane** :

Violet de Gentiane	1g.
Ethanol à 90%	10 ml.

Phénol	2g.
Eau distillée	100 ml.

✓ **Lugol**

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

✓ **Fushine**

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

❖ **Milieux solides**

- **Milieu de Chapman** : Le milieu de Chapman mannité est un milieu sélectif pour la culture des staphylocoques

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

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

- **Milieu de Mac Conckey** : L'utilisation de ce milieu est recommandée pour isoler et numérer 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 g / l.
Sels biliaires	1,5 g / l.
Chlorure de sodium	5 g / l.
Lactose.....	10 g / l.
Rouge neutre.....	0,03 g / l.
Cristal violet	0,001 g / l.
Agar	15 g / l.

pH7,1 (environ).

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

Formule (en grammes par litre d'eau distillée)

Peptone 5 g / l.
 Extrait de viande1g/l.
 Extrait de levure2g/l.
 Chlorure de sodium5g / l.
 Agar15g .
 pH7,4 (environ).

- **Milieu manitol – mobilité**

Composition :

Peptone pancréatique de viande20g.
 Agar – Agar 4g.
 Manitol..... 2g.
 Nitrate de potassium 1g.
 Rouge de phénol en solution à 1%..... 4ml.
 Eau distillée 1000 ml.

Préparation

Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée ; ajuster le pH à 7,2.

- Répartir en tube à raison de 8 ml par tube.

-Stériliser à 110 °C pendant 30 mn.

appareillage

- ✓ Autoclave
- ✓ Etuve à 37°C
- ✓ Microscopé optique lame

Verrerie

- ✓ lamelles
- ✓ Pipettes pasteurs
- ✓ Tubes a essai steriles

Autre materiel

- ✓ Anse de platine
- ✓ Bec bunsen
- ✓ boites de petries stériles

- ✓ systeme Api 20 E
- ✓ Api staph

Les réactifs et les colorants utilisés

- ✓ L'alcool
- ✓ Fuchine
- ✓ Huile de cédre
- ✓ Lugol
- ✓ Reactif de covwacs
- ✓ Reactif TDA
- ✓ Rouge de méthylène
- ✓ Violet de gentiane
- ✓ Bleu de méthylène

Annexe II

Tableau d'identification des principales especes de la famille des entérobacteriacae

Caractères généraux de la famille

*BGN,aéro-anaérobie facultatifs,catalase +,oxydase-,nitrate réductase +,métabolisme fermentaire.

	E.coli	Shigella	K.pneumoniae	Enterobactere	S.Marcescens	P.Mirabilis	Providencia	Morganella
	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	-	-	-	-
	+	D	+	+	+	-	-	-
	-	-	-	-	+	+	-	-
	D	-	+	-	+	-	-	-
	D	D	-	+	+	+	-	+
	D	D	-	+	-	-	-	-
	-	-	+	-	-	+	-	+
	-	-	-	-	-	+	-	+

+	D	-	-	-	-	+	+
-	-	+	+	+	D	+	-
-	-	+	+	+	-	-	-
+	-	+	+	-	+	D	+
+	D	+	+	+	-	D	+
D	-	+	+	+	D	D	D

Tables de Mac Grady

2 tubes par dilution		3 tubes par dilution					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules						
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

5 tubes par dilution							
Nombre	Nomb	Nombre	Nomb	Nombre	Nomb	Nombre	Nomb

caractéristique	re de cellule						
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

Schéma des tubes utilisés dans le Dénombrement des coliformes (fécaux et totaux)



Les paramètres microbiologiques

Variation des coliformes totaux

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
avril	830	670	500	1420
mai	725	625	445	2050

Variation des coliformes fécaux

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
avril	22,5	17,5	52	200,5
mai	55	65	270,9	320,5

Annexe III

Les paramètres physico-chimiques

	Prélèvements							
	1 ^{er} prélèvement (25/04/2011)				2 ^e prélèvement (08/05/2011)			
Parameters/physiques	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
T (°C)	23	21	21	19	22	22	23	22
pH	6,20	7,10	7,90	8,40	7,10	6,8	7,10	7,20
CE (ms/cm)en 08/05/2011	840	890	840	890	1060	1070	1080	1050
OD /en 08/05/2011	48,6	45,3	40,5	36	49,4	35,7	36,9	37,2
NO ₂ ⁻ (mg/L)en 08/04/2011	0,011	0,008	0,006	0,008	0,010	0,012	0,013	0,030
NH ₄ ⁺ (mg/L) 19/04/2011	0,045	0,051	0,0041	0,027	0,051	0,060	0,037	0,039
PO ₄ ⁻³ (mg/L)08/052011	0,018	0,021	0,15	0,016	0, 23	0, 19	0,14	0,50
TA	0	0	0	0	0	0	0	0
MES (g/L)en 08/05/2011	0,0012	0,0014	0,0015	0,0007	0,0003	0,0008	0,0021	0,0007
TAC en 08/05/2011	5,5	5,6	4,4	5,7	4,9	4,8	4,7	5,2
Ppm en 08/05/2011	430	450	420	440	530	530	530	520

Analyses physico-chimies

Matériels et réactifs

1) Matériels:

- ✓ Dispositif de filtration (pompe à vide ou sous pression)
- ✓ Disques filtrants en fibres de verre (filtres de wattman)
- ✓ Etuve réglable à 105-110c° et 175-185c°
- ✓ Dessiccateur
- ✓ Flacons en verre à bouchon rodé de 150 ou 250 ml
- ✓ Enceinte thermostaté (étuve) à 20c° +- 1c°
- ✓ Matériel nécessaire pour le dosage de l'oxygene (oxymetre)
- ✓ Barboteur
- ✓ Appareil a reflux composé d'un ballon à fond plat de 250 ml à col rodé et d'un réfrigérant adaptable réservé exclusivement a la détermination de la DCO
- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ Béchers
- ✓ Papier filtre
- ✓ Pipetes graduée
- ✓ Fiole jaugé 200ml
- ✓ Appareil a distillé par entrainement de la vapeur
- ✓ Verrerie
- ✓ Autoclave

2) Réactifs:

- ✓ solution de chromate de potassium a 10/
- ✓ Solution de nitrates d'argent N/10
- ✓ Solution d'acide sulfurique 50/
- ✓ Solution de permanganate de potassium N/80 (1ml de la solution N/80 correspond à 0,1 g d'oxygene)

- ✓ Solution d'acide oxalique N/80 a préparé à partir d'une solution N/10 récemment titrée
- ✓ Noir d'eriochrome T
- ✓ Indicateur coloré d'eriochrome T
- ✓ Solution tampon :Ammonique 34/
- ✓ Indicateur coloré : murexide
- ✓ Solution d'hydroxyde de sodium à 2 N
- ✓ Solution de phénolphtaléine dans l'alcool à 0,5/
- ✓ Eau permutée exempte d'anhydrique libre (par ébullition de 15 minutes)
- ✓ Eau distillée
- ✓ Eau de dilution
- ✓ Eau d'ensemencement
- ✓ 1-solution de fer 0,7 g
- ✓ 2- eau permutée q.s.p 100ml
- ✓ 3- 1,10-phénanthroline 1,5g
- ✓ Sulfate mercurique cristallisé
- ✓ Solution de salicylate de sodium
- ✓ Solution tartrate
- ✓ Solution zembali
- ✓ Antimousse (silicone)
- ✓ Réactif nessler
- ✓ Chlore de potassium KCL
- ✓ Réactif de phosphate
- ✓ Acide ascorbique
- ✓ Solution de molybdate d'ammonium
- ✓ solution de minéralisation

✓ persulfatedepotassium

RESUME

Le complexe de zone humides du parc national d'El-kala, situé à l'extrémité nord – orientale de l'Algérie, comprend les lacs Tonga, el Mellah et notre zone d'étude de lac oubeira, qui situé entre les deux lacs précèdent.

Notre stage a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie au niveau de département de biologie (Guelma) pendant deux mois (avril, mai) sur quatre prélèvements de l'eau qui sont classés suivant leur situation géographique (nord, sud, est, ouest) dont le but d'une identification et dénombrement des coliformes et leur impactes sur l'environnement, et détermination de quelques paramètres physicochimiques.

Les échantillons d'eau prélevé en fait l'objet d'une mesure in situ des variable physicochimiques (température,pH,conductivité,oxygène dissous et turbidité)et l'analyse au laboratoire de :NH₄ ,NO₂ , PO₄ , TA,TAC ,MES,DBO₅,DCO)

Les résultats microbiologique montrent la présence des germes (*Streptocoques fécaux,E.coli,Shigella,klebsiella,Enterobactere,Pseudomonasfluorescence ;Proteus merabilis*) donc le lac exprimes une contamination fécale largement supérieurs aux normes , et physicochimiques dés fois aux normes indiqué par l'OMS.

Les mots clés

Lac oubeira, parc national d'el-kala, zone humide, identification des coliformes.

SUMMARY

The complex wetland of the national park in El-kala, located at the north - East of Algeria, includes the Tonga lakes, El Mellah and Oubeira. Our zone of study was Lake Oubeira is located between the two lakes preced.

Our training course has be realized in the laboratory of microbiology with level of department of biology (Guelma) during two month (April, May) on four sample of water which are classified according to their situation geographical (north, south, east, west) of which the goal of an identification and enumeration of the coliformes and impact to them on the environment, and determination of some physico-chemical parameters.

The sample of water taken is the subject physico-chemical of an in situ measurement of the variable (temperature, pH, conductivity, dissolved oxygen and

turbidity) and analyzes it of it at the laboratory of: NH₄, NO₂, PO₄, MT, TAC, MY, DBO₅, DCO)

Results microbiological show the presence of the germs (*Streptocoques fecal*, *E.coli*, *Shigella*, *klebsiella*, *Enterobactere*, *Pseudomonasfluorescence*; *Proteus merabilis*) thus the lake express a fecal contamination largely higher than the standards, and physico-chemical dice time to the standards indicated by OMS.

Key words

Lake will oubeira, national park of el-kala, wetland, identification of the coliformes.

الملخص:

يقع مركب القالة في المنطقة الرطبة للشمال الجزائري تتضمن بحيرة: الملاح, تونقة. و منطقة دراستنا بحيرة اوبيرة التي تقع بين البحيرتين السابقتين .

تمت دراستنا في مخبر البيولوجيا الجزئية داخل قسم البيولوجيا (قالمة) لمدة شهرين (افريل, ماي) على اربع عينات من المياه السطحية بهدف عزل و تعداد (les coliformes) و تاثيرهم على البيئة وتعيين بعض الخصائص الفيزيوكيميائية لمياه هذه البحيرة .

الهدف من اخذ العينات هو قياس بعض المتغيرات الفيزيوكيميائية (الحرارة , درجة الحموضة الناقلية, درجة ذوبان الاكسجين ودرجة التعكر , والتحاليل في المخبر ل :

(NH₄ ,NO₂,Po₄ ,TA, TAC, MES, DCO, DBO₅)

النتائج الميكروبيولوجية تبين وجود الجراثيم التالية :

(*streptocoques fécaux*, *E.coli*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Entérobactere*, *Proteus Mirabilis*, *Pseudomonas Fluorescence*)

التي تبين تلوث برازي اكبر من المعايير, وتبين النتائج كذلك تلوث فيزيائي يفوق المعايير.

المصطلحات: بحيرة مركب القالة, المناطق الرطبة, عزل (les coliformes) .