

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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



11 / 336

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité : Santé ; Eau et Environnement

Thème

*Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de
l'eau de Hammam Essalihine
(El Hamma, Wilaya de Khenchela)*

Présenté par : Belahssini Khawla

Goumeidane Abd Elhalim

Naili Oumaima

Devant le jury composé de :

Président : Mr. Houhamdi M.

Examineur : Mr. Djekoun M.

Promoteur : Mr. Zitouni A.

Mr. Merzoug S.E.

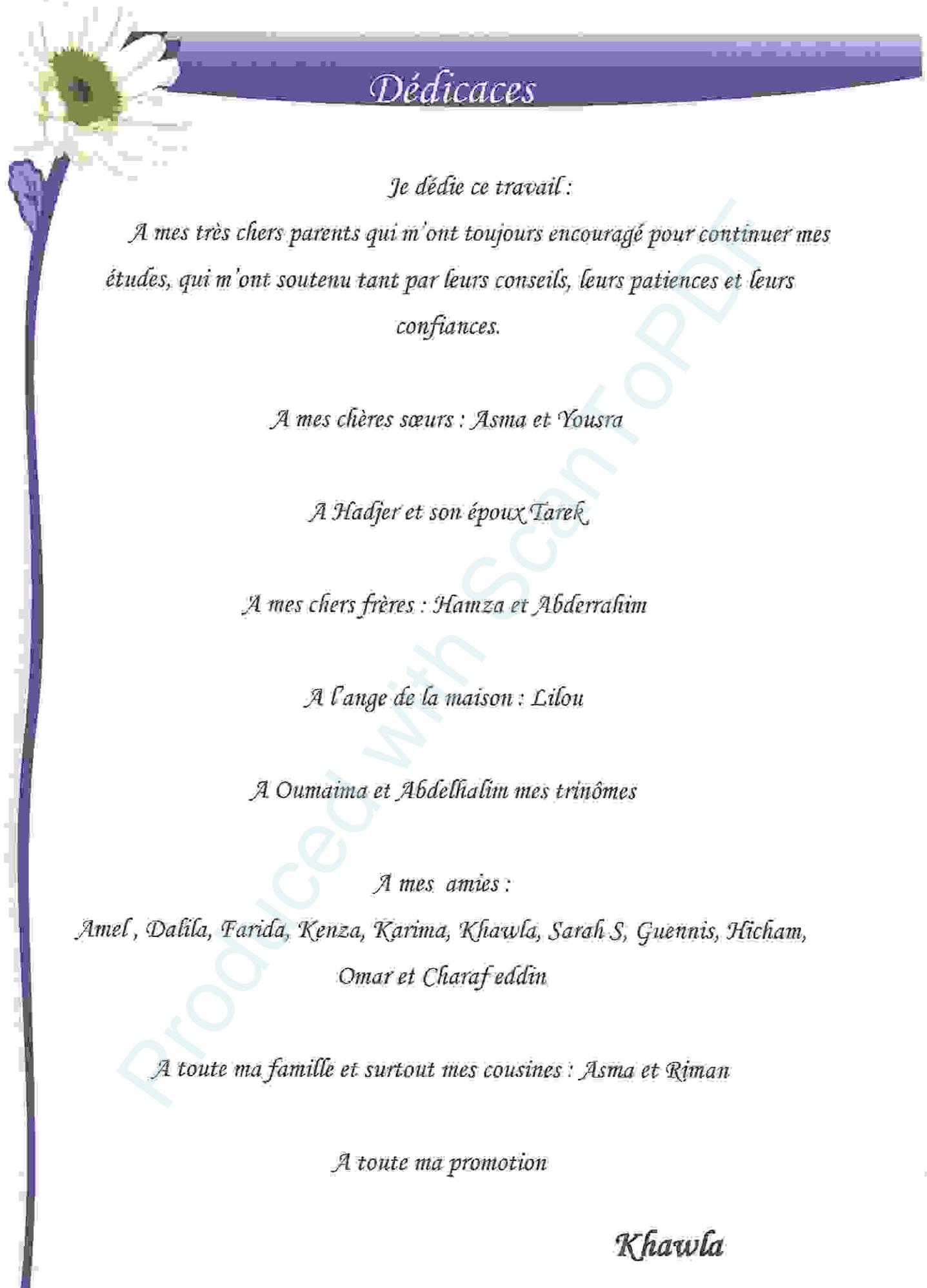
Prof. Univ de Guelma

M.A.A. Univ de Guelma

M.A.A. Univ de Guelma

Doctorant. Univ de Guelma

Juin 2011



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents qui m'ont toujours encouragé pour continuer mes études, qui m'ont soutenu tant par leurs conseils, leurs patiences et leurs confiances.

A mes chères sœurs : Asma et Yousra

A Hadjer et son époux Tarek

A mes chers frères : Hamza et Abderrahim

A l'ange de la maison : Lilou

A Oumaima et Abdelhalim mes trinômes

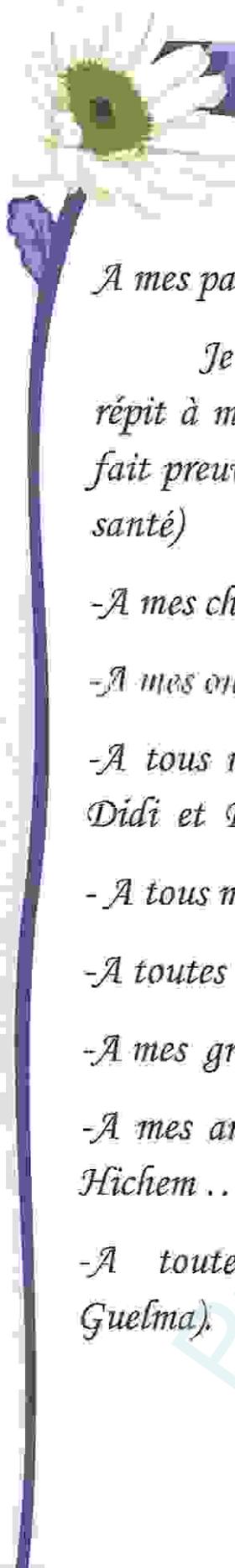
A mes amies :

*Amel , Dalila, Farida, Kenza, Karima, Khawla, Sarah S, Guennis, Hicham,
Omar et Charafeddin*

A toute ma famille et surtout mes cousines : Asma et Riman

A toute ma promotion

Khawla



Dédicaces

A mes parents :

Je vous dédie ce modeste travail pour votre dévouement sans répit à mon éducation et pour le soutien affectif dont vous avez fait preuve tout le long de mon existence. (Longue vie et parfaite santé)

-A mes chers frères : Bachir, Salah et Chouaib.

-A mes oncles : Salah, Mohamed Tahar et Lazhari.

-A tous mes oncles maternels : Kamel, Belgacem, Salim, Toufik, Didi et Redouane.

-A tous mes cousins et cousines sans exceptions.

-A toutes mes tantes.

-A mes grandes mères : Mebarka et Fatima.

-A mes amies : Khawla, Halim, Amel, Nadjiba, Djalila, Charaf, Hichem

-A toute la promotion (Master 2 E.S.E de l'Université de Guelma).

Oumaima



Dédicace

Je dédie le fruit de mes 17 ans d'études aux plus précieux des trésors :

Mes parents : mon cher papa Youcef et ma tendre maman Salima.

Qui m'ont appris tout ce que je sais

Qui m'ont guidé vers le tunnel éclairé du savoir

Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort

Mon cher frère : Mouhamed et Abdelwahab que Dieu le garde.

Mes très chères sœurs : Besma et Bouchra.

Mon plus profond respect va tout droit à mon professeur Mr. Houhamdi Moussa et sa famille.

A mes très chères amis : Aissa, Flichem, Djalel, Mouha, Oussama, Zaki, Wassim, Wail, Abderrahman, Amar, yousef, Mouhamed et sihem que Dieu protège notre amitié.

A mes deux collègues Oumeima et Khawla.

Aux amis de la post graduation : promotion 2010/2011.

A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui m'ont éclairé la voie du savoir.

Et enfin à tout ceux qui me sont chers, je leur dédie ce modeste travail et qu'ils trouvent de ma part tous mes respects ma fidélité et mes sentiments les plus sincères.

Sommaire

Produced with ScantPDF

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Description du site d'étude	2
1. Généralité sur les eaux thermales en Algérie	2
2. Présentation du site d'étude (Hammam Essalihine)	3
2.1. Situation géographique	3
2.2. Historique	4
2.3. Coordonnées géographiques	4
2.4. Caractéristiques	4
3. Présentation de la région d'étude	6
3.1. Situation et coordonnées géographiques Géologie	6
3.2. Géologie	6
3.3. Le sol	8
3.4. L'hydrologie	8
3.5. Etude climatique	8
3.5.1. La température	8
3.5.2. Précipitation	9
3.5.3. L'évaporation	10
3.5.4. Les vents	10
3.5.5. Expression synthétique du climat	11
3.6. Cadre biotique	12
3.6.1. La flore	12
3.6.2. La faune	13
3.7. Potentialités cynégétiques et en faune sauvage de la wilaya	13
Chapitre II: Matériel et méthodes	14
1. Objectifs de recherche	14
2. Prélèvement	14
2.1. Matériel	14
2.2. Sélection des sites de prélèvement	14
2.3. Mode de prélèvement	17
2.4. Etiquetage des échantillons	17
2.5. Transport et conservation de l'échantillon	17
3. Analyse microbiologique	17

3.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables	18
3.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale	18
3.2.1. Recherche de coliformes totaux par filtration:	21
3.2.2. Recherche de coliformes fécaux par filtration	22
3.2.3. Recherche des streptocoques fécaux par filtration	26
3.2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréductrices (ASR)	28
3.3. Recherche des germes pathogènes	30
3.3.1. Recherche des Staphylocoques sur le milieu de Chapman	30
3.3.2. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
3.3.3. Recherche des Salmonelles	31
3.4. Recherche des levures et des moisissures	33
3.5. Tests complémentaires	33
3.5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux	33
3.5.2. Examen microscopique après coloration	33
3.5.3. Examen liés aux caractères biochimiques	34
3.5.3.1. La galerie API20E	34
3.5.3.2. La galerie Api 20 NE	36
4. Analyse physico-chimique	37
4.1. Mesure <i>in situ</i>	37
4.1.1. La couleur apparente	37
4.1.2. La température	38
4.1.3. Le pH	38
4.1.4. La conductivité électrique	39
4.1.5. La salinité	39
4.1.6. Dosage du chlore (méthode à la DPD):	39

4.2. Mesure au laboratoire	40
4.2.1. La minéralisation de l'eau (TDS)	40
4.2.2. La dureté totale TH	40
4.2.3. La résistivité	41
4.2.4. La détermination du titre Alcalimétrique (TA-TAC)	41
4.2.5. Les chlorures (Méthode de Mohr)	42
4.2.6. Dosage simultané du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA	43
4.2.7. La détermination du sulfate (SO_4^{2-})	44
4.2.8. Les bicarbonates (HCO_3^-)	45
4.2.9. Les résidus secs	45
Chapitre III : Résultats et discussion	46
1. Résultats des analyses microbiologiques	46
1.1. Résultats de la recherche et du dénombrement des micro- organismes de l'eau	46
1.1.1. Germes totaux	46
1.1.2. Recherche et dénombrement des témoins de contamination fécale	46
1.1.2.1. Coliformes totaux	46
1.1.2.2. Coliformes fécaux	47
1.1.2.3. Streptocoques fécaux	48
1.1.2.4. Les Anaérobies sulfite-réducteurs (ASR)	49
1.2. Identification des souches bactériennes	50
1.2.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	50
1.2.2. Résultats de l'identification biochimique	52
1.3. Levures et champignon	53
2. Résultats physico-chimiques	53
2.1. La couleur apparente	53
2.2. La température	53
2.3. Le pH	54
2.4. La conductivité	55
2.5. La salinité	57
2.6. Le chlore	57

2.7. La minéralisation de l'eau (TDS)	58
2.8. La dureté (TH)	58
2.9. La résistivité	59
2.10. Titre alcalimétrique (TA-TAC)	60
2.11. Les chlorures (Cl ⁻)	61
2.12. Le calcium (Ca ⁺⁺)	61
2.13. Le magnésium (Mg ⁺⁺)	62
2.14. Le sulfate (SO ₄ ⁻)	63
2.15. Les bicarbonates (HCO ₃ ⁻)	64
2.16. Résidus secs	64
Conclusion	66
Résumé	
Annexe	
Référence bibliographique	

Produced with ScanTOPDF

Api 20 NE : Api 20 non entérobactériaceae.

ASR : Anaérobies sulfitoréducteurs.

BaCl₂ : Chlorure de Brayum.

°C : Degré Celsius.

Ca : Calcium.

DPD : Diéthyl-p-Phénylène-Diamine.

E : Est.

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique.

Ev : Evaporation.

°F : Degré français.

Fig : Figure.

g/l : Gramme par litre.

G SS: Gélose *Salmonella-Shigella*.

h: Heure.

ha : Hectare.

HCO₃⁻ : Les bicarbonates.

J-C : Jésus Chris.

Km : Kilomètre.

LDC : Lysine déshydrogénase.

m : Mètre.

m³ : Mètre cube.

Max: Maximale.

Mg : Magnésium.

Min : Minimale.

mm : Millimètre

Moy : Moyenne.

N : Normalité.

OMS : Organisation mondiale de santé.

ONM : Office Nationale de la Météorologie.

pH : Potentielle Hydrogène.

S : Sud.

SFB : Bouillon Sélénite cystéine.

T : Température.

TA : Le Titre Alcalimétrique.

Tab : Tableau.

TAC : Le Titre Alcalimétrique Complet.

TDA : Tryptophane décarboxylase.

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

TH : La dureté totale.

TGEA : Gélose numération : Gélostryptone-glucose-Extrait de levure.

TTC : Chlorure de triphényltétrazolium.

UFC : Unité formant colonie.

V : Volume.

VF : Viande Foie.

VP : Voges Proskauer.

μ S/cm : Micro-siemens par centimètre.

Ω .cm : Omhes . Centimètre.

Liste des tableaux

No de tableau	Titre du tableau	N° de page
01	Température de l'air.	9
02	Les valeurs de la précipitation moyenne.	9
03	Les valeurs moyennes de l'évaporation.	10
04	Vitesse de vents de la région d'étude.	10
05	Période et nature de prélèvement.	15
06	caractéristiques des stations de prélèvement.	15
07	Volume de l'échantillon analysé selon sa nature.	23
08	Classifications des eaux d'après leur pH.	38
09	Évolution du nombre des coliformes totaux.	45
10	Évolution du nombre des coliformes fécaux.	47
11	Évaluation du nombre des Streptocoques fécaux.	48
12	Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs(ASR).	50
13	Aspect macroscopique et microscopique des colonies.	51
14	Résultats de l'identification biochimique.	53

15	Aspect macroscopique et microscopique des champignons.	53
16	Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique	56
17	Appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la dureté.	58

Produced with ScanTOPDF

Liste des figures

N° de figure	Titre de figure	N° de page
01	Situation géographique de Hammam Essalihine.	3
02	Emplacement de hammam Essalihine au milieu des montagnes des Aurès.	5
03	La piscine circulaire de Hammam Essalihine.	5
04	Carte géologique de la wilaya de kenchela.	7
05	Rose des vents de la commune de Khenchela.	11
06	Digramme Ombro-thermique de la région de Khenchela	12
07	Positionnement des stations.	16
08	présentation des points de prélèvement.	16
09	Recherche et dénombrement des germes revivifiables.	20
10	Rampe de filtration.	21
11	Colimétrie par filtration.	25
12	Streptométrie par filtration.	27
13	Recherche et dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs.	29
14	Recherche des Salmonelles.	32
15	Galerie APi20E.	37
16	Galerie APi20 NE.	38
17	résultats de dénombrement des coliformes totaux.	47
18	résultats de dénombrement des coliformes fécaux.	48

19	résultats de dénombrement des streptocoques fécaux.	49
20	Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs.	50
21	Bacilles Gram négatif.	52
22	Cocci Gram positif.	52
23	observation microscopique d'un champignon après coloration simple.	53
24	Variations spatio-temporelles de la température.	54
25	Variations spatio-temporelles du pH.	55
26	Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique.	56
27	Valeurs de la salinité de l'eau.	57
28	Variations spatio-temporelles de la minéralisation.	58
29	Variations de la dureté de l'eau dans les différentes stations.	59
30	Variations spatio-temporelles de la résistivité.	59
31	Variation de TAC de l'eau dans les différentes stations.	60
32	Teneurs en chlorures en mg/l de l'eau de Hammam Essalihine.	61
33	Variations des teneurs en Calcium dans l'eau de Hammam Essalihine.	62
34	Variations des teneurs en Magnésium dans l'eau de Hammam Essalihine.	62
35	Variations des teneurs en sulfate de l'eau de Hammam Essalihine.	63
36	Variations des teneurs en bicarbonate de l'eau de Hammam Essalihine.	64
37	Valeurs de résidus secs à 105° pour les différentes stations.	65

Introduction

L'eau constitue un élément essentiel dans la vie et dans l'activité humaine. C'est une composante majeure du monde minéral et organique. Elle participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles ce qui la rend un élément récepteur exposé à tous les genres de pollution. Elle est aussi considérée comme un transporteur potentiel de nombreuses maladies.

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

Nous avons structuré notre démarche en trois chapitres interdépendants :

- Le premier chapitre est purement théorique. Il rassemble des généralités sur le site : climatologie, géologie et une contribution à l'étude de son cadre biotique.
- Le second présente la méthodologie utilisée pour la détermination de la qualité physico-chimique et microbiologique (recherche et dénombrement des microorganismes) de l'eau.
- Enfin, le troisième chapitre, mentionne les résultats obtenus au cours de notre étude pratique. Il est esquissé par une conclusion finale clôturant le mémoire.

Chapitre I

Description de site

Produced with ScanTopDF

1. Généralités sur les eaux thermales en Algérie

La prodigieuse richesse de l'Algérie en eaux thermales est connue depuis bien longtemps et l'efficacité de ces eaux est bien établie. Des sculptures découvertes à Hammam Meskoutine établissent nettement qu'à l'époque punique un établissement balnéaire existait à cet endroit. Mais ce sont surtout les Romains qui tirèrent parti des sources thermales et minérales existant en Algérie. Les ruines multiples, dont quelques-unes sont grandioses, que l'on trouve au voisinage des sources, indiquent l'importance que les Romains ont donné aux thermes qu'ils ont construits. L'on sait qu'ils attribuaient de grandes vertus thérapeutiques à l'usage des bains et plus spécialement des bains chauds; aussi ont-ils souvent bâti des villes importantes à proximité des établissements thermaux qu'ils utilisaient. Dans l'art de la captation et de la canalisation des eaux, ils sont restés incontestablement nos maîtres, sur cette terre africaine.

Il existe sur le territoire algérien plus de 200 sources thermales. Ce nombre croît régulièrement quand on se déplace vers l'Est. Les températures mesurées à l'émergence varient de 19°C à Ben Haroune à 98°C à Hammam Meskoutine. La minéralisation des eaux est déterminée surtout par la nature chimique et minéralogique des sédiments qu'elles traversent. Les sources thermales les plus minéralisées sont en relation directe avec les sédiments gypso-salins du Trias si répandu en Algérie, ce cas est rencontré à titre d'exemple à Hammam Melouane 29.42 g/l, Hammam El Biban 15g/l, Hammam Salhine 9 g/l.

Aujourd'hui comme dans le passé les stations thermales sont très sollicitées par les algériens pour divers traitements d'ordre rhumatologique, dermatologique et psychiatrique.

Le perfectionnement général des méthodes analytiques et l'emploi de procédés physiques conduisent aujourd'hui à considérer cette conception comme insuffisante. De plus, l'avancement des études géologiques détaillées permet souvent une interprétation rationnelle des analyses chimiques. Il est en effet très important de connaître aussi exactement que possible la nature des terrains encaissants, car les eaux thermales dissolvent aisément les éléments qu'elles rencontrent pendant leur circulation souterraine. Comme la détermination de leur provenance est des plus ardues, il convient en l'occurrence, de ne négliger aucun élément d'information. Cependant l'Algérie n'a pas encore réalisé dans le domaine de l'étude des eaux thermales, une coordination comparable à celle de la Métropole.

2. Présentation du site d'étude (Hammam Essalihine)

2.1. Situation géographique :

Hammam Essalihine (Aquae Flavianae) est un bain romain qui existe depuis 2 000 ans. Il est situé dans la commune d'El Hamma, site touristique et thérapeutique, à 7 km du chef-lieu de la Wilaya de Khenchela à savoir Khenchela elle-même. Son exploitation remonte à l'époque romaine (Fig.1). (Lassami et Haftari, 2009).

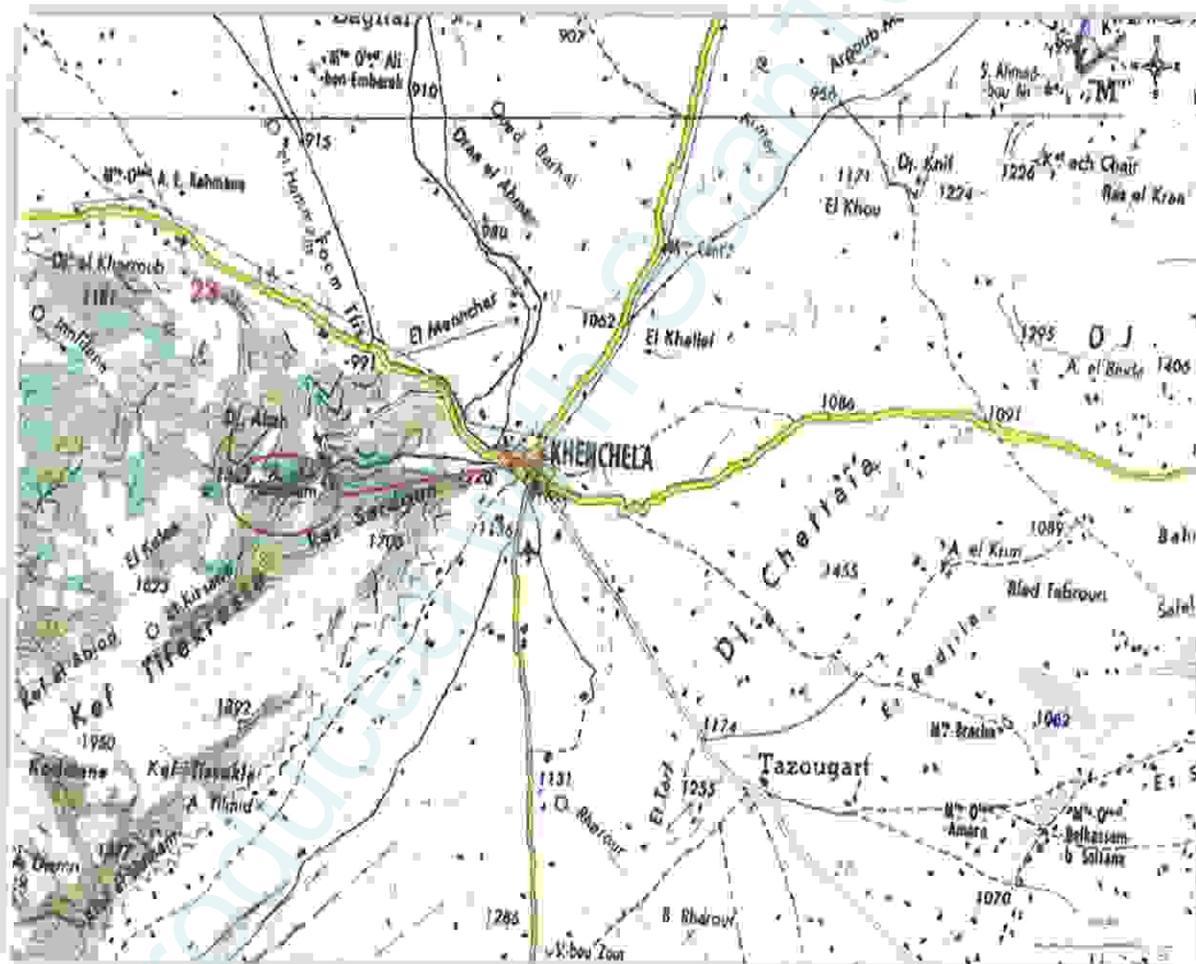


Fig.1. Situation géographique de Hammam Essalihine.

2.2. Historique :

D'après les inscriptions le complexe a été exploité ou probablement reconstruit vers la dynastie des Flaviens dans le temps de Vespasien en 69 après J.-C. Une autre inscription indique que le lieu a subi une réparation par Septime Sévère en 208 après J.-C. Il existe des centaines de sources ou 'fontaines' chaudes en Algérie, et certaines de ces sources ont été utilisées depuis des milliers d'années. D'autres ont subi des travaux de construction importants et des réparations au temps du royaume de la Numidie et à l'époque romaine.

Ainsi que son nom romain l'indique, *Aquae Flaviana*, cette installation thermale remonte aux empereurs flaviens, ce qui paraît confirmer une dédicace de 76 après J.-C à Vespasien et Titus. Plusieurs inscriptions attestent sa fréquentation au cours du IIe siècle et à l'époque sévérienne. Elle est restaurée en 208 après J.-C par un corps de soldats et c'est sans doute sous Elagabal qu'est construit un temple aux Nymphes (Albertini). Une dédicace au numen des nymphes et au dieu Draco paraît dater de la seconde moitié du IIIe siècle au plus tôt. Différentes traces de remaniements sont visibles sur le site. L'établissement est devenu un centre thermal après le dégagement en eau provenant des fontaines chaudes. (1)

2.3. Coordonnées géographiques :

- Latitude de 35°26'25" Nord.
- Longitude de 7°5'4" Est
- Altitude de 1070 m.

2.4. Caractéristiques :

- Le Hammam, dont la température de l'eau atteint 70°C, est constitué de propriétés minérales telles que: le bicarbonate, le sulfate, le soufre, le magnésium, le potassium et enfin le sodium, dont les propriétés thérapeutiques sont considérables, notamment dans les maladies rhumatismales, respiratoires et dermatologiques. (Lassami et Haftari, 2009).

- Le complexe de Hammam Essalihine est situé au fond des Aurès (Fig.2).

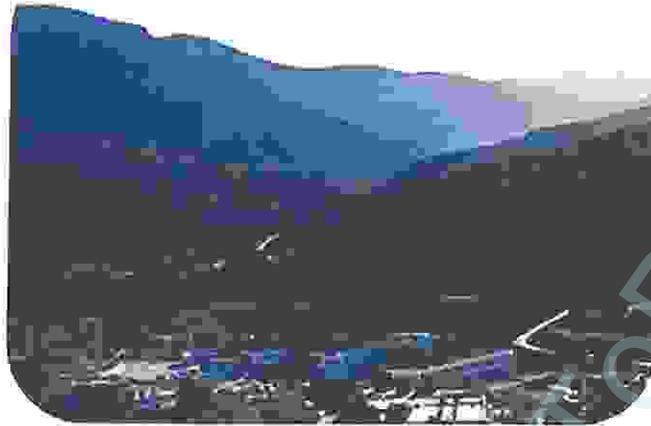


Fig.2. Emplacement de hammam Essalihine au milieu des montagnes des Aurès.

- L'eau de source de Hammam Essalihine est si pure qu'elle n'a besoin d'aucun filtrage. Elle refroidit naturellement avant d'arriver dans les bassins où elle est continuellement brassée.
- La station thermale dispose de 40 cabines pour bain thermal, de 5 piscines d'eau chaude et enregistre jusqu'à 700 000 visiteurs chaque année.
- Elle est située dans une région montagneuse et forestière au climat particulier, c'est un lieu de prédilection pour de nombreux touristes.
- La piscine romaine circulaire est unique au monde et le vestige a été réhabilité récemment (Fig.3). (1)

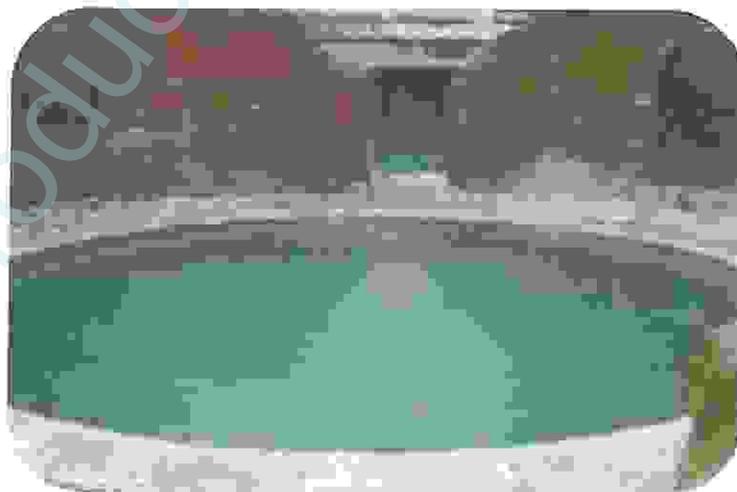


Fig.3. La piscine circulaire de Hammam Essalihine. (1)

3. Présentation de la région d'étude

3.1. Situation et coordonnées géographiques :

La wilaya de Khenchela est située à l'est de l'Algérie au contrefort du constantinois et au contrefort du mont des Aurès entre $34^{\circ} 06' 36''$ et $35^{\circ} 41' 21''$ latitudes Nord ; et entre $06^{\circ} 34' 12''$ et $07^{\circ} 35' 56''$ de longitudes Est, elle est limitée au nord par la wilaya d'Oum El Bouaghi, au sud par la wilaya d'El Oued, à l'est par la wilaya de Tebessa, à l'ouest par la wilaya de Batna et au sud ouest par la wilaya de Biskra. Sa superficie est de $9715,6 \text{ Km}^2$ composée de 8 daïras et 21 communes.

3.2. Géologie :

La structure physique de la wilaya est très hétérogène. Elle se caractérise par trois régions naturelles distinctes:

- * **Les hautes plaines au nord.** Ils couvrent 13% du territoire. C'est une région de plaines à fortes potentialités hydriques qui offrent de grandes possibilités pour le développement agricole.
- * **La zone montagneuse** (les massifs des Aurès et les monts des Nememchas): elles occupent les parties centrales et l'ouest de la wilaya avec 36% du territoire.
- * **Les parcours steppiques et sahariens** (région à vocation pastorale): Ils couvrent la moitié sud de la wilaya avec 49% de la superficie totale (Fig.4). (Anonyme, 2007).

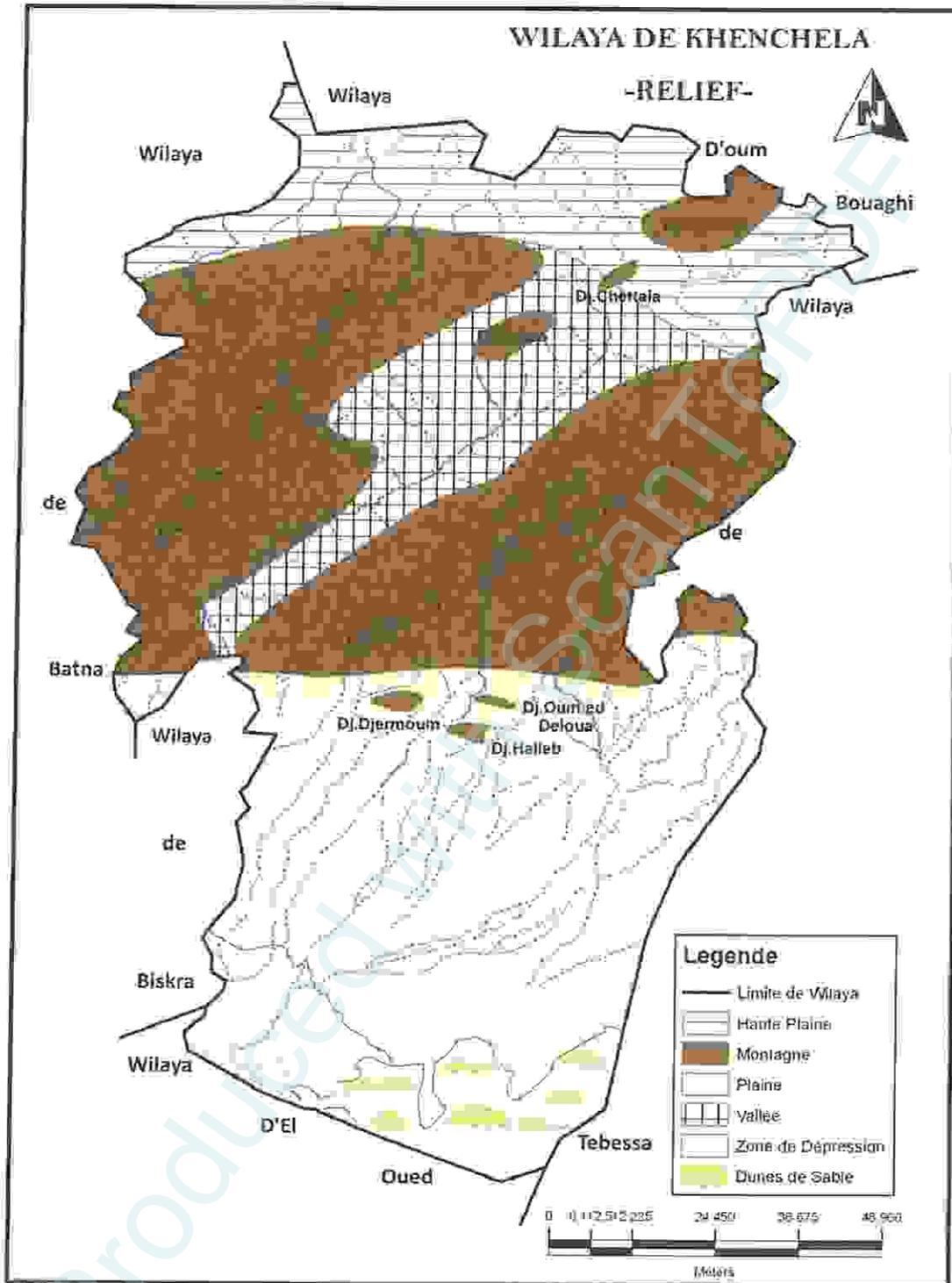


Fig.4. Carte géologique de la wilaya de Khenchela

3.3. Le sol :

Le sol de la wilaya de Khenchela se distingue par la présence de variétés essentielles de la terre qui se présente comme suit :

Une terre sédimentaire dans les hauts plateaux au nord.

Une terre calcique dans la région montagneuse centrale.

Une terre souvent sujette à la dénudation en raison des vents soufflant dans la région sud et également ainsi que les dunes de sables dans l'extrême sud. Parmi les composants essentiels de la terre : la chaux, la boue, le plâtre, le sable et les roches d'argiles. (Anonyme, 2007)

3.4. L'hydrologie :

Le secteur de l'hydraulique de la wilaya de Khenchela bénéficie des ressources en eaux souterraines réparties sur 203 forages, 333 sources et 4900 puits. En ce qui concerne les eaux superficielles, la wilaya est drainée par un réseau hydrographique très dense, offrant une multitude de sites potentiels pour la réalisation des barrages et de retenue collinaires, la wilaya de khenchela est dotée de deux barrages : le barrage Foug El Gaiss et le barrage de Babar. (Anonyme, 2007)

3.5. Etude climatique :

Du point de vu climatique, La région de Khenchela se spécifie par un climat continental, chaud et sec en été, froid et pluvieux en hiver.

Les caractéristiques climatiques de la zone d'étude sont celles de la station météorologique de Khenchela. Les données climatiques de cette station proviennent du réseau de l'Office Nationale de la Météorologie (ONM).

3.5.1. La température :

La température est considérée comme le principal facteur climatique contrôlant la répartition de la végétation, la température dans la région de Khenchela passe de 40°C en été à -09°C en hiver ; ce qui fait d'elle une zone de fluctuations climatiques spectaculaires (Tab.1). (Anonyme, 2010).

Tab.1. Température de l'air (station météorologique Khenchela)

Période (1994-2010)

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
T°C max	11.08	12.59	16.12	19.22	25.17	30.33	34.71	33.23	27	22.65	15.84	11.05
T°C min	2.35	2.85	6.22	7.32	11.48	15.85	18.84	18.57	15.12	12.27	6.39	3.52
T°C moy	6.70	7.63	10.44	13.27	18.43	23.28	26.70	26.14	21.2	16.25	11.14	7.63

En été la forte chaleur est souvent due au vent du Sud, le Sirocco, qui soulève des nuages de poussières.

3.5.2. Précipitation :

La moyenne de la pluviométrie au nord de la région se situe entre 400 et 600 mm/an, tant dis que la moyenne au sud est de 200 mm/an. Les régions montagneuses sont couvertes de neige en hiver. (Anonyme, 2007)

Les précipitations englobent toutes les formes d'eau qui tombent sur la surface de la terre. Les précipitations collectées durant la période allant de 1994 à 2010 sont portées sur le tableau 2.

Tab.2. Les valeurs de la précipitation moyenne. Période (1994-2010).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Précipitation (mm)	49	25.13	35.1	44.8	58.78	43.78	16.22	38.01	57.73	59.73	39.91	40.37

Les moyennes mensuelles de la précipitation de la région d'étude varient entre 16.22mm et 59.73mm.

3.5.3. L'évaporation :

Tab.3. Les valeurs moyennes de l'évaporation (station météorologique Khenchela) Période (1994-2010).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Ev mm	65.34	76.56	109.79	142.98	164.24	223.2	275.73	257.67	173.42	131.22	91.95	71

L'évaporation de cette région est dans ces valeurs maximales durant le mois de juillet, alors que les valeurs minimales sont observées pendant le mois de janvier.

3.5.4. Les vents:

Les vents dominants dans cette région sont ceux d'Ouest et du Nord - Ouest. Ces derniers amènent l'humidité de l'atlantique du Nord (en hiver). Outre ces vents fréquents, en hivers il y a aussi les vents du Nord qui sont souvent secs et froids. En été les vents du Sud sont chauds et secs parfois chargés de sable (vents de sable) (Tab.4).

Tab.4. Vitesse de vents de la région d'étude (station météorologique Khenchela) Période (1995-2010).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Vitesse de vents km/h	26.12	27.25	27.5	28.87	28	28.37	27.06	29.68	27.75	25.68	29.25	27.37

La vitesse maximale des vents qui soufflent sur la région de Khenchela est enregistrée durant le moi d'aout avec une valeur de 29.68 km/h. La valeur moyenne minimale est enregistrée en mois d'octobre avec 25.68 km/h.

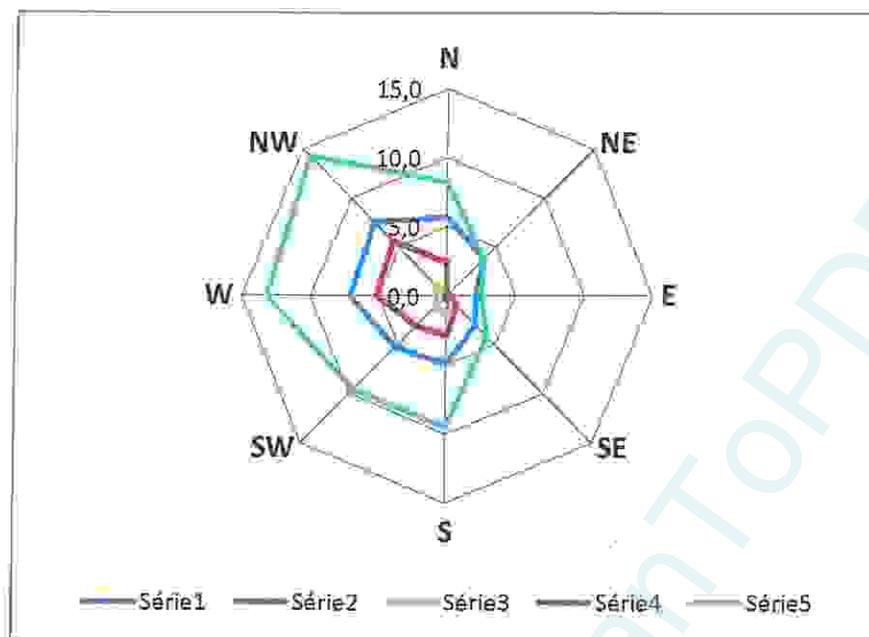


Fig.5. Rose des vents de la commune de Khenchela 2000-2007
 (Source : ONM Direction Régionale de Constantine)

3.5.5. Expression synthétique du climat :

- **Diagramme ombro-thermique :**

Pour l'élaboration du diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussens (1957) nous avons tenu compte des données climatiques bien précises qui sont les précipitations annuelles et les températures moyennes étalées sur plusieurs années des deux stations. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide (Fig.6).

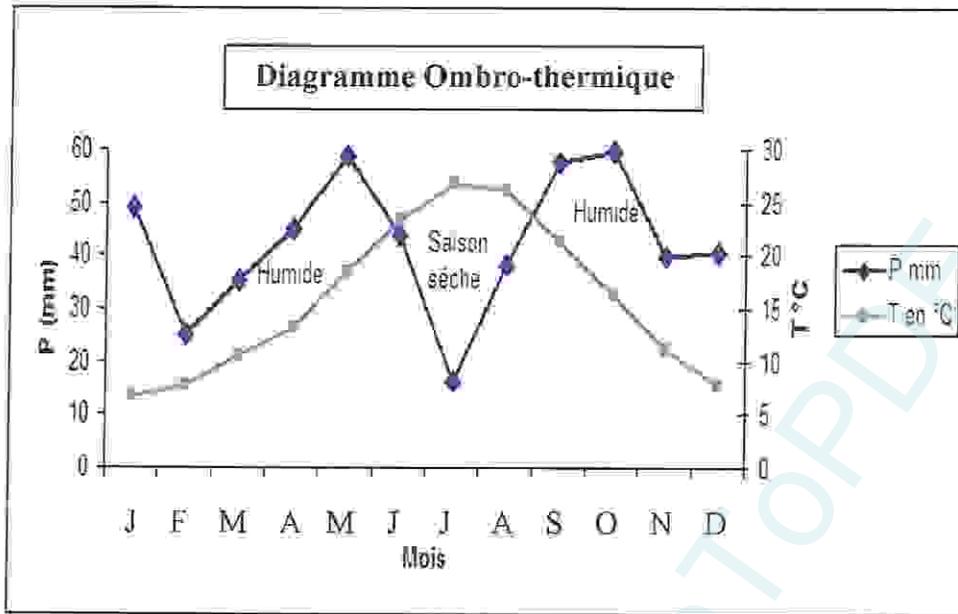


Fig.6. Diagramme Ombro-thermique de la région de Khenchela.

Le diagramme ombro-thermiques, nous a permis de visualiser deux saisons distinctes: l'une sèche de juin à août et l'autre humide de septembre à mai.

3.6. Cadre biotique :

3.6.1. La flore :

La wilaya est couverte par diverses espèces végétales selon la nature géographique et climatique de chaque région, réparti comme suit :

- La région des hauts plateaux : couverte par des petites plantes comme l'armoise ou Chih (*Artemesia herba-alba*), le guettaf (*Atriplex*), le Salsola, le jujubier (*Zizyphus*) et se caractérise aussi par son caractère agricole ou se propagent la culture des arbres fruitiers tels que le pommier, l'oranger, le poirier et les légumes.
- La zone montagneuse : c'est une région forestière et parmi les espèces rencontrées, en plus de la strate arbre (Pin d'Alep, Cèdre, Chêne vert, Pin noir, Cyprès, Frêne), on rencontre également l'alfa, l'armoise, le jujubier, le R'tem, l'Accacia et Genévrier de Phénicie.
- La région du sud : composée de vallées steppiques et sahariennes, les principales espèces rencontrées sont : Tarfa (tamarix), R'tem (Ratama), Accacia, Salsola, Guetaf (*Atriplex*) et Sparth. (Anonyme, 2010).

3.6.2. La faune :

Parmi les espèces animales qu'on trouve dans la région de Khenchela:

<i>Oiseaux</i>	<i>Animaux</i>
Perdrix gabra.	Le sanglier.
Tourterelle de bois.	L'hyène.
Tourterelle turque.	Le lièvre.
Cigogne blanche.	Le lapin.
Faucon crécerelle.	Le chat sauvage.
Faucon pèlerin.	
Faucon pernoptère.	

3.7. Potentialités cynégétiques de la wilaya en faune sauvage:

Au plan organisation cynégétique, la wilaya de Khenchela compte trois associations de chasse qui regroupent plus de 200 adhérents. Les principales espèces de gibier chassées sont : la caille, la perdrix, la tourterelle, le lapin de garenne, le lièvre et le sanglier. De plus, la wilaya renferme des espèces de faune sauvage et d'intérêt cynégétique en voie de disparition comme par exemple la gazelle de montagne, la gazelle dorcas, le mouflon à manchette et l'outarde houbara.

En ce qui concerne le complexe des zones humides de la wilaya on compte cinq sites :

- * **Barrage Foum el-Gueiss** : situé en lisière d'une forêt de pin d'Alep, celui-ci a été mis en service depuis 1935, sa capacité est de 2,5 millions de m³.
- * **Barrage de Babar** : inauguré en 1995, il possède une capacité de stockage de 44 millions m³.
- * **Zone humide de Sbikha** : Elle est considérée comme étant la plus petite zone humide de la wilaya.
- * **Garaat el-Tarf** : d'une superficie de 120 ha répartie sur 04 plans d'eau.
- * **Garaat el-Remila** : Elle est alimentée par l'oued Boulefreiss et le barrage de Kais. (Anonyme, 2010).

Chapitre II

Matériel et méthodologie



1. Objectifs de recherche

De façon générale, il s'agira d'étudier la qualité de l'eau de Hammam Essalihine avant et après rejet.

De façon spécifique, il s'agira de :

- analyser les paramètres physico-chimiques et microbiologiques.
- rechercher les sources probables de pollution de ces eaux.

2. Prélèvement

2.1. Matériel :

- Pour l'analyse microbiologique, on utilise des flacons en verre stériles.
- Pour l'analyse physicochimique, on utilise une bouteille en plastique.
- Glacière.
- Etiquettes.
- Un appareil photo numérique.
- Un multi-paramètre.

2.2. Sélection des sites de prélèvement :

Le choix des sites est aussi primordial pour la réalisation de cette étude. Trois stations différentes ont été choisit pour l'étude microbiologique et physico-chimique. (Tab5).

Tab.5. Période et nature de prélèvement.

		Date de prélèvement	Heure de prélèvement	Type d'analyses effectuées
Station 1	P1	18-07-2010	08 :30	Physico-chimique et microbiologique
	P2	18-04-2011	07 :36	
	P3	03-05-2011	07 :00	
Station 2	P1	18-07-2010	08 :55	
	P2	18-04-2011	07 :50	
	P3	03-05-2011	07 :15	
Station 3	P1	18-07-2010	09 :05	
	P2	18-04-2011	08 :05	
	P3	03-05-2011	07 :30	

Tab.6. Caractéristiques des stations de prélèvement.

Stations de prélèvement	X	Y	Z	Caractéristiques
Station 1	35°26'00.06"	7°05'16.60"	1169	- Source d'eau potable (Ain Silène) -Absence de la végétation.
Station 2	35°26'23.40"	7° 5'4.80"	1071	- Source thermale (Hammam Essalihine).
Station 3	35°27'28.43"	7°5'11.50"	1001	- Cours d'eau (Oued El Hammam). -Présence de la végétation.

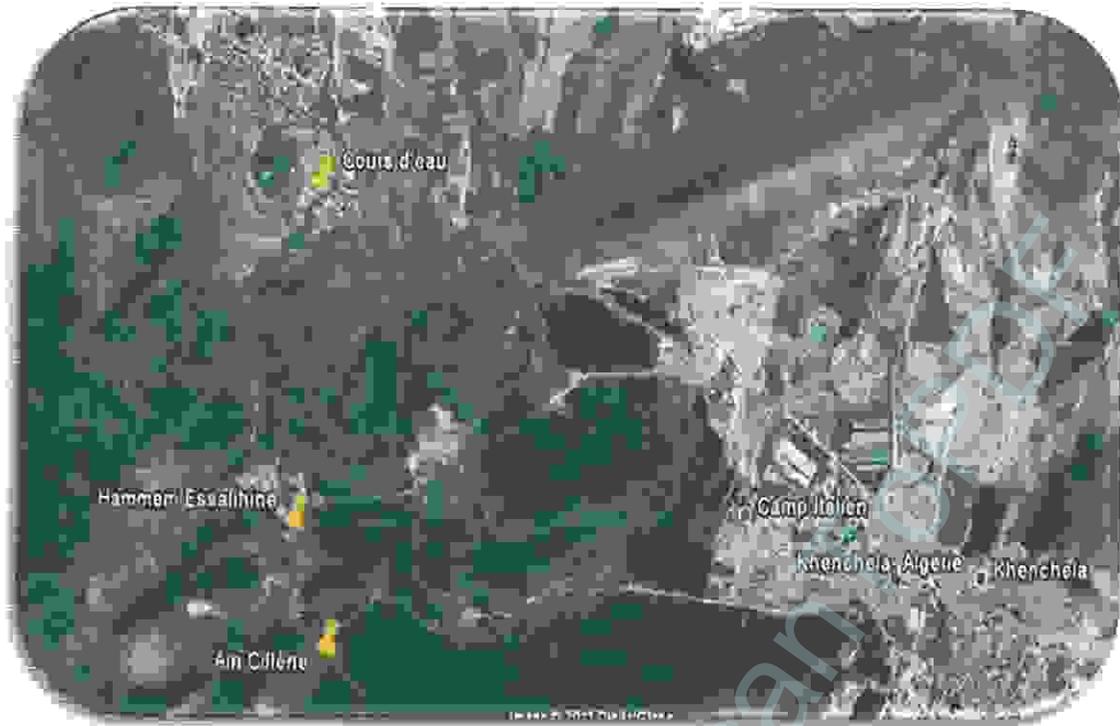


Fig.7. Positionnement des stations. (2).



Première station de Prélèvement.



Deuxième station de Prélèvement.



Troisième station de Prélèvement.

Fig.8. présentation des points de prélèvement.

2.3. Mode de prélèvement :

Les prélèvements ont été réalisés entre 7h et 10h. Ils se sont étalés sur une période de trois mois, le rythme d'échantillonnage était d'un prélèvement par mois, la fréquence était souvent conditionnée par les conditions météorologiques.

Au niveau de chaque station un prélèvement d'eau a été effectué pour l'analyse microbiologique et la mesure des paramètres physico-chimiques.

L'eau destinée à l'analyse microbiologique a été prélevée dans des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vis métallique suivant les techniques d'asepsie.

Le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, il convient de laisser un petit vide d'air, permettant un mélange correct en secouant le flacon. (Lightfoot, 2002; Chaouch, 2007).

2.4. Etiquetage des échantillons:

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et indétachables. Dans ces dernières, on doit noter avec précision: la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales. (Lightfoot, 2002; Merzoug, 2009).

2.5. Transport et conservation de l'échantillon:

Les échantillons sont transportés dans une glacière car il est conseillé de garder les échantillons à une température de 4°C et cela pour ralentir l'activité bactérienne (Aminot et Chausspied, 1983). L'analyse se fait le même jour et pas au delà de 24 heures.

3. Analyse microbiologique

Pour remédier aux objectifs de notre travail, les analyses sont effectuées aux mois de juillet, avril et mai. Les prélèvements d'eau brute ont été réalisés au niveau des trois stations. Les analyses microbiologiques des échantillons prélevés ont été faites au laboratoire d'hygiène de Kais (wilaya de Khenchela) et au laboratoire de l'université de Guelma.

Les germes-test recherchés sont les coliformes totaux, les coliformes fécaux, et les streptocoques fécaux. Ces germes sont peu ou pas pathogènes, ils sont révélateur de contamination fécale et entraînent par leur abondance la présomption de contamination plus dangereuse. (Figarella *et al.*, 2001).

Les germes supplémentaires recherchés sont les staphylocoques et cela pour leur intérêt pratique concernant les eaux de baignade. (Gaujous, 1995; Rodier *et al.*, 1996).

Les espèces considérées comme pathogènes à transmission hydrique sont réparties au sein de trois genres: *Salmonella* (bacilles de la typhoïde, des paratyphoïdes A et B et de diverses gastro-entérites), *Shigella* (bacilles dysentérique), *Escherichia* (essentiellement *E.coli* ou colibacille) parmi les Entérobactéries. (Brisou et Denis, 1978; Gauthier et Pietri, 1989; Eberlin, 1997).

Si la présence des espèces indicatrices ne confirme pas celle des espèces pathogènes dans les eaux analysées, elle la laisse supposer, car une certaine relation quantitative existe entre les deux groupes de bactéries (Gauthier et Pietri, 1989). En effet, La présence simultanée des coliformes et des entérocoques suffit à confirmer qu'il y a pollution (Brisou et Denis, 1978).

3.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables:

➤ Principe:

Il s'agit d'une technique de numération des microorganismes après incorporation de volumes déterminés d'échantillon ou de ces dilutions dans un milieu gélosé. (Rejsek, 2002).

➤ Mode opératoire:

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées comme l'indique la figure 9.

Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.

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

Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose (TGEA). Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

➤ **Incubation:**

La première boîte sera incubée, couvercle en bas à 22°C.

La seconde sera incubée couvercle en bas à 37°C.

➤ **Lecture:**

Les germes revivifiables se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse :

Première lecture à 24 heures.

Deuxième lecture à 48 heures.

Troisième lecture à 72 heures.

➤ **Dénombrement:**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte les deux remarques suivantes:

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.
- Le résultat sera exprimé par millilitre d'eau à analyser à 22°C et à 37°C. (Lebres, 2006).

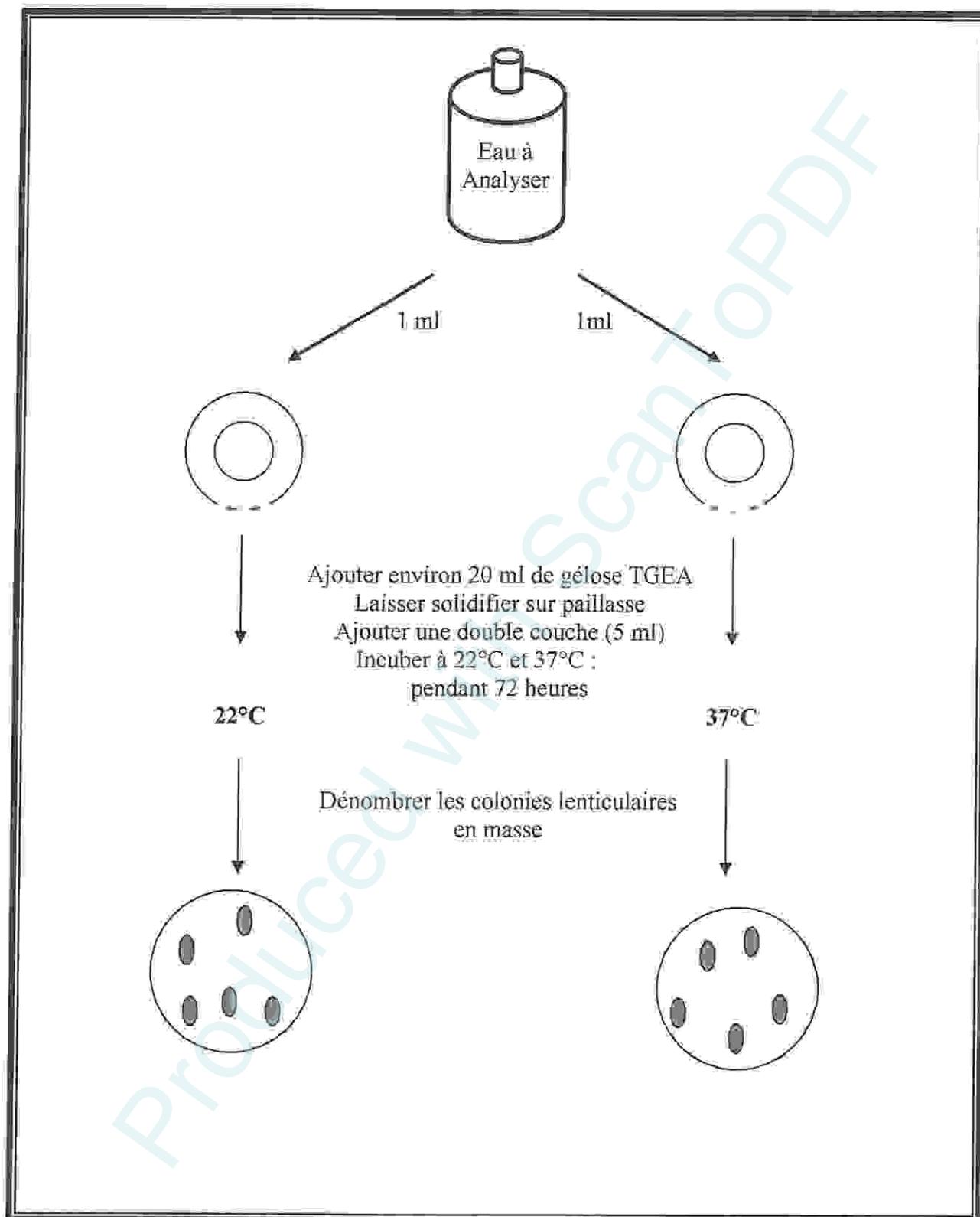


Fig.9. Recherche et dénombrement des germes revivifiables. (Labres, 2002).

3.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale:

3.2.1. Recherche des coliformes totaux par filtration:

Les coliformes totaux sont des bactéries provenant du sol et de l'environnement ces coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives. (3)

➤ Principe:

Cette technique consiste à filtrer sur des membranes montées dans un appareil de filtration une quantité d'eau brute (ou diluée), puis à appliquer ces membranes sur des milieux sélectifs coulés en boîtes de Pétri.

Après incubation, les colonies développées seront dénombrées (Fig.10). (Dellaras, 2003).

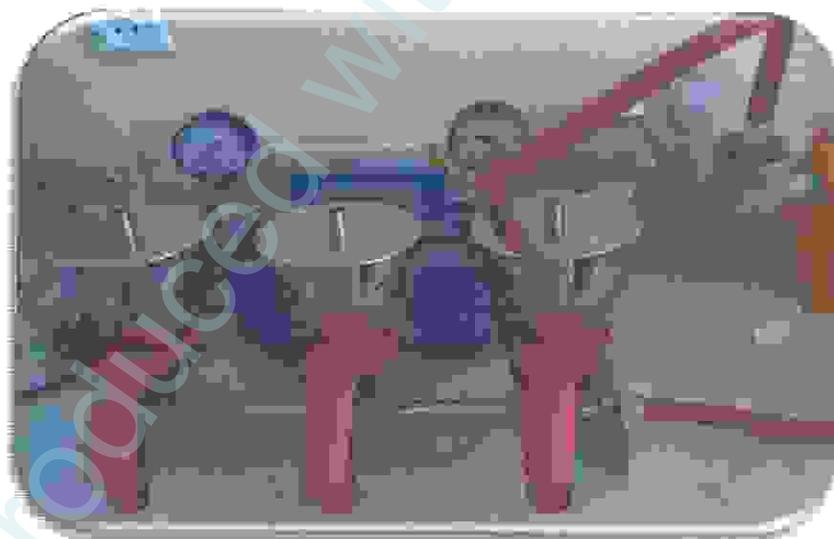


Fig10. Rampe de filtration. (14/04/ 2011).

➤ **Mode opératoire:**

La colimétrie par filtration est une méthode rapide, simple, normalisée mais nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration.

- Tout d'abord, il faudrait stériliser un entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir soit avec l'eau à analyser ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- Prendre une membrane filtrante de 0,45 μ stérile près du bord à l'aide d'une pincette stérilisée et la déposer ensuite sur le support de filtre.
- Placer l'entonnoir sur le support et le fixer fermement.
- Remplir par la suite l'entonnoir par les volumes requis, selon la nature de l'échantillon analysé.
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Pétri contenant de la gélose TTC.
- Inscrire sur la boîte de Pétri le numéro de l'échantillon et le volume filtré.
- Placer la boîte de Pétri en position inversée pour empêcher la condensation sur la membrane.
- Cette membrane sera incubée à 37°C, pendant 24 heures et servira à la recherche des coliformes totaux. (Lebres, 2002).

3.2.2. Recherche des coliformes fécaux par filtration:

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et dans une moindre mesure certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés.

➤ **Mode opératoire:**

- Stériliser l'entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir soit avec l'eau à analyser ou bien avec de l'eau distillée stérile.

- Prendre une membrane filtrante de $0,45 \mu$ stérile près du bord à l'aide d'une pincette stérilisée et la déposer ensuite sur le support de filtre.
- Placer l'entonnoir sur le support et le fixer fermement.
- Remplir par la suite l'entonnoir par les volumes requis, selon la nature de l'échantillon analysé.
- Actionner de la même façon la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Pétri contenant de la gélose TTC.
- Inscrire sur la boîte de Pétri le numéro de l'échantillon et le volume filtré.
- Placer la boîte de Pétri en position inversée pour empêcher la condensation sur la membrane.
- Cette deuxième membrane sera incubée à 44°C , pendant 24 heures et servira à la recherche des coliformes fécaux (Fig11). (Lebres, 2002).

Tab.7. Volume de l'échantillon analysé selon sa nature.

Provenance de l'eau	Volumes en ml
Eau potable traitée ou non traitée, eau souterraine (puits).	100 ml
Eaux de surface (rivières, lacs, plages, etc.)	50, 10 et 1 ml
Eaux usées domestiques, municipales, industrielles, etc. Lixiviats de sites d'enfouissement sanitaire, etc.	10 et 1 ml de chacune des dilutions.
Boues d'eaux usées industrielles, municipales, domestiques, etc. Sols, déchets solides et sédiments contaminés.	10 et 1 ml de chacune des dilutions effectuées à partir de la suspension dans l'eau tamponnée.

➤ **Lecture et interprétation:**

- Après la période d'incubation, sortir et ranger les boîtes de Pétri par ordre de numéro d'échantillon. L'observation des membranes s'effectue le plus tôt possible après leur sortie de l'incubateur.
- Les coliformes totaux et fécaux apparaissent sous forme de petites colonies jaunes ou orangées, lisses, légèrement bombées (colonies typiques).
- Etant donné le caractère sélectif de la gélose TTC, ne pousseront théoriquement que les coliformes.
- Ne dénombrer que les boîtes refermant entre 15 et 300 colonies.
- Le nombre de colonies trouvées sera exprimé en unités formant des colonies (UFC) par le volume d'échantillon analysé selon l'équation générale suivante :

$$\text{UFC/100 ml} = \frac{\text{Nombre de colonies de coliformes totaux}}{\text{volume d'échantillon analysé en ml}} \times 100$$

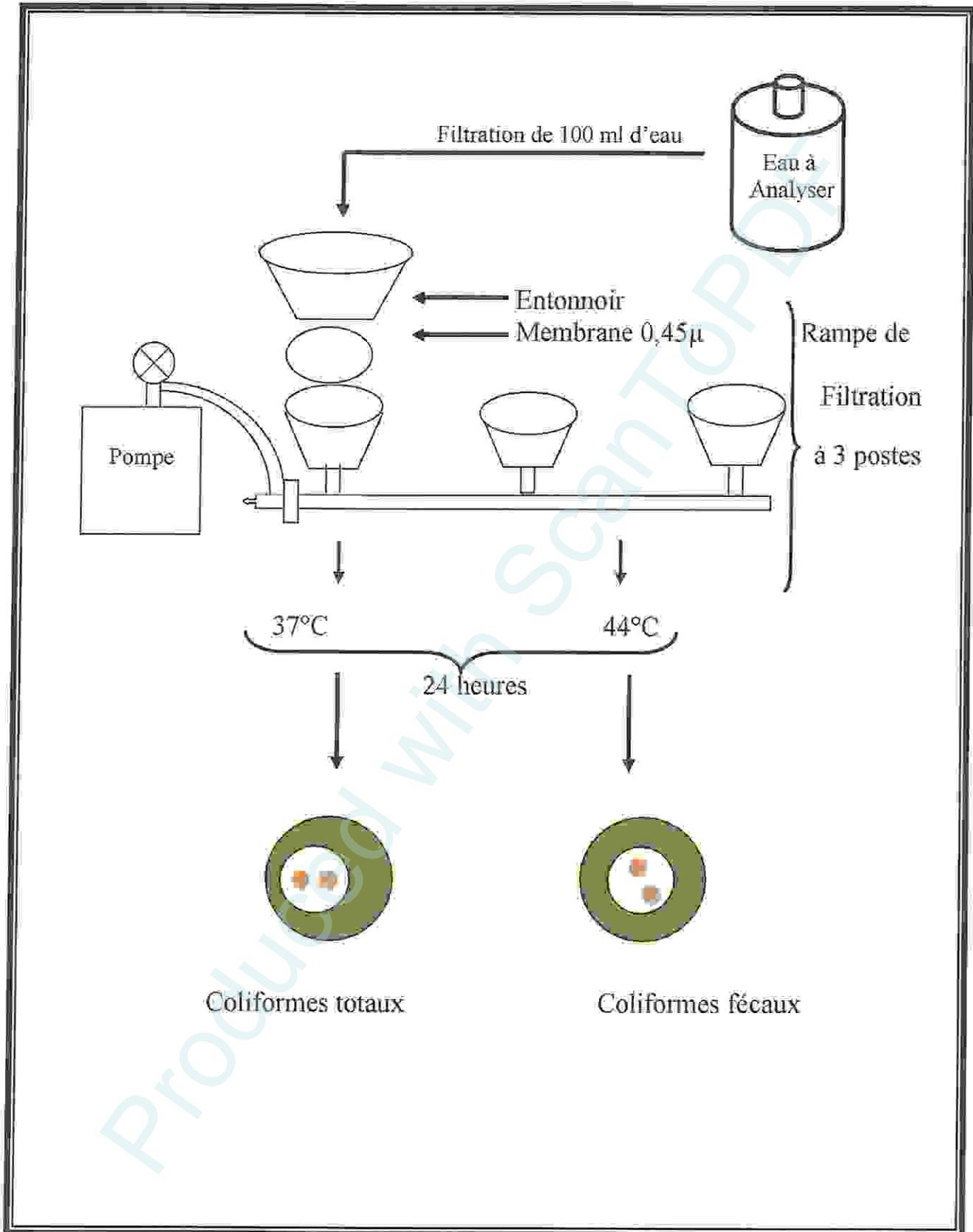


Fig.11. Colimétrie par filtration. (Lébres, 2002).

3.2.3. Recherche des streptocoques fécaux par filtration:

Ces bactéries appartiennent à la famille des streptococcaceae, sont des cocci généralement disposées en diplocoques ou en courte chaîne, à gram négatif, asporulantes, immobiles, aérobies facultatifs et possédant un métabolisme fermentatif. Ces germes colonisent l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur présence dans le milieu hydrique prouve une pollution d'origine fécale de l'eau. (7).

➤ Mode opératoire :

La Streptométrie par filtration est tout comme la colimétrie par filtration une méthode rapide, simple, normalisée mais nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration.

- Tout d'abord, il faudrait stériliser un entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir soit avec l'eau à analyser ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de 0,45 μ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dernier avec la pince correspondante.
- Remplir par la suite l'entonnoir par les volumes requis, selon la nature de l'échantillon analysé.
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Pétri contenant de la gélose Slanetz et Bartley.
- Cette membrane sera incubée à 37°C, pendant 24 heures. (Lebres, 2002).

➤ Lecture et interprétation:

- Après 24 heures d'incubation, les streptocoques fécaux apparaissent sous forme de petites colonies rouges, marrons ou roses, lisses, légèrement bombées.
- Etant donné le caractère sélectif de la gélose Slanetz; ne pousseront théoriquement que les streptocoques fécaux.
- Ne dénombrer que les boîtes refermant entre 15 et 300 colonies.
- Le nombre de colonies trouvées sera exprimé dans 100 ml d'eau à analyser.

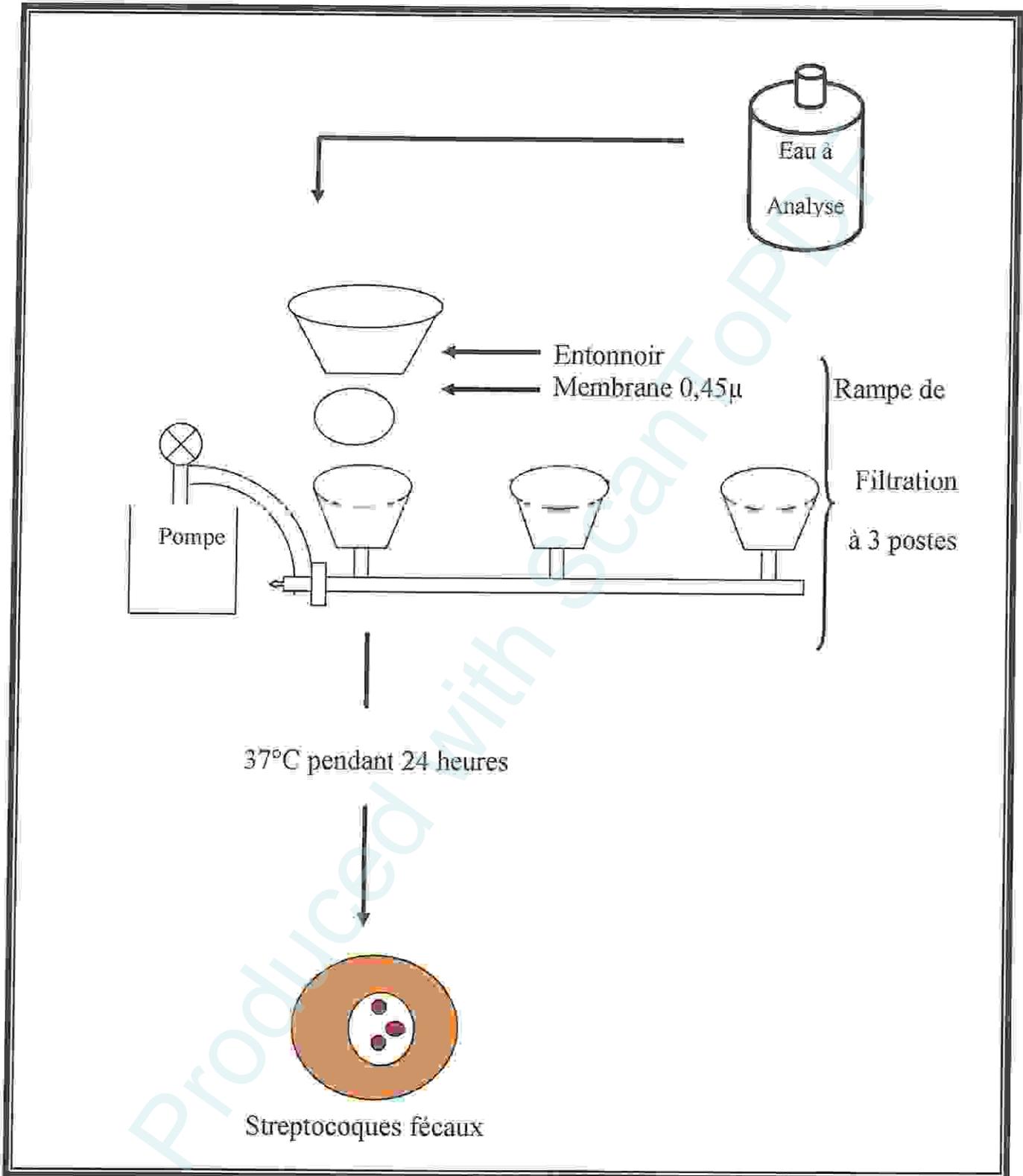


Fig.12. Streptométrie par filtration. (Labres, 2002).

3.2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréductrices (ASR) :

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

➤ Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser :

- prendre environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet. Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 20 ml de gélose Viande Foie, fondue, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium, puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant la formation des bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C , pendant 24 à 48 heures.

➤ Lecture :

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures. Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser (Fig. 13). (Lebres, 2006).

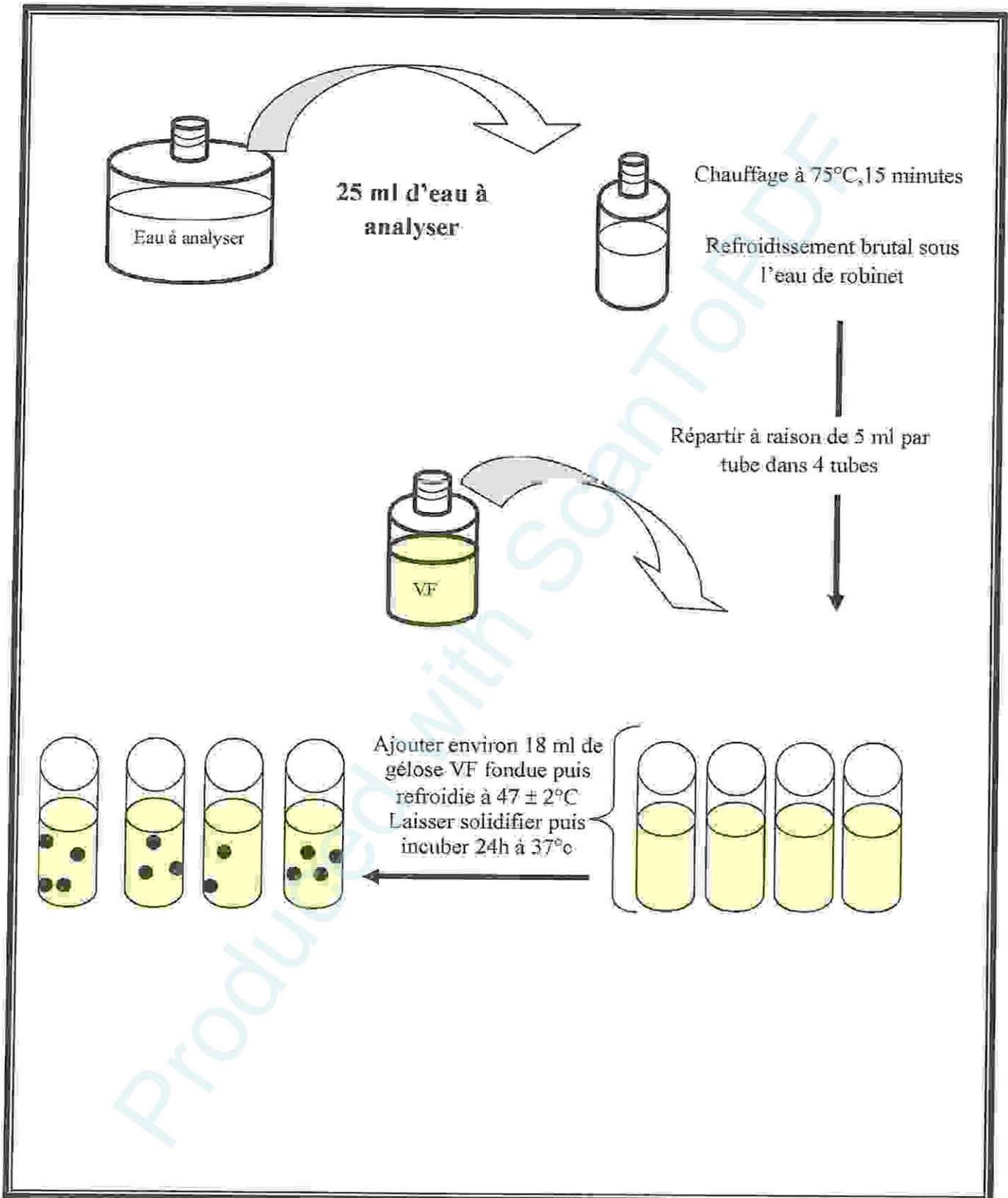


Fig.13. Recherche et dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs.

(Bouchaala, 2010).

3.3. Recherche des germes pathogènes

3.3.1. Recherche des Staphylocoques sur le milieu de Chapman gélosé :

Les Staphylocoques sont les bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, coagulase positive, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, possédant l'enzyme catalase et la coagulase. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ sur un milieu sélectif Chapman au mannitol. (Pechère *et al.*, 1982; Carbonnelle, 1988 ; Labres *et al.*, 2008).

Ce milieu est caractérisé par sa forte concentration en chlorure de sodium ce qui permet un isolement sélectif des staphylocoques. La fermentation du mannitol est indiquée par le virage au jaune de l'indicateur coloré, « le rouge de phénol », autour des colonies. (Rodier *et al.*, 1996).

➤ **Mode opératoire :**

A partir de la solution mère, on porte aseptiquement ~0,1 ml (2 gouttes) dans les boîtes de pétri qu'on étale à l'aide d'un râteau (ou en utilisant la méthode des cadrans).

➤ **L'incubation :**

L'incubation se fait à 37°C pendant 48 heures.

3.3.2. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

➤ **Isolément :**

L'isolement est fait directement sur milieu sélectif King A et King B. Nous ensemençons l'eau à analyser par stries à la surface de la gélose à l'aide d'une anse de platine. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Pilet *et al.*, 1987).

➤ **Confirmation :**

- Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle (il permet d'observer la mobilité des germes) et la coloration de Gram.

- Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.
- Recherche de la pyoverdine : présente une teinte verte fluorescente est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. (Pilet et al, 1987).

3.3.3. Recherche des Salmonelles:

La recherche des salmonelles se fait par la méthode qualitative réalisée en trois étapes successives : le pré enrichissement, l'isolement, et l'identification biochimique. (Rodier et al, 1996).

La recherche des Salmonelles comporte plusieurs étapes :

Jour 1: Prénrichissement

Ensemencement du milieu liquide (eau peptonée tamponnée), ajouter l'échantillon à un volume égal d'eau peptonée tamponnée, puis incubé à 37°C pendant 16 heures au moins et 20 heures au plus.

Jour 2: Enrichissement

Cette étape consiste en l'ensemencement du milieu sélectif SFB à partir du bouillon de préenrichissement puis incubation à 37°C pendant 48 heures.

Jour 3 : Isolement

Ensemencement du milieu sélectif solide Hektoen ou du milieu SS à partir du bouillon d'enrichissement; l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

- Identification des colonies présumées à l'aide de tests biochimiques ou sérologiques (Fig.14). (6).

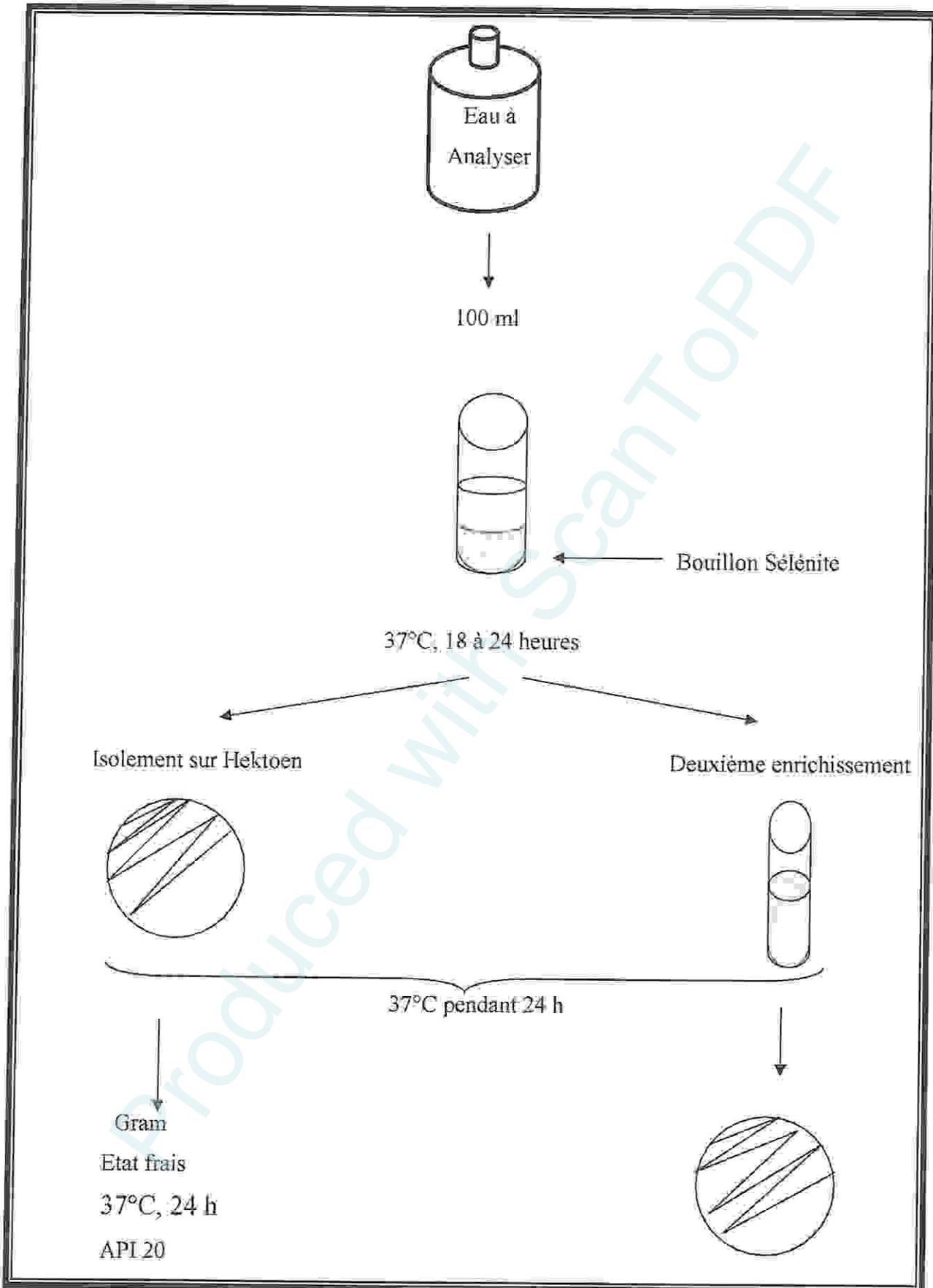


Fig.14. Recherche des Salmonelles. (Lebres, 2002).

3.4. Recherche des levures et moisissures:

Nous avons utilisés la technique d'isolement par stries sur gélose coulée dans des boîtes de Pétris contenant de la gélose Sabouraud. L'identification des levures et moisissures est effectuée par une coloration simple entre lame et lamelle sur les cultures en milieu solide, ayant permis d'observer les caractères cultureux, la forme et la taille des colonies.

3.5. Tests complémentaires :

3.5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux :

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

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

3.5.2. Examen microscopique après coloration:

Après Coloration simple :

C'est une coloration d'orientation : elle permet d'étudier la taille, la forme et le mode de regroupement des cellules bactériennes. Un seul colorant est généralement utilisé, le plus souvent c'est le bleu de méthylène. Ces renseignements peuvent être fournis par une simple préparation à l'état frais (coloration vitale) entre lame et lamelle, ou à l'état tué. (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2010).

Après coloration de Gram :

➤ Principe:

Le principe de cette coloration est que le violet de gentiane se fixe sur des composants cytoplasmiques et après ce temps de coloration, toutes les bactéries sont violettes. Chez les bactéries à **Gram négatif**, la paroi riche en lipides laisse passer l'alcool qui décolore le cytoplasme et adopte la couleur rosâtre de la Fushine, alors que chez les bactéries à **Gram positif**, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet. (6).

➤ Mode opératoire:

- Un frottis fixé à la chaleur et coloré pendant une minute avec une solution de violet de gentiane, le frottis coloré est rincé rapidement avec une solution iodo-iodurée de Lugol, et il y est maintenu pendant une minute.
- Le frottis est ensuite décoloré avec l'alcool à 95 % pendant quelques secondes jusqu'à élimination de l'excès du colorant puis rincé immédiatement avec l'eau du robinet.
- Le frottis est ensuite traité avec un colorant qui est une solution de Fushine, rincé rapidement au robinet et séché.
- Après ce traitement, les cellules Gram négatif apparaissent roses et les cellules Gram positif apparaissent sous une couleur violette. (6).

3.5.3. Examen liés aux caractères biochimiques :

3.5.3.1. La galerie API20E :

La galerie API20E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles Gram négatif utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés ainsi qu'une base de données. (Rouaiguia et Cheriet, 2010).

➤ Principe :

La galerie API20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la

période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif. La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API20E. (Rouaiguia et Cheriet, 2010).

➤ **Mode opératoire :**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules des autres tests).
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 18-24 heures. (Delarras, 1998).

➤ **Lecture :**

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

- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacks. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20 E. (Fig.15). (Aouissi et al., 2007).

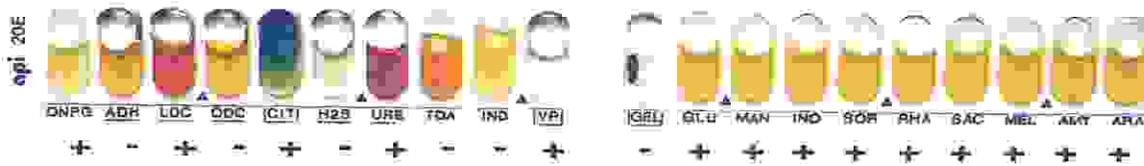


Fig.15. Galerie API20E. (Merzoug, 2009)

3.5.3.2. La galerie Api 20 NE :

➤ Principe :

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée.

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

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

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification. (4).

➤ Mode opératoire :

- **Préparation de la galerie :** Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.
- **Préparation de l'inoculum :** Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile.
- **Inoculation de la galerie :**
 - *Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente. Eviter la formation de bulles.
 - *Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente dans une ampoule AUX Medium. Homogénéiser.
 - * Remplir les tubes et cupules des tests GLU à PAC.
 - *Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests GLU, ADH, URE.

*Incuber 24 heures à 30°C. (4).

➤ **Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture. Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de résultats. (4).



Fig.16. Galerie API20 NE. (8).

4. Analyse physico-chimique

4.1. Mesure *in situ* :

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place en plongeant directement le matériel dans l'eau. La température, le pH et la conductivité doivent être mesurés sur place. Ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et susceptibles de varier dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur le site.

4.1.1. La couleur apparente:

Une eau pure observée sous une lumière transmise sur une profondeur de plusieurs mètres émet une couleur bleue claire car les longueurs d'onde courtes sont peu absorbées alors que les grandes longueurs d'onde (rouges) sont absorbées très rapidement. La couleur des eaux de surface est due généralement à des substances colorées d'origine variées, (substance humiques, algues, substance minérales et rejets). (Rejsek, 2002).

La couleur apparente d'une eau c'est la couleur due aux substances dissoutes et aux matières en suspension. (Rodier, 1996; Rejsek, 2002).

4.1.2. La température:

Il est très 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 des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique et dans la détermination de pH.

D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et de leur origine. (Leclerc, 1996).

La mesure de la température est effectuée sur le terrain, on utilise souvent dans ce but un thermomètre ou un multi paramètres. La lecture est faite après une immersion de 10 minutes. (Rodier, 1996; Boukrouma, 2008).

4.1.3. Le pH:

Le pH d'une eau représente son acidité ou son alcalinité, le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés, il varie entre 7,2 et 7,6 habituellement. Le pH est un élément important pour définir le caractère agressif ou incrustant d'une eau. Pour la mesure du pH nous avons utilisé un pH mètre.

L'OMS préconise pour l'eau destinée à la consommation humaine un pH compris entre 6,5 et 8,5.

Tab.8. Classifications des eaux d'après leur pH. (Agrigon, 2000; Hakmi, 2002).

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

4.1.4. La conductivité électrique:

L'eau pure est peu conductrice du courant électrique car elle ne contient que très peu de particules chargées électriquement (ions), susceptibles de se déplacer dans un champ électrique. La mesure se fait à l'aide d'un multi-paramètre. L'unité de conductivité est le micro-siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

La conductivité traduit la minéralisation totale de l'eau. Sa valeur varie en fonction de la température. (Rodier, 1996).

La conductivité est liée à la présence d'ions en solution. Elle augmente avec la température et la concentration en sels dissous.

4.1.5. La salinité:

La présence de sel dans l'eau modifie certaines propriétés (densité, compressibilité, point de congélation, température du maximum de densité). D'autres (viscosité, absorption de la lumière) ne sont pas influencées de manière significative. Enfin certaines sont essentiellement déterminées par la quantité de sel dans l'eau (conductivité, pression osmotique).

Le chlorure de sodium (NaCl) n'est qu'un des très nombreux sels composant l'eau, pour la mesure de la salinité on utilise un multi-paramètre. (Merzoug, 2009).

4.1.6. Dosage du chlore (méthode à la DPD):

➤ Principe:

Dans ce dosage, la DPD sert d'indicateur rodox, coloré en rose en milieu oxydant et incolore en milieu réducteur à un pH compris entre 6,2 et 6,5. Le chlore libre réagit instantanément avec la DPD en absence d'ions iodure dans le milieu réactionnel. (Rejsek, 2002).

➤ **Mode opératoire:**

La DPD est introduite sous forme de pastille dans un volume d'échantillon déterminé. la coloration développée est ensuite mesurée visuellement par rapport à des échelles de couleur ou avec des petites colorimètres de terrain. Ces méthodes sont très utiles lors de la vérification, en dehors du laboratoire. (Rejsek, 2002).

4.2. Mesure au laboratoire

4.2.1. La minéralisation de l'eau (TDS):

La quantité des sels minéraux dissous influence la conductivité, la mesure qui permet de déterminer la quantité totale de sels minéraux dissous dans l'eau qui est appelée le TDS. Une eau, dont la minéralisation est inférieure à 600 mg/l, est généralement considérée comme bonne.

La mesure de la TDS se fait dans le laboratoire à l'aide d'un multi-paramètre ou un TDS mètre en mettant une quantité de l'eau à analyser dans une cuve stérile et introduire cette eau dans l'une des appareils. (Rodier, 1996).

4.2.2. La dureté totale TH :

➤ **Principe :**

Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont anionés à former un complexe du type chélation par le sel disodique de l'acide éthylène-diaminetétracétique à pH 10, la disparition des dernières traces d'éléments libres à doser est décelée par le virage d'un indicateur spécifique.

En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du magnésium, la méthode permet de doser les sommes des ions calcium et magnésium.

➤ **Mode opératoire :**

- Prélever 100ml d'eau à analyser, ajouter 2ml solution tampon (pH=9.5 à 10) et quelques graines d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage rouge ou bleu. (Boukertouta *et al.*, 2009).

➤ **Expression des résultats :**

Soit V le volume de la solution d'EDTA versée.

$$\text{TH (F}^\circ\text{)} = V \text{ (ml)} \times 10$$

4.2.3. La résistivité

La résistivité électrique est l'inverse de la conductivité et donne elle aussi une idée de la minéralisation globale de l'eau destinée à la consommation humaine. Une eau pure ou qui vient d'être distillée conduit mal au courant électrique (forte résistivité) mais dès que cette eau se charge en matières organiques ionisées, sa conductivité qui devient alors élevée. La mesure de la résistivité se fait dans le laboratoire à l'aide d'un multi-paramètre. L'unité de la résistivité est l'ohmes.cm. (5).

La relation entre la résistivité et la conductivité est la suivante:

$$\text{Résistivité } (\Omega.\text{cm}) = \frac{1000000}{\text{conductivité } (\mu\text{s/cm})}$$

4.2.4. La détermination du titre Alcalimétrique (TA-TAC):

➤ **Principe :**

Le Titre Alcalimétrique (TA) mesure la teneur de l'eau en Alcalis libres et en Carbonates Alcalins Caustiques.

Le Titre Alcalimétrique Complet (TAC) correspond à la teneur de l'eau en alcalis libres, Carbonates et Bicarbonates.

➤ **Mode opératoire :**

La détermination du TA :

Prélever 100 ml d'eau à analyser dans une fiole conique. Ajouter 1 à 2 gouttes de solution alcoolique de phénol phtaléine. Une coloration rose doit alors se développer. Dans le cas contraire le TA est nul, ($\text{pH} < 8,3$).

Verser ensuite doucement l'acide dans la fiole à l'aide d'une burette, en agitant constamment, et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution ($\text{pH} 8,3$).

Soit V le volume d'acide utilisé pour obtenir le virage. (Rodier, 2009).

La détermination du TAC :

Utiliser l'échantillon traité précédemment ou le prélèvement primitif s'il n'y a pas eu de coloration. Ajouter 2 gouttes de solution de vert de bromocrésol et de rouge de méthyle et titrer de nouveau avec le même acide jusqu'à disparition de la coloration bleu verdâtre et apparition de la couleur rose ($\text{pH} 4,5$). Le dosage doit être effectué rapidement pour réduire les pertes de CO_2 qui pourraient entraîner une élévation du pH de virage (voir ci-dessus).

Soit V' le volume d'acide 0,02 N versé depuis le début du dosage. (Rodier, 2009).

➤ **Expression des résultats :**

V : exprime le titre alcalimétrique en degrés français

V' : exprime le titre alcalimétrique complet en degrés français.

4.2.5. Les chlorures (Méthode de Mohr):

➤ **Principe :**

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

➤ **Mode opératoire :**

- Introduire 100 ml d'eau à analyser (préalablement filtrée si nécessaire).
- Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide nitrique pur puis une pincée de carbonate de chaux et 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10 %.
- Verser alors au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rougeâtre, qui doit persister 1 à 3 minutes.

Soit V le nombre de millilitres de nitrate d'argent 0,1 N utilisés. (Rodier, 2009).

➤ **Expression des résultats:**

Pour une prise d'essai de 100 ml:

$$V \times 10 \times 3,55$$

4.2.6. Dosage simultané du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA :

➤ **Principe :**

Le principe est le même que pour la mesure de la dureté calcique, mais l'utilisation de deux indicateurs permet de doser successivement et sur un même échantillon, le calcium et le magnésium. (Rodier, 2009).

➤ **Mode opératoire :**

Ajouter à l'échantillon à analyser 3 ml de solution d'hydroxyde de sodium puis quelques gouttes de solution de bleu d'ériochrome. Verser la quantité nécessaire de solution d'EDTA pour obtenir le virage au violet. Noter cette quantité (V_1). Ajouter 3,2 ml d'acide chlorhydrique N et agiter durant une minute jusqu'à parfaite dissolution du précipité magnésien. Verser 5 ml de la solution tampon et une goutte de solution de noir d'ériochrome. Bien mélanger. Introduire la quantité de solution d'EDTA nécessaire au virage au bleu (V_2). (Rodier, 2009).

➤ **Expression des résultats :**

Pour une prise d'essai de 50 ml :

– La teneur en calcium est égale à

$$\text{Ca (mg/l)} = \frac{V1.0,4008.1\ 000}{50}$$

– La teneur en magnésium est égale à

$$\text{Mg (mg/l)} = \frac{V2.0,243\ 1000}{50}$$

4.2.7. La détermination du sulfate (SO_4^{2-}) : Méthode Allemande (Mr. KERN)

➤ **Principe :**

Les ions Sulfates (SO_4^{2-}) sont précipités et passés à l'état de Sulfates de Baryum en présence de BaCl_2

➤ **Mode opératoire :**

- Prendre 20 ml d'eau à analyser puis compléter à 100 ml d'eau distillée. Ajouter 5 ml de la solution stabilisante.
- Ajouter 2 ml de Chlorure de Baryum.
- Agiter énergiquement pendant une minute.
- Lire au spectrophotomètre.

➤ **Expression des résultats :**

La lecture se fait à une longueur d'onde 420nm

$$[\text{SO}_4^{2-}] \text{ mg/l} = \text{la valeur lue au spectrophotomètre} \times \text{la dilution.}$$

4.2.8. Les bicarbonates (HCO_3^-):

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence des bicarbonates, carbonates et hydroxydes. La présence des bicarbonates dans l'eau est due à la dissolution des formations carbonates (cipolin, calcaire) par des eaux chargées en gaz carbonique. La concentration des bicarbonates est calculée selon la relation suivante:

$$[\text{HCO}_3^-] = \text{TAC} \times 12,2$$

TAC: Alcalinité totale.

1°F = 10 mg/l. (Rodier, 1996).

4.2.9. Les résidus secs:

➤ Principe :

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau. Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporisée dans une capsule tarée de résidu desséché et ensuite pesé.

➤ Mode opératoire :

- Tarer une capsule préalablement lavée, rincer avec de l'eau distillée et dessécher.
- Prélever 200ml d'eau à analyser.
- Porter à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.
- Laisser refroidir pendant ½ heures au dessiccateur.
- Peser immédiatement et rapidement. (Aminot, 1983; Rodier, 1996).

Chapitre III

Résultats et discussion

Produced with Scantopdf

1. Résultats des analyses microbiologiques

1.1. Résultats de la recherche et du dénombrement des micro-organismes de l'eau :

1.1.1. Germes totaux :

Dans notre étude on a recherché des germes totaux uniquement pendant le mois de mai et lors de la manipulation les boîtes contenant la culture de ces germes ont été contaminées, ce qui a empêché leur correct dénombrement.

1.1.2. Recherche et dénombrement des germes témoins de contamination fécale :

Le dénombrement microbien est une étape primordiale pour la détermination de la qualité de l'eau d'un écosystème. Le dénombrement des coliformes qui sont considérés comme des germes test de contamination fécale est une étape obligatoire. (Khaled et Mebarki, 2009).

1.1.2.1. Coliformes totaux :

L'évaluation du nombre de coliformes fécaux dans les eaux de Hammam Essalihine est présentée dans le Tableau ci-dessous.

Tab. 9. Evaluation du nombre des coliformes totaux.

	Juillet 2010	Avril 2011	Mai 2011
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	>300 UFC/100ml
S3	> 300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml

(-) : culture négative.

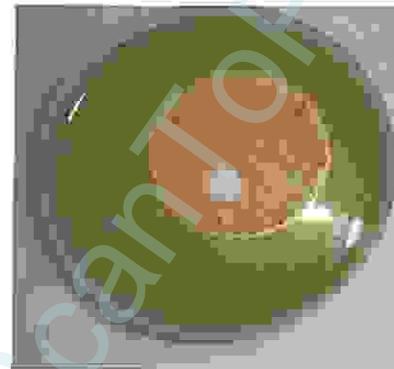
D'après les résultats présentés dans le tableau, on observe l'absence totale des coliformes totaux au niveau de la station (S1) pendant toute la période de l'étude.

Au niveau de la deuxième station, on observe l'absence des coliformes totaux pour le prélèvement d'avril et de juillet mais on a enregistré une contamination pendant le prélèvement de mois de mai.

Concernant la station (S3) le nombre des coliformes totaux dans l'eau analysée dépasse les 300 UFC/100ml durant toute la période d'étude.



Résultat négatif (S1).



Résultat positif (S3).

Fig.17. résultats de dénombrement des coliformes totaux (UFC/100ml).

1.1.2.2. Coliformes fécaux :

L'évaluation du nombre de coliformes fécaux dans les eaux de Hammam Essalihine est présentée dans le Tableau 10.

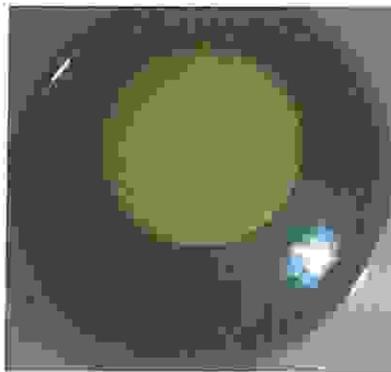
Tab.10. Evaluation du nombre des coliformes fécaux.

	Juillet 2010	Avril 2011	Mai 2011
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	12 UFC/100ml
S3	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml

(-) : culture négative.

D'après les résultats obtenus le taux des coliformes fécaux est nul dans la station (S1) pendant les trois mois, même chose pour la station (S2) sauf qu'on a détecté quelques colonies pendant le mois de mai.

Les mêmes constatations des coliformes totaux sont notées pour les coliformes fécaux ou le nombre de coliformes fécaux est supérieure à 300UFC/100ml. Cette contamination est peut être due au rejet de la station (S2) et à leur présence près des agglomérations



Résultat négatif (S1).



Résultat positif (S3).

Fig.18. résultats de dénombrement des coliformes fécaux (UFC/100ml).

(04/05/2011).

1.1.2.3. Streptocoques fécaux :

Le nombre de Streptocoque D dans l'eau est étroitement lié à la quantité et à la concentration de la matière fécale dans cette eau (Guiraud, 1998). Ces bactéries sont très sensibles aux variations physicochimiques du milieu. (Boukrouma, 2008).

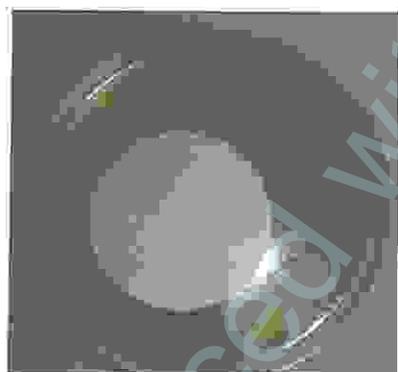
Les résultats sont exprimés dans le tableau ci dessous (Tab.11):

Tab.11. Evaluation du nombre des Streptocoques fécaux.

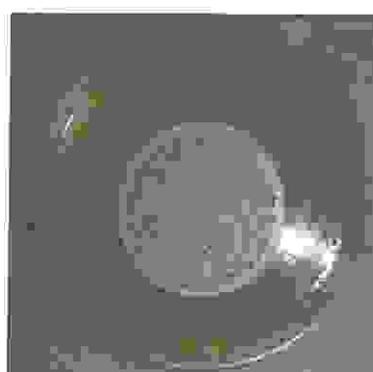
	Juillet 2010	Avril 2011	Mai 2011
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	20 UFC/100ml
S3	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml

(-) : culture négative.

Le tableau nous montre que la présence des streptocoques D a été enregistrée au niveau de la station (S3) durant les trois mois de prélèvement. Concernant la station (S2) les streptocoques fécaux apparaissent juste pendant le mois de mai ceci est peut être due à une contamination par la présence des matières fécales au niveau de cette station ou à une contamination pendant le prélèvement ou pendant les analyses.



Résultat négatif (S1).



Résultat positif (S3).

Fig.19.résultats de dénombrement des streptocoques fécaux (UFC/100ml).

1.1.2.4. Les Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR):

Les bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont souvent considérées comme des indices de contamination ancienne. La forme spore est beaucoup plus résistante que la forme végétative des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de détecter une pollution fécale. (Rouaiguia et Cheriet, 2010).

Tab. 12. Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs(ASR).

	Juillet	Avril	Mai
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	(-)
S3	(-)	(-)	(-)

(-) : Culture négative.

Pour les spores des ASR les résultats négatifs obtenus montrent l'absence des espèces sulfitoréductrices (*Clostridium* sp) responsables des maladies graves tels le botulisme et le tétanos.



Fig.20. Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs.

1.2. Identification des souches bactériennes :

1.2.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram:

Du point de vue microscopique, l'examen cytologique nous a révélé que les bâtonnets Gram négatif sont plus représentés par rapport aux cocci Gram positif qui demeurent faiblement représentés.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 13.

Tab. 13. Aspect macroscopique et microscopique des colonies.

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Gélose nutritive (GN)	-Circulaires, lisses, plates, blanchâtres, 2mm de diamètre. Muqueuses.	-Cocci Gram positif.
	-Blanchâtres, contour régulier, opaques et bombées, 1mm à 3 mm de diamètre.	-Cocci Gram négatif.
	- Blanchâtres, régulières opaques, plates	-Bacilles Gram négatif associées en chainettes.
Mac-Conkey	-Roses, opaques, bord régulier, bombées, 1 à 2 mm de diamètre.	-Bacilles isolés, Gram négatif.
	-Blanche avec halo violet, bombée, bord régulier, muqueuse, 2 mm. Circulaire, rigoureuse, transparente bombée, 1 mm de diamètre.	-Bacilles Gram négatif. -Bacilles Gram négatif.
Chapman	(-)	(-)
Hektoène	Colonie jaune punctiforme, régulière lisse de 0.5 mm de diamètre.	Bacilles Gram négatif.
SS	(-)	(-)
King A	-Colonie blanche translucide bombée régulière	-Bacilles à Gram négatif
King B	-Colonie blanche de grande taille bombée à bord irréguliers	-Bacilles à Gram négatif associées en chainettes.

(-) : culture négative.

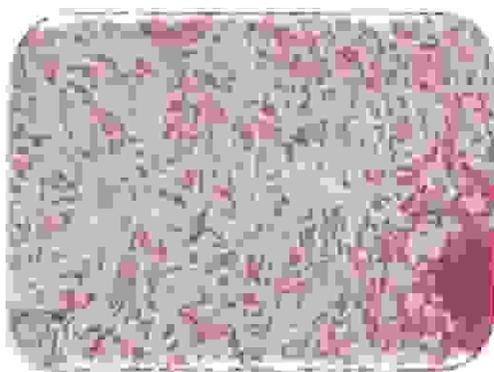


Fig.21. Bacilles Gram négatif.

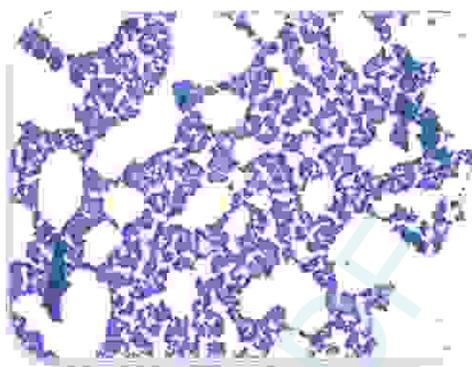


Fig.22. Cocci Gram positif.

1.2.2. Résultats de l'identification biochimique :

L'identification de ces bactéries par l'étude de leurs métabolismes (anabolisme + catabolisme) et de leurs arsenaux enzymatiques cellulaires par le biais de la galerie Api 20 E a permis d'identifier 8 espèces bactériennes.

Tab. 14. Résultats de l'identification biochimique.

Espèces bactériennes isolées	
Station 1	<i>Moraxella lacunata</i> . <i>Escherichia coli</i> .
Station 2	<i>Enterobacter cloacae</i> . <i>Serratia odorifera</i> .
Station 3	<i>Klebsiella oxytoca</i> . <i>Vibrio parahaemolyticus</i> . <i>Escherichia coli</i> . <i>Listonella domsela</i> .

La plus part des espèces isolées appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. D'après les résultats obtenus dans le dénombrement des germes témoins de contamination fécale on peut dire que la présence de (*Moraxella lacunata* et *Escherichia coli*) au niveau de la première station est due à une contamination externe des milieux de culture.

1.3. Levures et champignon :

L'aspect microscopique et macroscopique nous aide à différencier entre les levures et les champignons isolés dans le milieu Sabouraud.

Tab.15. Aspect macroscopique et microscopique des champignons.

Aspect macroscopique.	Aspect microscopique après coloration simple.
Colonie blanche, ronde, 2mm de diamètre.	Des langues filaments pour les champignons.

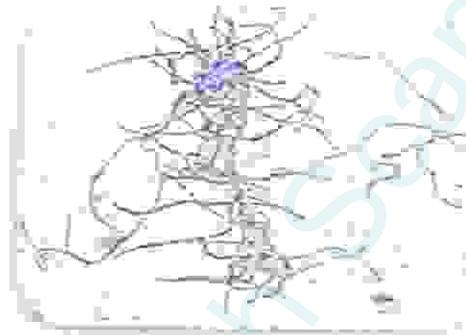


Fig.23. observation microscopique d'un champignon après coloration simple.

2. Résultats physico-chimiques

2.1. La couleur apparente:

Pour les deux stations (S1) et (S2) l'eau a été claire durant la période d'étude. Concernant la troisième station l'eau a été claire juste pendant le mois de juillet. Cette couleur a été altérée pendant le mois d'avril et de mai soit pendant les crues.

2.2. La température:

La température est une caractéristique importante de l'eau, qui a une influence sur les propriétés chimiques ainsi que sur l'activité microbiologique.

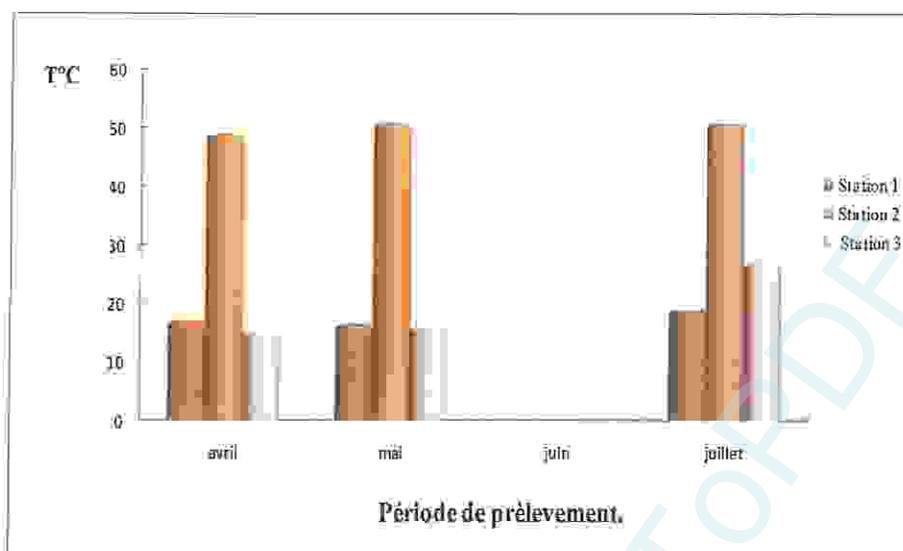


Fig.24. Variations spatio-temporelles de la température.

D'après le graphique, nous remarquons que la température de l'eau des trois stations augmente quand on s'approche à la période estivale. Cette augmentation est probablement due aux conditions climatiques. L'écart thermique entre ces trois stations de prélèvement est dû principalement à la nature de chacune de celle-ci.

2.3. Le pH:

Le pH est considéré comme étant l'un des paramètres les plus importants de la qualité des eaux. Il doit être étroitement surveillé au cours de la période de prélèvement. (Brisou et Denis, 1980).

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés. Il donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité d'une eau. Du point de vue sanitaire, un pH élevé peut provoquer un problème de corrosion alors qu'un pH faible peut modifier le goût de l'eau. (Aouissi, 2009)

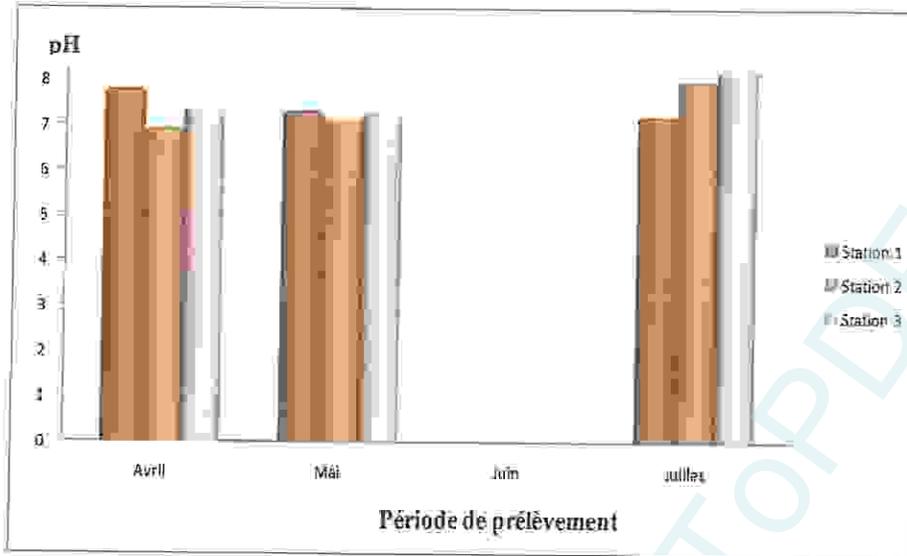


Fig. 25. Variations spatio-temporelles du pH.

D'après le graphique, Le pH de l'eau des deux premières stations de prélèvement est plus au moins neutre. Il oscille entre 6.93 et 7.99.

Nous observons qu'en moyenne, le pH de la station (S3) est élevé comparé à celui des deux autres stations (S1 et S2). Ceci est dû au rejet des eaux de baignade de la station (S2).

2.4. La conductivité:

Pour les eaux de surface, la minéralisation et la température de l'eau ont une influence sur la conductivité. Ainsi des modifications importantes de la conductivité peuvent s'observer rapidement au cours de la journée (Boukertouta *et al*, 2009).

La conductivité électrique présente des variations importantes s'observant essentiellement durant le mois d'avril. (Fig.26).

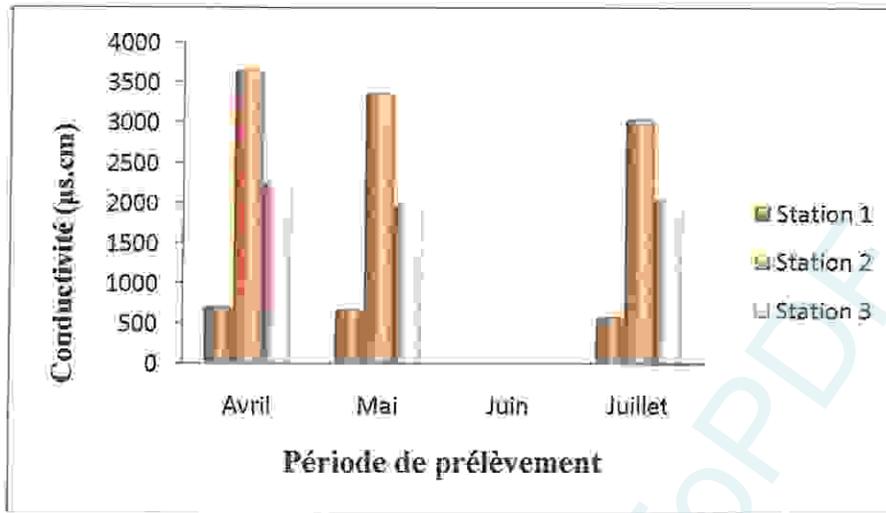


Fig.26. Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique.

La valeur la plus faible est 581 $\mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée au niveau de la station (S1) pendant le mois de juillet et elle répond à la norme de potabilité décrite par l'OMS, la plus élevée est de 3660 $\mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée au niveau de la station (S2) pendant le mois d'avril.

D'après la grille de la qualité des eaux de rivières (Monod, 1989) (Tab. 16). L'eau de la station (S3) est médiocre.

Tab.16. Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique. (Monod, 1989).

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

2.5 La salinité:

Les résultats de la salinité sont représentés dans le graphique ci-dessous:

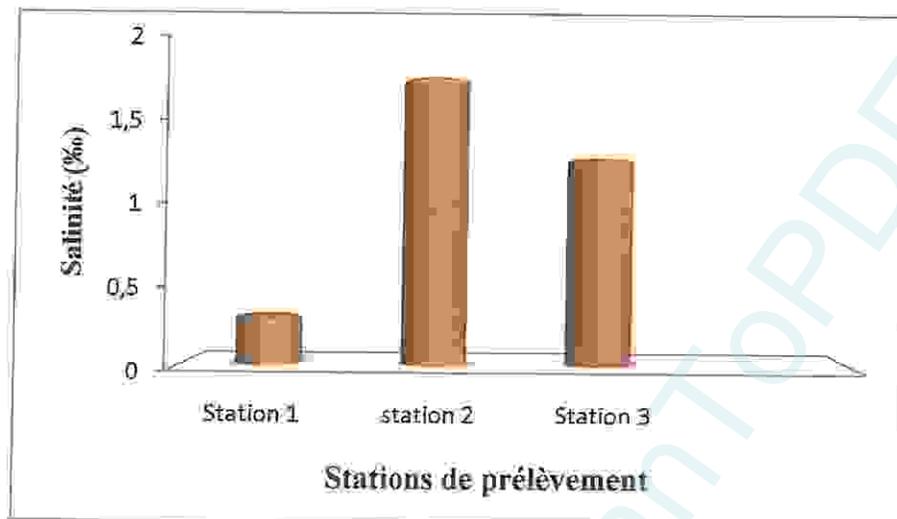


Fig.27. Valeurs de la salinité de l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

D'après les résultats obtenus, on constate que l'eau d'Ain Silène (S1) est une eau purement douce. Les deux autres stations présentent une salinité élevée.

2.6. Le chlore:

Après dissolution de la pastille DPD, aucun virage de couleur n'a été observé dans les tubes contenant les échantillons à analyser et ces résultats nous indiquent que la concentration en chlore est nulle au niveau des trois stations de prélèvement pendant toute la période de l'étude.

L'absence de chlore dans la station (S1) et dans la station (S2) est due principalement à la nature de ces stations car elles sont considérées comme des eaux naturelles (souterraines).

L'eau de la troisième station ne contient pas de chlore car tout simplement les eaux de baignades de la station (S2) sont rejetées dans ce cours d'eau sans traitement.

2.7. La minéralisation de l'eau (TDS):

La minéralisation globale nous renseigne sur la potabilité de l'eau. Les valeurs mesurées sont présentées dans la figure 28.

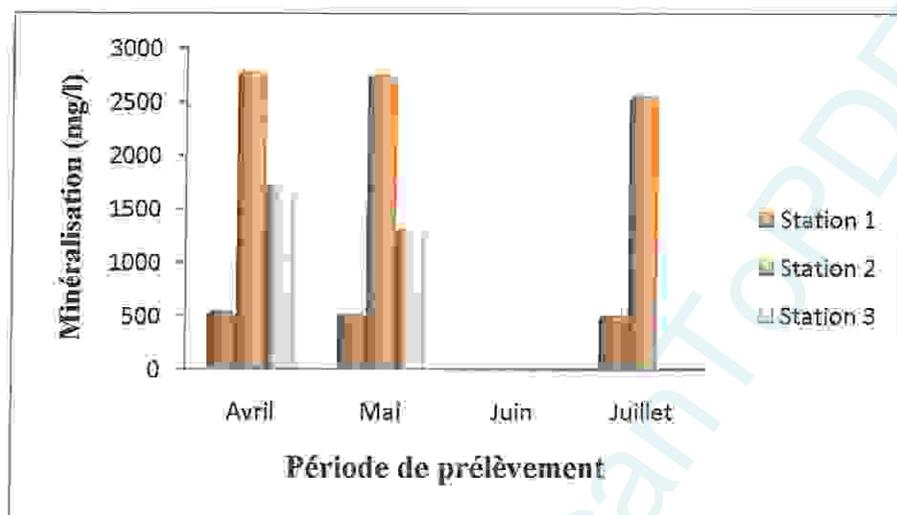


Fig.28. Variations spatio-temporelles de la minéralisation

Selon les résultats obtenus, on observe que les stations (S1) et (S3) présentent une minéralisation inférieure à 2000 mg/l (norme de l'OMS). Concernant la deuxième station, on a enregistré des valeurs élevées surtout pendant le mois d'avril.

2.8. La dureté (TH):

Selon l'origine de l'eau, la dureté peut être essentiellement calcique ou magnésienne, voire les deux à la fois. En fonction de la valeur de la dureté (TH), on peut déterminer le caractère de dureté de l'eau (Tab.16) :

Tab.17. Appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la dureté. (Rejsek, 2002)

Valeurs de la dureté	Qualité de l'eau
-Entre 0 et 10 °F	-Eau très douce
-Entre 10 et 20 °F	-Eau moyennement dure
-Entre 20 et 30 °F	-Eau dure
-Supérieure à 30°F	-Eau très dure.

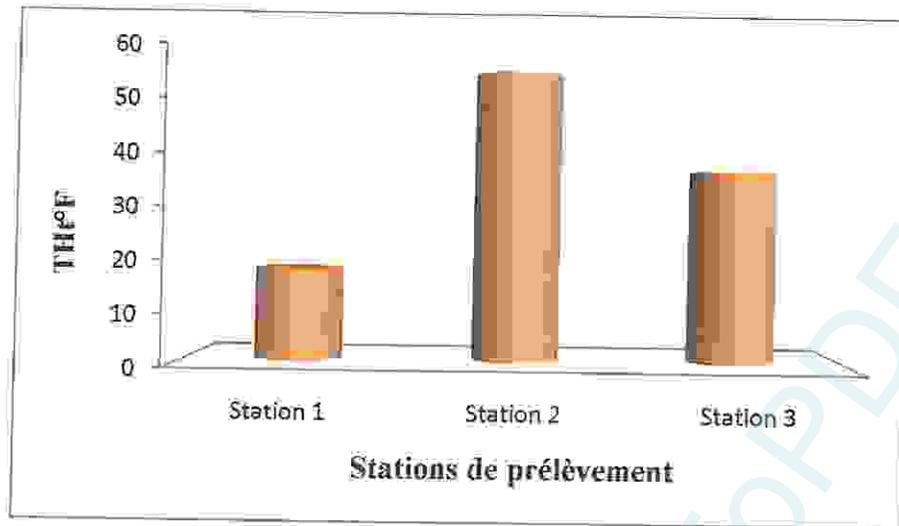


Fig.29. Variations la dureté de l'eau dans les différentes stations (Mai2011).

Les résultats obtenus nous montrent que les eaux des stations étudiées présentent des teneurs qui varient entre 18°F (S1) et 57°F (S3), et cette variation est due soit à la lithologie du terrain ou bien à des facteurs externes telle que la pollution (cas de la troisième station).

2.9. La résistivité:

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le graphique ci-dessous:

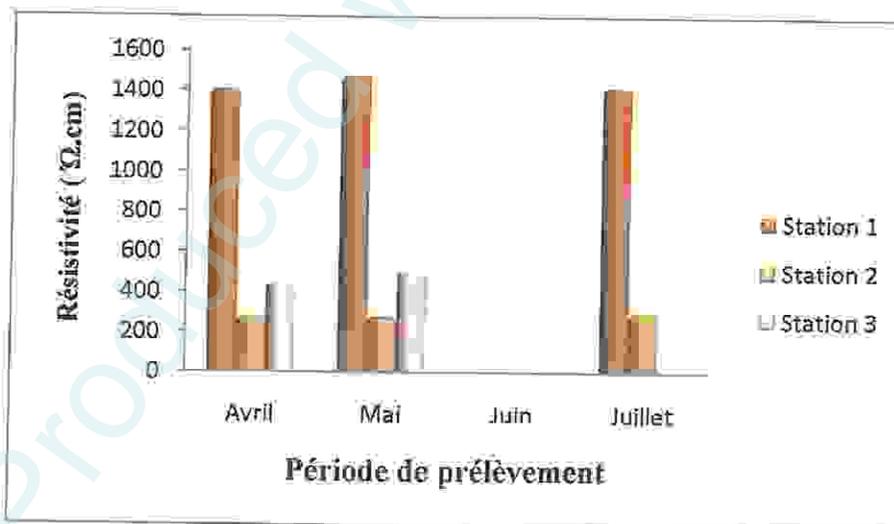


Fig.30. Variations spatio-temporelles de la résistivité.

Inversement à la conductivité les valeurs les plus élevées de la résistivité sont enregistrées au niveau de la première station (S1). Cette forte résistivité nous conduit à constater que l'eau de la station (S1) est une eau pure.

2.10. Titre alcalimétrique (TA-TAC):

Si le pH est compris entre 4.5 et 8.3 (cas des eaux naturelles) les seuls éléments alcalins présents en quantité mesurable par titrage sont les bicarbonates (HCO_3^-). Le TAC (titre alcalimétrique complet) traduit le caractère basique d'une eau $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-} + \text{OH}^-$ (Fig.31).

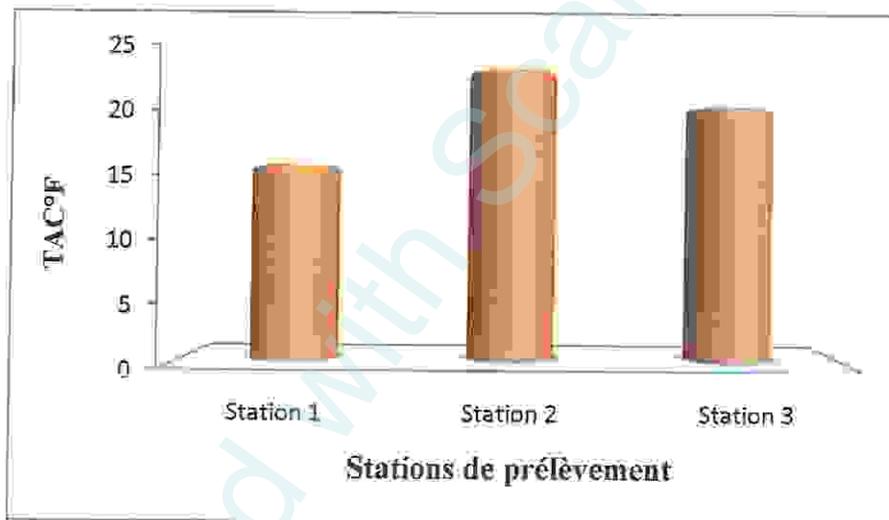


Fig.31. Variation de TAC de l'eau dans les différentes stations (Mai 2011).

D'après le graphique la valeur la plus faible 16°F a été mesurée au niveau de la station (S1), la plus élevée 24°F au niveau de la station (S2); mais en général toutes ces valeurs sont inférieures par rapport à la norme 30°F décrite par l'OMS pour les eaux destinées à la consommation humaine.

2.11. Les chlorures (Cl):

Les chlorures existent dans toutes les eaux à des concentrations très variables (Bremond et Vuichard, 1973).

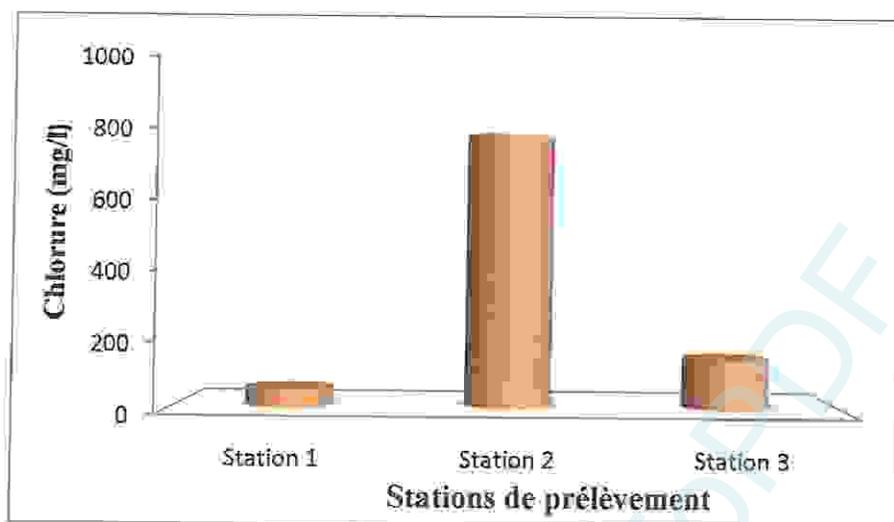


Fig. 32. Teneurs en chlorures en mg/l de l'eau de Hammam Essalibine (Mai 2011).

D'après ces résultats, on constate que les teneurs en chlorures varient d'une station à une autre. Les teneurs calculées au niveau de la station (S1) et la station (S3) sont inférieures à la norme de potabilité 200mg/l (OMS, 2002), ainsi que 809 mg/l ont été enregistré au niveau de la station (S2) qui est en réalité une source thermale.

2.12. Le calcium (Ca^{++}):

Le calcium est un métal alcalinoterreux extrêmement répandu dans la nature; dans les roches calcaires sous forme de carbonate; sa teneur dans les eaux superficielles varie essentiellement suivant la nature des terrains traversés (Fig.33). (Boukertouta *et al*, 2009).

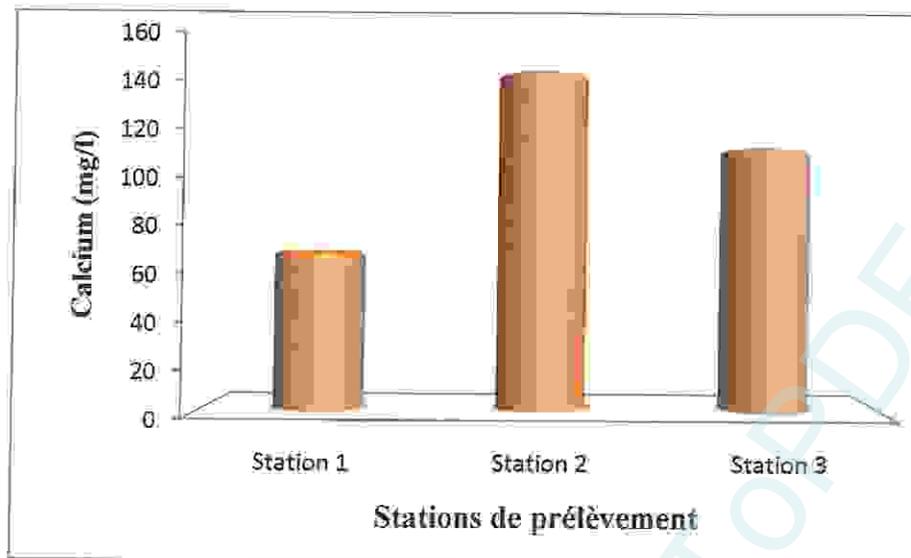


Fig.33. Variations des teneurs en Calcium dans l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

Le graphique nous montre que la concentration en calcium dans la station (S1) est inférieure à la norme de potabilité (100mg/l) pour les eaux destinées à la consommation humaine (OMS, 1994) et elle dépasse cette norme dans les deux autres stations.

2.13. Le magnésium (Mg⁺⁺) :

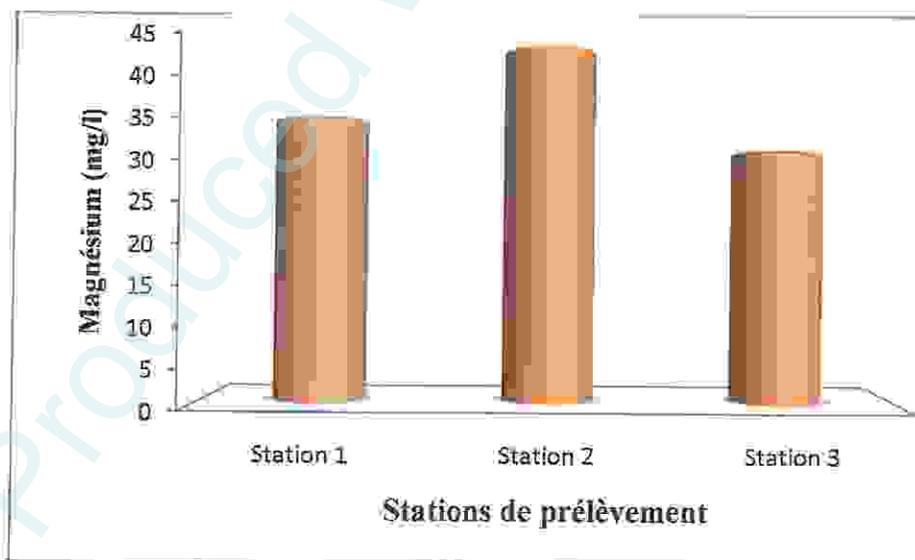


Fig.34. Variations des teneurs en Magnésium dans l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

D'après les résultats des analyses de magnésium, nous remarquons que tous les échantillons ont des teneurs inférieures à 50 mg/l qui est la teneur principale admissible décrite par l'OMS en 2002. Les cations Mg^{2+} ont la même origine et la même provenance que celles du Ca^{2+} (dissolution des formations carbonatées).

2.14. Le sulfate (SO_4):

La concentration maximale fixée par l'OMS en 2002 est de 250 mg/l. De fortes concentrations en sulfates provoquent des troubles gastro-intestinaux et peuvent donner un goût désagréable à l'eau. (Aouissi, 2009).

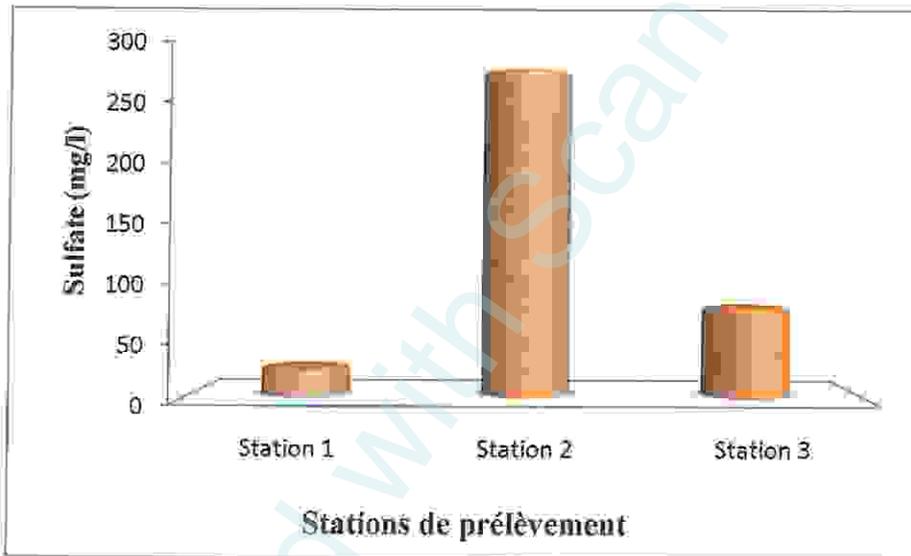


Fig.35. Variations des teneurs en sulfate de l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

Nous observons que les résultats sont extrêmement élevés au niveau de la station (S2) par rapport aux deux autres stations où on a enregistré les valeurs les plus faibles dans les stations (S1) et (S3), mais en général les deux teneurs restent inférieures à la norme fixée par l'OMS.

2.15. Les bicarbonates (HCO_3^-):

Les concentrations en bicarbonates dans les eaux naturelles dépendent essentiellement de la température ambiante, le pH de l'eau, de la concentration en gaz carbonique dissous et de la lithologie. (Sayad, 2008).

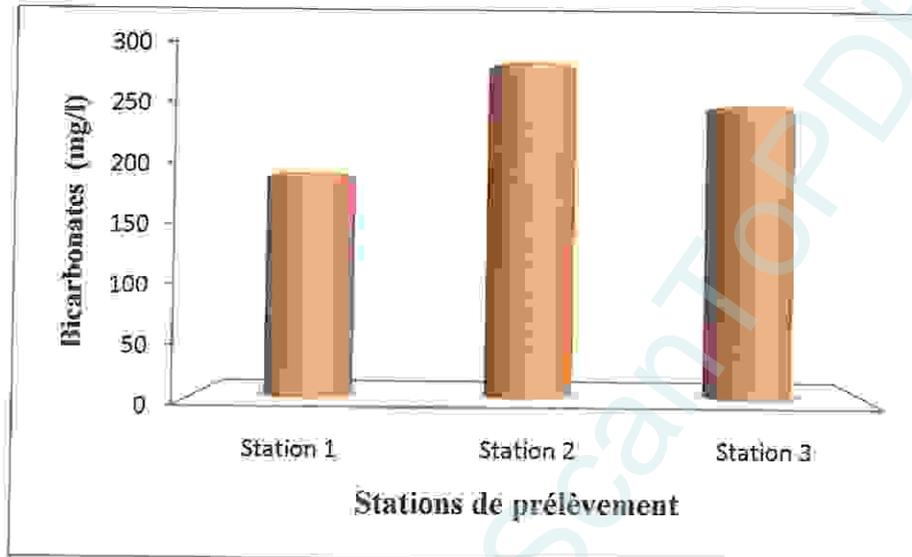


Fig.36. Variations des teneurs en bicarbonate de l'eau de Hammam Essalibine (Mai 2011).

D'après le graphique, on observe que la valeur extrême est enregistrée dans la deuxième station est ceci peut être dû à la nature de cette dernière (source thermique).

2.16. Résidus secs:

Le résidu sec est la quantité de la matière solide dans l'eau, autrement dit la somme des matières en solution et en suspension, (Merzoug, 2009).

Les résultats des résidus secs au niveau des trois stations sont récapitulés dans la figure ci dessous :

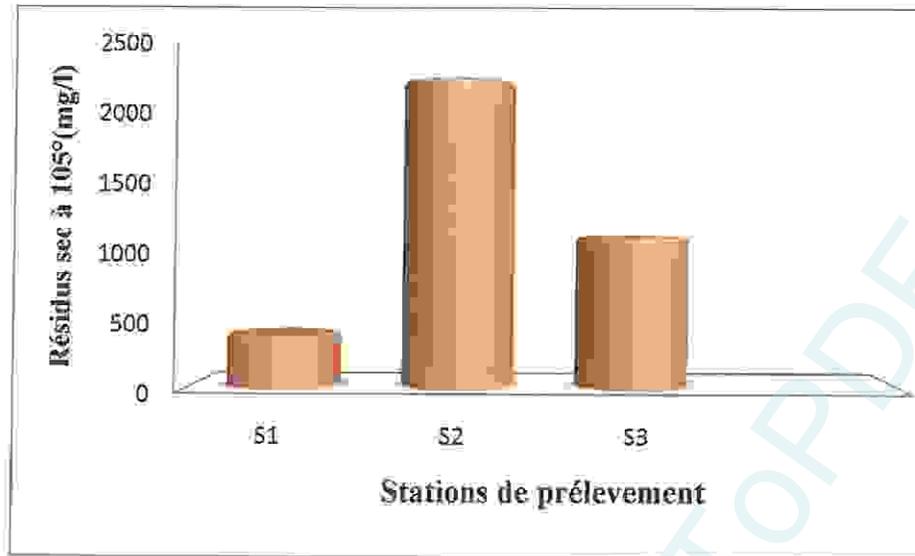


Fig.37. Valeurs de résidus secs à 105° pour les différentes stations (mai 2011).

La valeur maximale du résidu sec est de 2290 mg/l enregistrée dans la deuxième station de prélèvement et la plus faible valeur (390 mg/l) est observée au niveau de la station (S1).

Conclusion

Produced with www.scantopdf.eu TOPDF

Conclusion

Cette étude a été menée dans le but de déterminer la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de Hammam Essalihine (wilaya de Khenchela, Est de l'Algérie).

Hammam Essalihine est un site touristique et thérapeutique par excellence. Il est situé dans la commune d'El Flamma à 7 Km du chef lieu de la wilaya de Khenchela dans une région forestière au climat particulier, la date de son exploitation remonte à l'époque romaine.

La région de l'étude obéit à un climat continental, chaud et sec en été, froid et pluvieux en hiver. Les températures moyennes oscillent généralement entre 6°C durant le mois janvier et 27°C durant le mois de juillet. Les précipitations moyennes varient entre 400 et 600 mm/an, tandis que la moyenne au sud de la wilaya est de 200 mm/an. Les régions montagneuses sont souvent couvertes de neige en hiver.

Du point de vue microbiologique, les résultats que nous avons obtenus à travers les dénombrements réalisés pendant la période de l'étude ont permis de confirmer la bonne qualité de l'eau de Ain Silène. Pour l'eau de la source thermale Hammam Essalihine, le nombre des germes témoins de contamination fécale est très faible (ou presque nulle) ce qui nous a conduit à dire que cette eau est aussi de bonne qualité microbiologique. Les visiteurs peuvent l'utiliser sans aucun risque. Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de la troisième station nous exposent une contamination fécale, signalées par les fortes concentrations en coliformes fécaux et streptocoques fécaux. La cause de cette pollution est principalement due aux rejets des eaux de baignade de la station de Hammam Essalihine.

Du point de vue physico-chimique, une différence notable des taux et des teneurs mesurées est observée dans chaque paramètre étudié au niveau des trois stations d'étude. Cette variation est due soit à la lithologie du terrain ou bien à des facteurs externes tels que la pollution. La plus part des teneurs mesurées dans l'eau de Ain Silène répondent aux normes de salubrité. Les résultats des dosages effectués sur l'eau de Hammam Essalihine ont révélé une richesse en éléments minéraux tels que les bicarbonates, les sulfates, le calcium et le magnésium qui leurs confèrent des propriétés thérapeutiques. Ces analyses nous ont aussi montrée que l'eau de la troisième station est très polluée et ces résultats corroborent d'une manière générale avec une intensification des rejets des eaux usées domestiques.

Il est cependant important de signaler que les résultats microbiologiques et physico-chimiques bien qu'essentiels, ne représentent que des données ponctuelles autrement dit caractérisent une période bien déterminée et un lieu bien précis.

En recommandation, et pour éviter tout type de pollution nous proposons les solutions suivantes :

- ✓ Réaliser des suivis réguliers de la qualité de l'eau, en procédant aux contrôles des différents paramètres physicochimiques et microbiologiques pour intervenir en cas d'une anomalie.
- ✓ Pour l'agriculture, il est conseillé de ne plus utiliser l'eau de l'oued pour l'irrigation
- ✓ L'épuration des eaux usées avant leur évacuation dans les oueds s'avère une nécessité urgente. Il est donc indispensable d'édifier une station de traitement biologique et physicochimique des eaux rejetées.

Résumé

L'analyse physico-chimique et microbiologique de l'eau de trois stations de prélèvement: Ain Silène, Hammam Essalihine et Oued El Hammam (wilaya de Khenchela, Est de l'Algérie) a révélé que l'eau de Ain Silène est douce et de bonne qualité microbiologique et répond aux normes des eaux destinées à la consommation humaine. L'eau de Hammam Essalihine est d'une bonne qualité microbiologique et elle est aussi très riche en éléments minéraux.

Les dosages effectués et les dénombrements réalisés sur Oued El Hammam ont révélé une pollution d'origine fécale. Cette pollution affecte l'environnement et constitue une menace majeure sur les habitants avoisinants.

Mots clés: Analyse microbiologique, Analyse physico-chimique, pollution, Hammam Essalihine, Khenchela.

Produced with ScanTopDF

Abstract

The physico chemical analysis and microbiological water has tree stations: Ain Silène, Hammam Essalihine and Oued El Hammam (district of Khenchela, Est of Algeria) has revealed that water of Ain Silène is soft and good microbiological quality and fits the norms of the designated waters for human consumption. The water of Hammam Essalihine is of good biological quality also it is wealthy in mineral elements.

Assays performed on water of Oued El Hammam have revealed a contamination of fecal origin. This contamination affects the environment and constitutes a major threat to nearby residents.

Key words:

Microbiological analysis, physico-chemical analysis pollution, Hammam Essalihine, Khenchela.

Produced with Scan PDF



Références bibliographiques

Produced with ScanTOPDF

- Agrigon A. (2000).** *Annuaire de la qualité des eaux et des sédiments.* DUNOD. 206p.
- Anonyme. (2007).** *Khenchela le patrimoine passé et présent : Direction du tourisme de la wilaya de Khenchela.* 25p.
- Anonyme. (2007).** *Khenchela monographie: Direction du tourisme de la wilaya de Khenchela.* 25p.
- Anonyme. (2010).** *Présentation de la conservation des forêts de la wilaya de Khenchela.* Direction générale des forêts. 9p.
- Aouissi A., Fouzari A. et Meziane N. (2007).** *Qualité bactériologique de l'eau de Oued Seybouse.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 57p.
- Aouissi A. (2009).** *Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 120 p.
- Aminot A., Chaussepied M. (1983).** *Manuel des analyses chimiques en milieu marin,* CNEXO. 395p.
- Bremond R. et Vuichard R. (1973).** *Les paramètres de la qualité des eaux.* La documentation française, Paris. 173p.
- Bouchaala L. (2009).** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zénati (Guelma).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 131p.
- Boukertouta S., Sellaoui C. et Tahraoui C. (2009).** *Contribution à l'étude des paramètres physicochimiques et l'identification fongique à partir des eaux du lac Oubeira.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 79p.
- Boukrouma N. (2008).** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel: cas de la retenue collinaire d'Ain F'akroune (W. d'Oum El-Bouaghi).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p.
- Brisou J F et Denis F. (1978).** *Hygiène de l'environnement maritime.* Masson. 248p.

- Chaouch R. (2007).** *Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba: aspect physico-chimique et bactériologique des eaux.* Mémoire de Magister. Université Badji-Mokhtar Annaba. 105p.
- Carbonnelle D et Kouyoumdjian S. (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf.* 251 p.
- Délaras C. (2003).** *Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses.* Tec et Doc. 156 p.
- Eberlnt. (1997).** *Les infections microbiennes.* Masson. 128p.
- Figarelle J., Leyral G. et Terret M. (2001).** *Microbiologie générale et appliquée.* Jacques Lanore. 285p.
- Gaujous D. (1995).** *La pollution des milieux aquatiques.* Lavoisier Techniques et documentation .Paris. 2 17p.
- Gauthier M., Pietri C. (1989).** Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Masson. 447p.
- Guiraud J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. *Dunod.* France. 652p.
- Haftari S. et Laasami M. (2009).** *Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches bactériennes thermophiles isolées de Hammam Essalihine de Khenchela.* Mémoire d'ingénieur. Centre universitaire de Khenchela. 82p.
- Hakmi A. (2002).** *Traitement des eaux " analyse de l'eau de source bousfer ORAN,* Mémoire de magister. Université des sciences et de la technologie Oran. 71p.
- Joffin J J-N et Leyrol G. (2001).** Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3^{ème} édition. *CRDP d'Aquitaine.* 320p.
- Khaled A. et Mebaraki K. (2009).** *Qualité physico-chimique et microbiologique de deux écosystèmes aquatiques du Nord-Est de l'Algérie: cas du Lac des Oiseaux (El Turf) et de Gareet Hadj Taher (Skikda) et isolement de Bdellovibrio bacteriovorus.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma, 53p.

- Lebres E. (2002).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux, des boissons et des produits de la mer. *Institut Pasteur d'Algérie*. 34p.
- Lebres E. (2006).** Manuel des travaux pratique : analyse des eaux, *Institut Pasteur d'Algérie*. 60p.
- Lebres E. et Mouffok F. (2008).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. *Institut Pasteur d'Algérie*. 53p.
- Lightfoot N. F. (2002).** Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. *Directives pour l'assurance qualité*. 387 p.
- Leclerc. (1996).** *Microbiologie générale*. Doin. 368p.
- Merzoug S. (2009).** *Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, wilaya de Skikda)*. Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 109p.
- Guezlane-Tebibel N., Kahlouche B., Athmani S. et Guemouri. (2010).** Microbiologie travaux pratiques deuxième année TCB et LMD; Office des publications universitaires. 133 p.
- Pechère J. C., Acar J., Grenier B. et Nihoul E. (1982).** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4^{ème} édition, *Edisem ST-Hyacinthe. Québec*. 509p.
- Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., Marchal N., Balbastre C. et Person J-M. (1987).** Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. *Dom*. 372p.
- Rejsek F. (2002).** Analyse des eaux. *Tec et Doc*. 358p.
- Rouaiguia M. et Cheriet M. (2010).** *Qualité microbiologique des eaux de Oued Messida(wilaya d'El-Tarf)*. Mémoire de Master. Université 8 mai 1945, Guelma. 75p.
- Rodier J. (1996).** Analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires. 8^{ème} édition, *Dunod*, Paris 1130p.
- Rodier J. (2009).** L'Analyse de l'eau. 9^{ème} édition, *Dunod*, Paris. 1511p.

Webographie

1. http://fr.wikipedia.org/wiki/Hammam_Essalihine (08/04/2011).
2. www.googleearth.com (14/04/2011).
3. <http://www.lhl.fr/cms/nos.../coliformes-totaux.html> (18/05/2011).
4. www.arnobio2.com/techniques/20-ne.pdf (22/05/2011).
5. http://www.memoireonline.com/.../m_Etude-de-la-qualite-de-leau-de-robinet-et-de-celle-de-la-nappe-phreatique-dans-les-di0.html (19/05/2011).
6. <http://www.memoireonline.com/08/09/2463/Contribution--letude-des-parametres-physico-chimiques-et-bacteriologiques-de-lembouchure-de-l.html> (04/04/2011)
7. http://www.memoireonline.com/04/10/3273/m_Contribution--une-gestion-des-effluents-liquides-hospitaliers2.html (02/06/2011)
8. <http://mail.nkmu.edu.tw/~p62365/tech/api20NE-1.jpg> (28/05/2011).

Produced with Scantopdf

Annexes

Produced with ScantOPDF

Composition des milieux de culture et des réactifs

1. Milieux de culture :

✓ Milieux liquides :

◆ **Bouillon au sélénite** : Le bouillon sélénite est utilisé pour l'enrichissement sélectif des *Salmonella* dans les produits alimentaires. Ce bouillon contient :

- Des tryptones : source azoté.

- Du lactose : source de carbone.

- Du sélénite : pour inhiber la croissance des bactéries coliformes et des entérocoques tout en sélectionnant *Salmonella* et *Proteus*.

- Du phosphate disodique : pour contribuer à maintenir le pH de 7 et à réduire la toxicité du sélénite pour augmenter la capacité de récupération du milieu.

pH final 7,2 ± 0,2 à 25°C

◆ **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 g/l.
Chlorure de sodium	5 g/l.
pH final	7,2

➤ **Préparation** :

Mettre 15 g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 7.2. Répartir puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

✓ Milieux solides :

◆ **Milieu Slanetz et Bartley** :

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée)

Tryptose	20,0 g
Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
Glucose.....	2,0 g

Phosphate dipotassique.....	4,0 g
Azide de s.....	0,4 g
Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium	0,1 g
Agar agar bactériologi.....	10,0 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.	

◆ **Gélose lactosée au TTC et Tergitol** : Milieu de recherche et de dénombrement des coliformes. Il est surtout utilisé pour la colimétrie des eaux par la méthode de filtration, TTC = chlorure 2-3-5 triphényl-tétrazolium.

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone.....	10 g/l
Extrait de viande.....	5 g/l
Extrait de levure.....	6 g/l
Extrait de levure.....	20 g/l
Tergitol.....	7 0,01 g/l
TTC.....	0,025 g/l
Bleu de bromothymol.....	0,05 g/l
Agar.....	13 g/l
pH.....	7,2

◆ **Milieu de Chapman** : le milieu de Chapman mannité est un milieu sélectif pour la culture des staphylocoques.

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique	10g/l.
Extrait de viande de bœuf.....	1 g/l.
Chlorure de sodium.....	75 g/l.
Mannitol.....	10g/l.
Rouge de phénol.....	0.025 g/l.
Agar	15g/l.
pH.....	7,5 (environ)

➤ **Préparation** :

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

◆ Milieu de Mac Conkey :

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

➤ Formule (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique.....	20 g/l.
Sels biliaires.....	1.5 g/l.
Chlorure de sodium.....	5 g/l.
Lactose.....	10g/l.
Rouge neutre.....	0.03 g/l.
Cristal violet.....	0.001 g/l.
Agar.....	15 g/l.
pH.....	7.1 (environ).

➤ Préparation :

Verser 51.5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes. Liquéfier au bain-marie bouillant et coller en boîte de pétri. Après solidification, laisser sécher à l'étuve à 37°C (couverture entrouverte).

◆ Milieu de Hektoen :

➤ Formule (en grammes par litre d'eau distillée) :

Protéase peptone.....	12 g/l
Extrait de levure.....	3 g/l
Saccharose.....	12 g/l
Lactose.....	2 g/l
Solicine.....	2 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Thio sulfate de sodium.....	5 g/l
Citrate ferrique ammoniacal.....	5g/l
Sels biliaires.....	9g/l
Bleu de bromothynol.....	0.064g/l
Fuchsine acide.....	0.04 g/l

➤ **Préparation :**

Dissoudre 75 g/l, ne pas autoclave. Après refroidissement aux environs de 50°C, 1,5 mg/l Novobiocine peuvent être mélangés sous forme de solution aqueuse filtrée stérilement. Couler en boîtes pH=7.7±0.1.

◆ **Viande foie (VF): préparer en deux étapes :**

➤ **Milieu de base :**

Base viande foie.....	30g
Glucose	2g
Amidon	2g
Agar	1g
Eau distillée	1000 ml

➤ **Au moment de l'emploi :** Ajouter à 20 ml de base fondé

Sulfate de sodium a 5 %.....	0.5 ml
Alun de fer commonacol.....	4 gouttes.

◆ **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	5g/l
Extrait de viande	1g/l
Extrait de levure	2g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Agar	15g
pH.....	7.4 (environ).

➤ **Préparation :**

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

◆ **TGEA (gélose numération : gélostryptone-glucose-Extrait de levure) :**

Tryptone.....	5g
Glucose	1g
Extrait de levure.....	2.5 g
Gélose.....	15g

Eau distillée.....	1000ml
pH.....	7

- ◆ **Milieu Salmonella- Shigella (SS)** : Isolement des *Salmonella* et *Shigella* mais aussi des *Pseudomonas* ou des *Yersinia enterocolitica*.

➤ **Formule :**

Peptone.....	5g.
Extrait de viande.....	5g.
Lactase.....	10g.
Citrate de sodium.....	10g.
Citrate de fer III.....	1g.
Sels biliaires.....	8.5g.
Vert brillant.....	3.3g.
Rouge neutre.....	25mg.
Thiosulfate de sodium.....	8.5g.
Agar.....	12g.
pH.....	7.3.

➤ **Préparation**

63g de poudre dissoute par ébullition. Se reporter à la notice en raison de variation de la composition (formule moins inhibitrice des *Shigella* à 5.5g des sels biliaires par exemple). Ne pas autoclaver.

◆ **Milieu Gélose Sabouraud :**

➤ **Formule :**

Peptone.....	10 g
Glucose massé.....	20 g
Agar-agar.....	15 g
Eau distillée (qsp).....	1 000 ml
vitamines et facteurs de croissance	

➤ **Caractéristiques :**

Naturellement acide, il inhibe la croissance de nombreuses bactéries. Additionné de chloramphénicol à 0,5 g/l ou de gentamicine à 0,04 g/l, il inhibe une grande partie des bactéries permettant la sélection des levures et moisissures. L'addition d'actidione (cycloheximide) à la concentration de 0,5 g/l permet la sélection de moisissures et levures pathogènes. L'addition de chlorure de triphényl 2-3-5-tétrazolium (TTC) (à 0,1 g/l) permet la différenciation des levures du genre *Candida*. En effet, le TTC peut être réduit par certaines levures en produits colorés.

2. Réactifs :

◆ **Réactif TDA :** pour la recherche de tryptophane désaminase :

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

◆ **Réactif IND :** pour la recherche de l'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....	5.0g
Alcool isoamylique.....	75.0 ml
HCL.....	37%

◆ **Réactif de Voges Proskauer (VP) :** pour la recherche de l'acétone :

❖ **VP 1 :**

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

❖ **VP 2 :**

Alpha naphтол.....	6 g.
Ethanol.....	100ml.

◆ **Réactif Kowax :** pour la recherche de l'indole.

Paradiméthylamino-benzaldéhyde	5g
Alcoolamylique.....	75ml
Hcl pur	25ml

◆ **Réactif de Griess pour les nitrites:**

❖ **NIT1**

Acide sulfanilique	0.8g.
Acide acétique 5 N	100 ml

❖ **NIT2**

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

➤ **Les Colorants :**

❖ **Lugol :** Elle est utilisée sur la coloration de Gram pour fixer le colorant

Iode	1g.
Iodure de potassium	2g.
Eau distillée	3g.

❖ **Violet de gentiane :** Elle est utilisée pour colorer les bactéries,

violet de gentiane	1g.
Ethanol à 90%	1 ml.
phénol	2g.
Eau distillée	100ml.

❖ **Fushine**

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

➤ **Solutions:**

◆ **Solution de Noir d'Eriochrome:**

Noir d'Eriochrome	0.5 g
Ethanol	25 ml

◆ **Solution de Bleu d'Eriochrome :**

Bleu d'Eriochrome.....	100 mg
Eau distillée.....	100 ml
Chlorhydrate de d'hydroxy lamine.....	0.25 g

◆ **Solution de NaOH 1N :**

NaOH.....	4 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution de NaOH N/50 :**

NaOH.....	0.08 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution d'HCl 1N :**

HCl.....	8.3 ml
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution d'Acide Sulfurique N/50 :**

H ₂ SO ₄	0.55 ml
Eau distillée.....	1000 ml

◆ **Solution de Methyl Orange :**

Methyl Orange.....	0.5 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution de Phénophtaléine à 0.5 % :**

Phénophtaléine.....	0.5 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution Stabilisante :**

Acide Chlorhydrique pur.....	15 ml
Ethanol.....	50 ml
Chlorure de Sodium.....	37,5 g
Glycérol.....	25 ml
Eau distillée.....	250 ml

◆ **Solution de Chlorure de Baryum :**

Chlorure de Baryum.....	30 g
Acide Chlorhydrique.....	1 ml
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution mère de Sulfates :**

Na ₂ SO ₄	1,479 g
Eau distillée.....	1000 ml

Tab.1. Gamme d'étalonnage (sulfate)

Solution mère 1 g/l (ml)	0	1	2	3	4	5	6	7
Eau distillée (ml)	10	99	98	97	96	95	94	93
	0							
Solution Stabilisante (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5
Chlorure de Baryum (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
Agitation 1 mn								
[SOI] mg/l	0	10	20	30	40	50	60	70

Tab.2. Qualité physico-chimique de l'eau de boisson (directive de l'OMS, 2002).

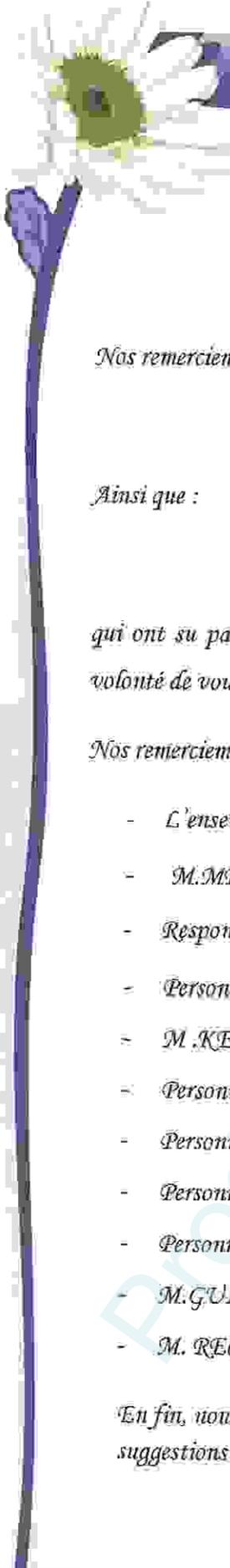
Paramètres		Norme
Température	(°C)	25
Potentiel d'hydrogène (pH)		6,5-8,5
Mg ⁺⁺	(mg/l)	50
TH	(°F)	30
Cl ⁻	(mg/l)	200
So ₄ ⁻	(mg/l)	250
HCO ₃ ⁻	(mg/l)	-
TAC	(° F)	30
Conductivité	(µs/cm)	1000
TDS	(mg/l)	-
Résidus sec à 105° C	(mg/l)	1500

Tab.3. Lecture des résultats de l'API 20 E.

Test	Groupements active	Réactions/ Enzymes	Résultats	
ONPG	Ortho-nitro-phényle-B-D- Galactopyranoside	Beta-galactosidase	Positive	Négative
			incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine désahydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orange
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
[CIT]	Sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	Bleu-vert/orange
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production de H ₂ S	incolore	Noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Marron
IND	Tryptophane	Production d'indole	incolore	Rose
[VP]	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+ VP2	
			Incolore	Rose/rouge
[GEL]	Gélatine emprisonnant de charbon	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/vert jauné
MAN	Mannitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Sucrose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
NO ₃ -NO ₂	GLU tube	Production de NO ₂ réduction N ₂ gaz	NIT 1+NIT 2, 2-3 min	
			Jaune	Rouge

Tab.4. Lecture des résultats de l'API 20 NE.

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



Remerciements

Nous remercions DIEU le tout puissant

Qui nous a donné la santé, le courage

et nous à ouvert le long chemin du savoir.

Nos remerciements s'adressent particulièrement à notre promoteur –encadreur–

MR, ZITOUNI ALI

Ainsi que :

MR, HOUHAMDJI et MR, DJEKOUNE

qui ont su par leurs conseils, leurs recommandations et leurs dévouements dynamiser en nous cette volonté de vouloir bien faire.

Nos remerciements s'adressent également aux :

- *L'ensemble de nos professeurs qui ont assuré notre formation durant toutes ces années.*
- *M. MERZOUG Seif –Eddine (Université de GUELMA).*
- *Responsables du laboratoire d'hygiène de KAIS (M BOUGUERNIZ et M GHOUAIZIA)*
- *Personnels du : laboratoire de l'A.D.F de KIRENCHELA*
- *M. KELLIL (Circonscription des forêts d'ELHAMMA).*
- *Personnels de la direction du tourisme de KHENCHELA.*
- *Personnels du laboratoire de l'hôpital d'AIN EL BEIDA.*
- *Personnels du laboratoire de l'Université du 8 Mai GUELMA*
- *Personnels de la D.D.S de GUELMA.*
- *M. GUIDOUM Amer (Bibliothèque universitaire de KHENCHELA*
- *M. RECHACHI Hichem (Université de KHENCHELA).*

En fin, nous remercions tous ceux qui ont contribué à ce travail par leurs remarques, leurs suggestions et leurs soutiens.



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents qui m'ont toujours encouragé pour continuer mes études, qui m'ont soutenu tant par leurs conseils, leurs patiences et leurs confiances.

A mes chères sœurs : Asma et Yusra

A Hadjer et son époux Tarek

A mes chers frères : Hamza et Abderrahim

A l'ange de la maison : Lilou

A Oumaima et Abdellhalim mes trinômes

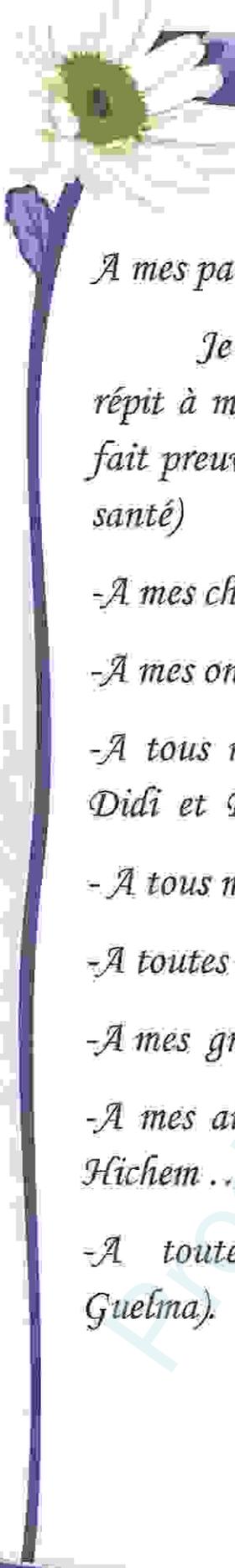
A mes amies :

*Amel, Dalila, Farida, Kenza, Karima, Khawla, Sarah S, Guennis, Hicham,
Omar et Charafeddin*

A toute ma famille et surtout mes cousines : Asma et Riman

A toute ma promotion

Khawla



Dédicaces

A mes parents :

Je vous dédie ce modeste travail pour votre dévouement sans répit à mon éducation et pour le soutien affectif dont vous avez fait preuve tout le long de mon existence. (Longue vie et parfaite santé)

-A mes chers frères : Bachir, Salah et Chouaib.

-A mes oncles : Salah, Mohamed Tahar et Lazhari.

-A tous mes oncles maternels : Kamel, Belgacem, Salim, Toufik, Didi et Redouane.

- A tous mes cousins et cousines sans exceptions.

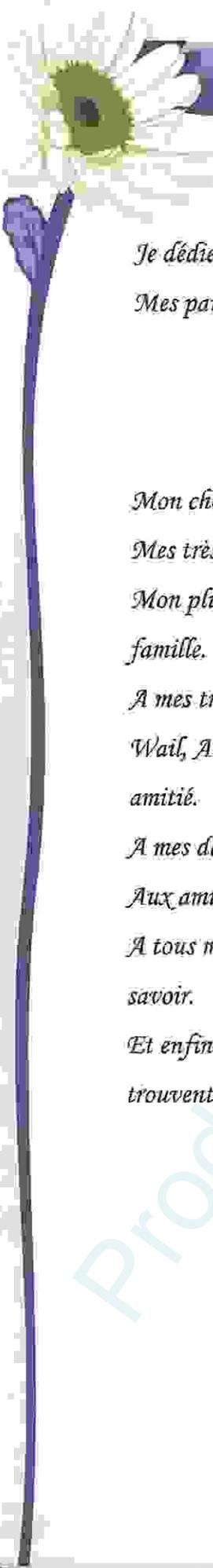
-A toutes mes tantes.

-A mes grandes mères : Mebarka et Fatima.

-A mes amies : Khawla, Halim, Amel, Nadjiba, Djalila, Charaf, Hichem

-A toute la promotion (Master 2 E.S.E de l'Université de Guelma).

Oumaima



Dédicace

Je dédie le fruit de mes 17 ans d'études aux plus précieux des trésors :

Mes parents : mon cher papa Youcef et ma tendre maman Salima.

Qui m'ont appris tout ce que je sais

Qui m'ont guidé vers le tunnel éclairé du savoir

Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort

Mon cher frère : Mouhamed et Abdelwahab que Dieu le garde.

Mes très chères sœurs : Besma et Bouchra.

Mon plus profond respect va tout droit à mon professeur Mr. Houhamdi Moussa et sa famille.

A mes très chères amis : Aissa, Fichem, Djalel, Mouha, Oussama, Zaki, Wassim, Wail, Abderrahman, Amar, yousef, Mouhamed et sihem que Dieu protège notre amitié.

A mes deux collègues Oumeina et Khawla.

Aux amis de la post graduation : promotion 2010/2011.

A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui m'ont éclairé la voie du savoir.

Et enfin à tout ceux qui me sont chers, je leur dédie ce modeste travail et qu'ils trouvent de ma part tous mes respects ma fidélité et mes sentiments les plus sincères.

Sommaire

Produced with ScantOPDF

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Description du site d'étude	2
1. Généralité sur les eaux thermales en Algérie	2
2. Présentation du site d'étude (Hammam Essalihine)	3
2.1. Situation géographique	3
2.2. Historique	4
2.3. Coordonnées géographiques	4
2.4. Caractéristiques	4
3. Présentation de la région d'étude	6
3.1. Situation et coordonnées géographiques Géologie	6
3.2. Géologie	6
3.3. Le sol	8
3.4. L'hydrologie	8
3.5. Etude climatique	8
3.5.1. La température	8
3.5.2. Précipitation	9
3.5.3. L'évaporation	10
3.5.4. Les vents	10
3.5.5. Expression synthétique du climat	11
3.6. Cadre biotique	12
3.6.1. La flore	12
3.6.2. La faune	13
3.7. Potentialités cynégétiques et en faune sauvage de la wilaya	13
Chapitre II: Matériel et méthodes	14
1. Objectifs de recherche	14
2. Prélèvement	14
2.1. Matériel	14
2.2. Sélection des sites de prélèvement	14
2.3. Mode de prélèvement	17
2.4. Etiquetage des échantillons	17
2.5. Transport et conservation de l'échantillon	17
3. Analyse microbiologique	17

3.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables	18
3.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale	18
3.2.1. Recherche de coliformes totaux par filtration:	21
3.2.2. Recherche de coliformes fécaux par filtration	22
3.2.3. Recherche des streptocoques fécaux par filtration	26
3.2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréductrices (ASR)	28
3.3. Recherche des germes pathogènes	30
3.3.1. Recherche des Staphylocoques sur le milieu de Chapman	30
3.3.2. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
3.3.3. Recherche des Salmonelles	31
3.4. Recherche des levures et des moisissures	33
3.5. Tests complémentaires	33
3.5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux	33
3.5.2. Examen microscopique après coloration	33
3.5.3. Examen liés aux caractères biochimiques	34
3.5.3.1. La galerie API20E	34
3.5.3.2. La galerie Api 20 NE	36
4. Analyse physico-chimique	37
4.1. Mesure <i>in situ</i>	37
4.1.1. La couleur apparente	37
4.1.2. La température	38
4.1.3. Le pH	38
4.1.4. La conductivité électrique	39
4.1.5. La salinité	39
4.1.6. Dosage du chlore (méthode à la DPD):	39

4.2. Mesure au laboratoire	40
4.2.1. La minéralisation de l'eau (TDS)	40
4.2.2. La dureté totale TH	40
4.2.3. La résistivité	41
4.2.4. La détermination du titre Alcalimétrique (TA-TAC)	41
4.2.5. Les chlorures (Méthode de Mohr)	42
4.2.6. Dosage simultané du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA	43
4.2.7. La détermination du sulfate (SO_4^{2-})	44
4.2.8. Les bicarbonates (HCO_3^-)	45
4.2.9. Les résidus secs	45
Chapitre III : Résultats et discussion	46
1. Résultats des analyses microbiologiques	46
1.1. Résultats de la recherche et du dénombrement des micro- organismes de l'eau	46
1.1.1. Germes totaux	46
1.1.2. Recherche et dénombrement des témoins de contamination fécale	46
1.1.2.1. Coliformes totaux	46
1.1.2.2. Coliformes fécaux	47
1.1.2.3. Streptocoques fécaux	48
1.1.2.4. Les Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	49
1.2. Identification des souches bactériennes	50
1.2.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	50
1.2.2. Résultats de l'identification biochimique	52
1.3. Levures et champignon	53
2. Résultats physico-chimiques	53
2.1. La couleur apparente	53
2.2. La température	53
2.3. Le pH	54
2.4. La conductivité	55
2.5. La salinité	57
2.6. Le chlore	57

2.7. La minéralisation de l'eau (TDS)	58
2.8. La dureté (TH)	58
2.9. La résistivité	59
2.10. Titre alcalimétrique (TA-TAC)	60
2.11. Les chlorures (Cl ⁻)	61
2.12. Le calcium (Ca ⁺⁺)	61
2.13. Le magnésium (Mg ⁺⁺)	62
2.14. Le sulfate (SO ₄)	63
2.15. Les bicarbonates (HCO ₃ ⁻)	64
2.16. Résidus secs	64
Conclusion	66
Résumé	
Annexe	
Référence bibliographique	

Produced with ScanTOPDF

Api 20 NE : Api 20 non entérobactériacées

ASR : Anaérobies sulfitoréducteurs

BaCl₂ : Chlorure de Baryum

°C : Degré Celsius

Ca : Calcium

DPD : Diéthyl-p-Phénylène-Diamine

E : Est

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique

Ev : Evaporation

°F : Degré français

Fig : Figure

g/l : Gramme par litre

G SS: Gelose *Salmonella-Shigella*

h: Heure

ha : Hectare

HCO₃⁻ : Les bicarbonates

J-C : Jesus Chris

Km : Kilomètre

LDC : Lysine déshydrogénase

m : Mètre

m³ : Mètre cube

Max: Maximale

Mg : Magnésium

Min : Minimale.

mm : Millimètre

Moy : Moyenne.

N : Normalité.

OMS : Organisation mondiale de santé.

ONM : Office Nationale de la Météorologie.

pH : Potentielle Hydrogène.

S : Sud.

SFB : Bouillon Sélénite cystéine.

T : Température.

TA : Le Titre Alcalimétrique.

Tab : Tableau.

TAC : Le Titre Alcalimétrique Complet.

TDA : Tryptophane décarboxylase.

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

TH : La dureté totale.

TGEA : Gélose numération : Gélostryptone-glucose-Extrait de levure.

TTC : Chlorure de triphényltétrazolium.

UFC : Unité formant colonie.

V : Volume.

VF : Viande Foie.

VP : Voges Proskawer.

$\mu\text{S/cm}$: Micro-siemens par centimètre.

$\Omega \cdot \text{cm}$: Omhes . Centimètre.

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre du tableau	N° de page
01	Température de l'air.	9
02	Les valeurs de la précipitation moyenne.	9
03	Les valeurs moyennes de l'évaporation.	10
04	Vitesse de vents de la région d'étude.	10
05	Période et nature de prélèvement.	15
06	caractéristiques des stations de prélèvement.	15
07	Volume de l'échantillon analysé selon sa nature.	23
08	Classifications des eaux d'après leur pH.	38
09	Evolution du nombre des coliformes totaux.	45
10	Evolution du nombre des coliformes fécaux.	47
11	Evaluation du nombre des Streptocoques fécaux.	48
12	Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs(ASR).	50
13	Aspect macroscopique et microscopique des colonies.	51
14	Résultats de l'identification biochimique.	53

15	Aspect macroscopique et microscopique des champignons.	53
16	Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique	56
17	Appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la dureté.	58

Produced with ScanTOPDF

Liste des figures

N° de figure	Titre de figure	N° de page
01	Situation géographique de Hammam Essalihine.	3
02	Emplacement de hammam Essalihine au milieu des montagnes des Aurès.	5
03	La piscine circulaire de Hammam Essalihine.	5
04	Carte géologique de la wilaya de kenchela.	7
05	Rose des vents de la commune de Khenchela.	11
06	Digramme Ombro-thermique de la région de Khenchela	12
07	Positionnement des stations.	16
08	présentation des points de prélèvement.	16
09	Recherche et dénombrement des germes revivifiables.	20
10	Rampe de filtration.	21
11	Colimétrie par filtration.	25
12	Streptométrie par filtration.	27
13	Recherche et dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs.	29
14	Recherche des Salmonelles.	32
15	Galerie APi20E.	37
16	Galerie APi20 NE.	38
17	résultats de dénombrement des coliformes totaux.	47
18	résultats de dénombrement des coliformes fécaux.	48

19	résultats de dénombrement des streptocoques fécaux.	49
20	Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs.	50
21	Bacilles Gram négatif.	52
22	Cocci Gram positif.	52
23	observation microscopique d'un champignon après coloration simple.	53
24	Variations spatio-temporelles de la température.	54
25	Variations spatio-temporelles du pH.	55
26	Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique.	56
27	Valeurs de la salinité de l'eau.	57
28	Variations spatio-temporelles de la minéralisation.	58
29	Variations de la dureté de l'eau dans les différentes stations.	59
30	Variations spatio-temporelles de la résistivité.	59
31	Variation de TAC de l'eau dans les différentes stations.	60
32	Teneurs en chlorures en mg/l de l'eau de Hammam Essalihine.	61
33	Variations des teneurs en Calcium dans l'eau de Hammam Essalihine.	62
34	Variations des teneurs en Magnésium dans l'eau de Hammam Essalihine.	62
35	Variations des teneurs en sulfate de l'eau de Hammam Essalihine.	63
36	Variations des teneurs en bicarbonate de l'eau de Hammam Essalihine.	64
37	Valeurs de résidus secs à 105° pour les différentes stations.	65

Introduction

L'eau constitue un élément essentiel dans la vie et dans l'activité humaine. C'est une composante majeure du monde minéral et organique. Elle participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles ce qui la rend un élément récepteur exposé à tous les genres de pollution. Elle est aussi considérée comme un transporteur potentiel de nombreuses maladies.

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

Nous avons structuré notre démarche en trois chapitres interdépendants :

- Le premier chapitre est purement théorique. Il rassemble des généralités sur le site : climatologie, géologie et une contribution à l'étude de son cadre biotique.
- Le second présente la méthodologie utilisée pour la détermination de la qualité physico-chimique et microbiologique (recherche et dénombrement des microorganismes) de l'eau.
- Enfin, le troisième chapitre, mentionne les résultats obtenus au cours de notre étude pratique. Il est esquissé par une conclusion finale clôturant le mémoire.

Chapitre I

Description de site

1. Généralités sur les eaux thermales en Algérie

La prodigieuse richesse de l'Algérie en eaux thermales est connue depuis bien longtemps et l'efficacité de ces eaux est bien établie. Des sculptures découvertes à Hammam Meskoutine établissent nettement qu'à l'époque punique un établissement balnéaire existait à cet endroit. Mais ce sont surtout les Romains qui tirèrent parti des sources thermales et minérales existant en Algérie. Les ruines multiples, dont quelques-unes sont grandioses, que l'on trouve au voisinage des sources, indiquent l'importance que les Romains ont donné aux thermes qu'ils ont construits. L'on sait qu'ils attribuaient de grandes vertus thérapeutiques à l'usage des bains et plus spécialement des bains chauds; aussi ont-ils souvent bâti des villes importantes à proximité des établissements thermaux qu'ils utilisaient. Dans l'art de la captation et de la canalisation des eaux, ils sont restés incontestablement nos maîtres, sur cette terre africaine.

Il existe sur le territoire algérien plus de 200 sources thermales. Ce nombre croît régulièrement quand on se déplace vers l'Est. Les températures mesurées à l'émergence varient de 19°C à Ben Haroune à 98°C à Hammam Meskoutine. La minéralisation des eaux est déterminée surtout par la nature chimique et minéralogique des sédiments qu'elles traversent. Les sources thermales les plus minéralisées sont en relation directe avec les sédiments gypso-salins du Trias si répandu en Algérie, ce cas est rencontré à titre d'exemple à Hammam Melouane 29.42 g/l, Hammam El Biban 15g/l, Hammam Salhine 9 g/l.

Aujourd'hui comme dans le passé les stations thermales sont très sollicitées par les algériens pour divers traitements d'ordre rhumatologique, dermatologique et psychiatrique.

Le perfectionnement général des méthodes analytiques et l'emploi de procédés physiques conduisent aujourd'hui à considérer cette conception comme insuffisante. De plus, l'avancement des études géologiques détaillées permet souvent une interprétation rationnelle des analyses chimiques. Il est en effet très important de connaître aussi exactement que possible la nature des terrains encaissants, car les eaux thermales dissolvent aisément les éléments qu'elles rencontrent pendant leur circulation souterraine. Comme la détermination de leur provenance est des plus ardues, il convient en l'occurrence, de ne négliger aucun élément d'information. Cependant l'Algérie n'a pas encore réalisé dans le domaine de l'étude des eaux thermales, une coordination comparable à celle de la Métropole.

2. Présentation du site d'étude (Hammam Essalihine)

2.1. Situation géographique :

Hammam Essalihine (Aquaе Flavianaе) est un bain romain qui existe depuis 2 000 ans. Il est situé dans la commune d'El Hamma, site touristique et thérapeutique, à 7 km du chef-lieu de la Wilaya de Khenchela à savoir Khenchela elle-même. Son exploitation remonte à l'époque romaine (Fig.1). (Lassami et Haftari, 2009).

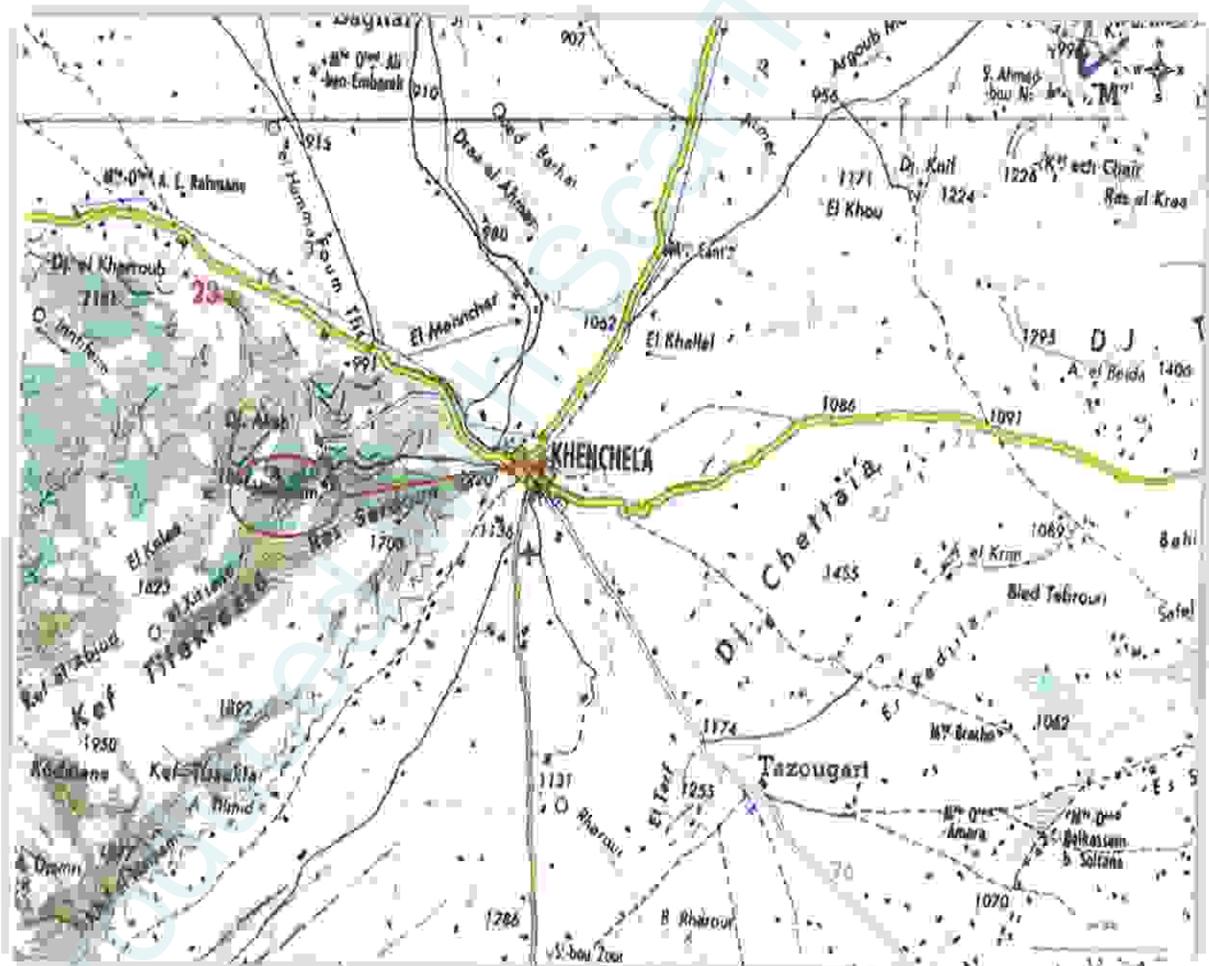


Fig.1. Situation géographique de Hammam Essalihine.

2.2. Historique :

D'après les inscriptions le complexe a été exploité ou probablement reconstruit vers la dynastie des Flaviens dans le temps de Vespasien en 69 après J.-C. Une autre inscription indique que le lieu a subi une réparation par Septime Sévère en 208 après J.-C. Il existe des centaines de sources ou 'fontaines' chaudes en Algérie, et certaines de ces sources ont été utilisées depuis des milliers d'années. D'autres ont subi des travaux de construction importants et des réparations au temps du royaume de la Numidie et à l'époque romaine.

Ainsi que son nom romain l'indique, *Aquae Flavianae*, cette installation thermale remonte aux empereurs flaviens, ce qui paraît confirmer une dédicace de 76 après J.-C à Vespasien et Titus. Plusieurs inscriptions attestent sa fréquentation au cours du III^e siècle et à l'époque sévérienne. Elle est restaurée en 208 après J.-C par un corps de soldats et c'est sans doute sous Elagabal qu'est construit un temple aux Nymphes (Albertini). Une dédicace au numen des nymphes et au dieu Draco paraît dater de la seconde moitié du III^e siècle au plus tôt. Différentes traces de remaniements sont visibles sur le site. L'établissement est devenu un centre thermal après le dégagement en eau provenant des fontaines chaudes. (1)

2.3. Coordonnées géographiques :

- Latitude de 35°26'25" Nord.
- Longitude de 7°5'4" Est
- Altitude de 1070 m.

2.4. Caractéristiques :

- Le Hammam, dont la température de l'eau atteint 70°C, est constitué de propriétés minérales telles que: le bicarbonate, le sulfate, le soufre, le magnésium, le potassium et enfin le sodium, dont les propriétés thérapeutiques sont considérables, notamment dans les maladies rhumatismales, respiratoires et dermatologiques. (Lassami et Haftari, 2009).

- Le complexe de Hammam Essalihine est situé au fond des Aurès (Fig.2).

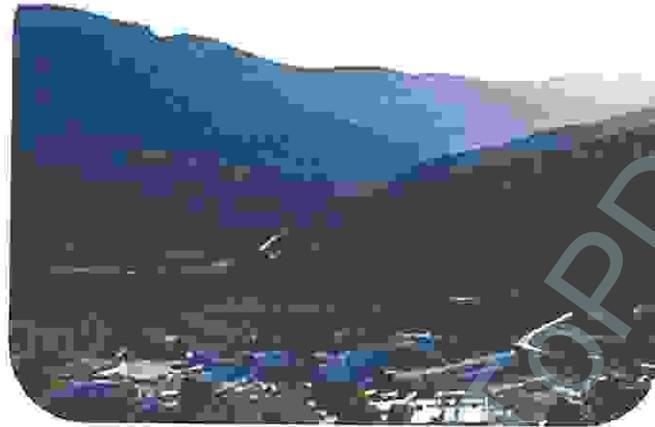


Fig.2. Emplacement de hammam Essalihine au milieu des montagnes des Aurès.

- L'eau de source de Hammam Essalihine est si pure qu'elle n'a besoin d'aucun filtrage. Elle refroidit naturellement avant d'arriver dans les bassins où elle est continuellement brassée.
- La station thermale dispose de 40 cabines pour bain thermal, de 5 piscines d'eau chaude et enregistre jusqu'à 700 000 visiteurs chaque année.
- Elle est située dans une région montagneuse et forestière au climat particulier, c'est un lieu de prédilection pour de nombreux touristes.
- La piscine romaine circulaire est unique au monde et le vestige a été réhabilité récemment (Fig.3). (1)

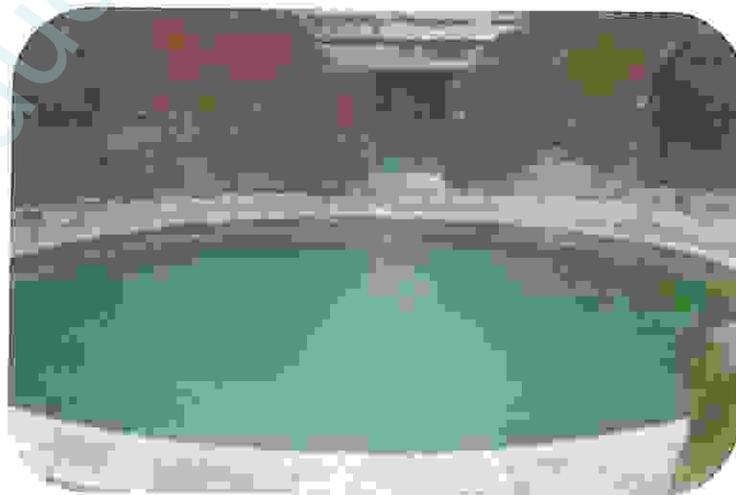


Fig.3. La piscine circulaire de Hammam Essalihine. (1)

3. Présentation de la région d'étude

3.1. Situation et coordonnées géographiques :

La wilaya de Khenchela est située à l'est de l'Algérie au contrefort du constantinois et au contrefort du mont des Aurès entre $34^{\circ} 06' 36''$ et $35^{\circ} 41' 21''$ latitudes Nord ; et entre $06^{\circ} 34' 12''$ et $07^{\circ} 35' 56''$ de longitudes Est, elle est limitée au nord par la wilaya d'Oum El Bouaghi, au sud par la wilaya d'El Oued, à l'est par la wilaya de Tebessa, à l'ouest par la wilaya de Batna et au sud ouest par la wilaya de Biskra. Sa superficie est de $9715,6 \text{ Km}^2$ composée de 8 daïras et 21 communes.

3.2. Géologie :

La structure physique de la wilaya est très hétérogène. Elle se caractérise par trois régions naturelles distinctes:

- * **Les hautes plaines au nord:** Ils couvrent 15% du territoire. C'est une région de plaines à fortes potentialités hydriques qui offrent de grandes possibilités pour le développement agricole.
- * **La zone montagneuse** (les massifs des Aurès et les monts des Nememchas): elles occupent les parties centrales et l'ouest de la wilaya avec 36% du territoire.
- * **Les parcours steppiques et sahariens** (région à vocation pastorale): Ils couvrent la moitié sud de la wilaya avec 49% de la superficie totale (Fig.4). (Anonyme, 2007).

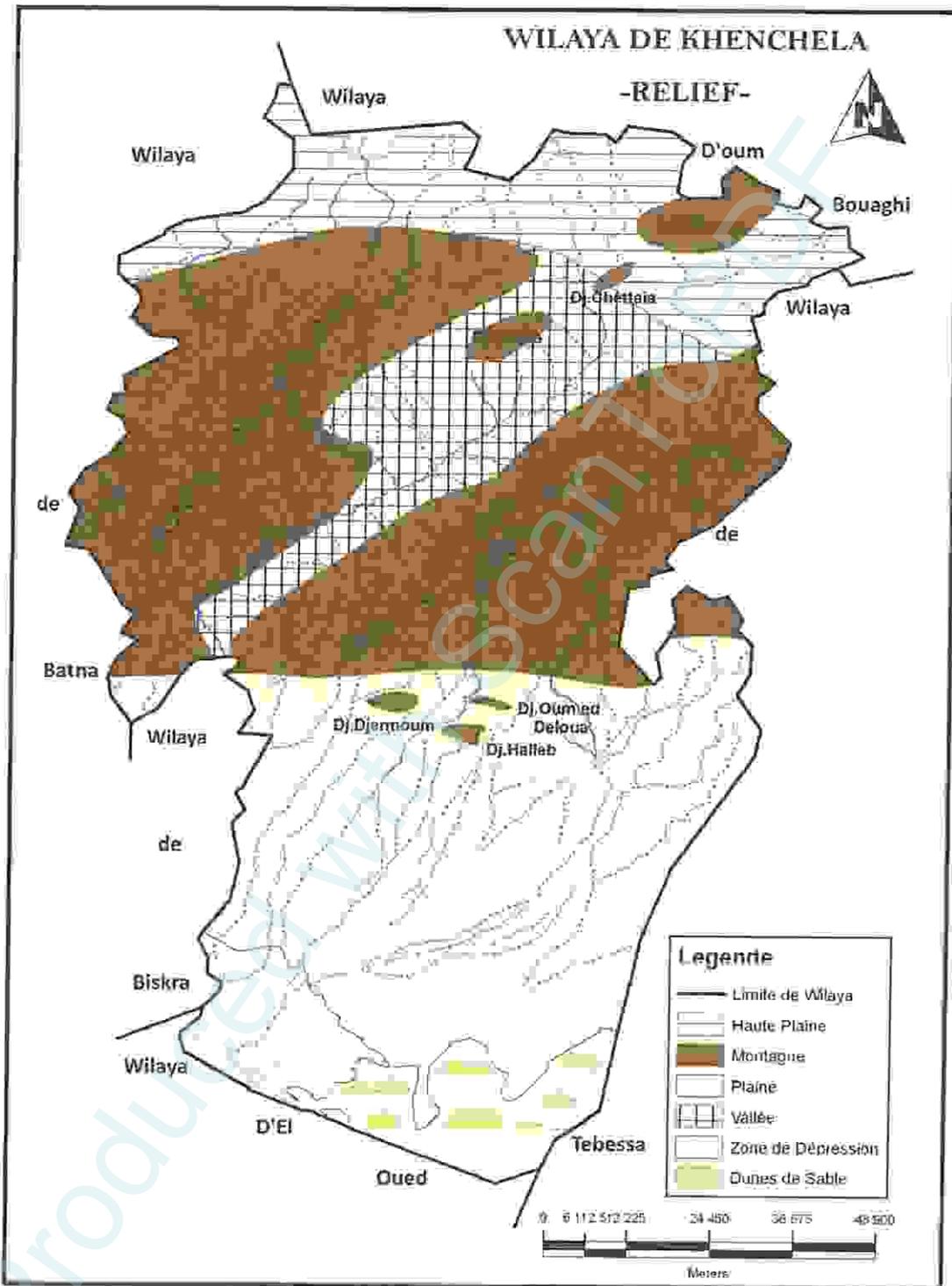


Fig.4. Carte géologique de la wilaya de Khenchela

3.3. Le sol :

Le sol de la wilaya de Khenchela se distingue par la présence de variétés essentielles de la terre qui se présente comme suit :

Une terre sédimentaire dans les hauts plateaux au nord.

Une terre calcaïque dans la région montagneuse centrale.

Une terre souvent sujette à la dénudation en raison des vents soufflant dans la région sud et également ainsi que les dunes de sables dans l'extrême sud. Parmi les composants essentiels de la terre : la chaux, la boue, le plâtre, le sable et les roches d'argiles. (Anonyme, 2007)

3.4. L'hydrologie :

Le secteur de l'hydraulique de la wilaya de Khenchela bénéficie des ressources en eaux souterraines réparties sur 205 forrages, 335 sources et 4900 puits. En ce qui concerne les eaux superficielles, la wilaya est drainée par un réseau hydrographique très dense, offrant une multitude de sites potentiels pour la réalisation des barrages et de retenue collinaires, la wilaya de Khenchela est dotée de deux barrages : le barrage Fourn El Gaïss et le barrage de Babar. (Anonyme, 2007)

3.5. Etude climatique :

Du point de vue climatique, La région de Khenchela se spécifie par un climat continental, chaud et sec en été, froid et pluvieux en hiver

Les caractéristiques climatiques de la zone d'étude sont celles de la station météorologique de Khenchela. Les données climatiques de cette station proviennent du réseau de l'Office Nationale de la Météorologie (ONM).

3.5.1. La température :

La température est considérée comme le principal facteur climatique contrôlant la répartition de la végétation, la température dans la région de Khenchela passe de 40°C en été à -09°C en hiver ; ce qui fait d'elle une zone de fluctuations climatiques spectaculaires (Tab.1). (Anonyme, 2010).

Tab.1. Température de l'air (station météorologique Khenchela)

Période (1994-2010)

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
T°C max	11.08	12.59	16.12	19.22	25.17	30.33	34.71	33.23	27	22.65	15.84	11.05
T°C min	2.35	2.85	6.22	7.32	11.48	15.85	18.84	18.57	15.12	12.27	6.39	3.52
T°C moy	6.70	7.63	10.44	13.27	18.43	23.28	26.70	26.14	21.2	16.25	11.14	7.63

En été la forte chaleur est souvent due au vent du Sud, le Sirocco, qui soulève des nuages de poussières.

3.5.2. Précipitation :

La moyenne de la pluviométrie au nord de la région se situe entre 400 et 600 mm/an, tant dis que la moyenne au sud est de 200 mm/an. Les régions montagneuses sont couvertes de neige en hiver. (Anonyme, 2007)

Les précipitations englobent toutes les formes d'eau qui tombent sur la surface de la terre. Les précipitations collectées durant la période allant de 1994 à 2010 sont portées sur le tableau 2.

Tab.2. Les valeurs de la précipitation moyenne. Période (1994-2010).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Précipitation (mm)	49	25.13	35.1	44.8	58.78	43.78	16.22	38.01	57.73	59.73	39.91	40.37

Les moyennes mensuelles de la précipitation de la région d'étude varient entre 16.22mm et 59.73mm.

3.5.3. L'évaporation :

Tab.3. Les valeurs moyennes de l'évaporation (station météorologique Khenchela) Période (1994-2010).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Ev mm	65.34	76.56	109.79	142.98	164.24	223.2	275.73	257.67	173.42	131.22	91.95	71

L'évaporation de cette région est dans ces valeurs maximales durant le mois de juillet, alors que les valeurs minimales sont observées pendant le mois de janvier.

3.5.4. Les vents:

Les vents dominants dans cette région sont ceux d'Ouest et du Nord - Ouest. Ces derniers amènent l'humidité de l'atlantique du Nord (en hiver). Outre ces vents fréquents, en hivers il y a aussi les vents du Nord qui sont souvent secs et froids. En été les vents du Sud sont chauds et secs parfois chargés de sable (vents de sable) (Tab.4).

Tab.4. Vitesse de vents de la région d'étude (station météorologique Khenchela) Période (1995-2010).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Vitesse de vents km/h	26.12	27.25	27.5	28.87	28	28.37	27.06	29.68	27.75	25.68	29.25	27.37

La vitesse maximale des vents qui soufflent sur la région de Khenchela est enregistrée durant le moi d'août avec une valeur de 29.68 km/h. La valeur moyenne minimale est enregistrée en mois d'octobre avec 25.68 km/h.

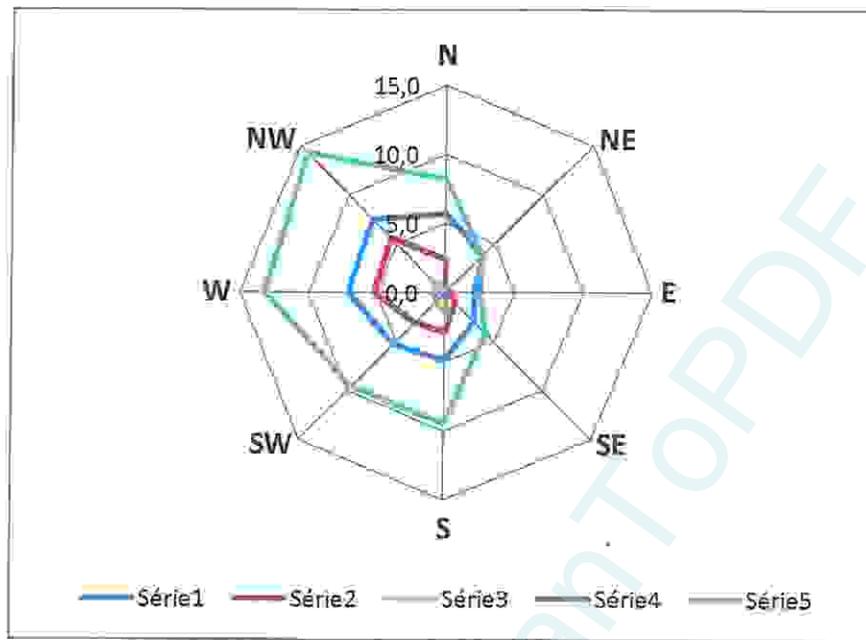


Fig.5. Rose des vents de la commune de Khenchela 2000-2007
 (Source : ONM Direction Régionale de Constantine)

3.5.5. Expression synthétique du climat :

- **Diagramme ombro-thermique :**

Pour l'élaboration du diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussien (1957) nous avons tenu comptes des données climatiques bien précis qui sont les précipitations annuelles et les températures moyennes étalées sur plusieurs années des deux stations. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide (Fig.6).

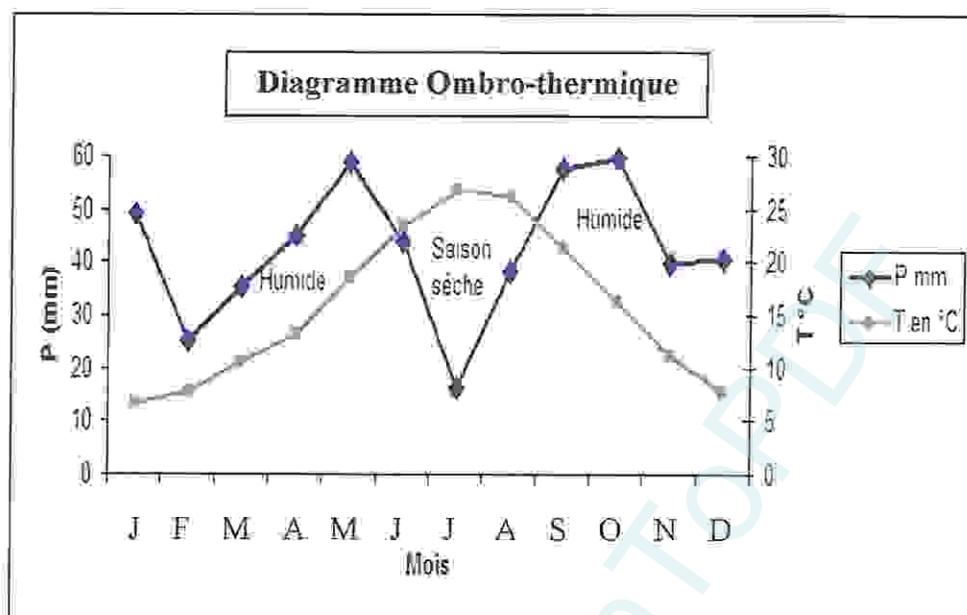


Fig.6. Diagramme Ombro-thermique de la région de Khenchela.

Le diagramme ombro-thermiques, nous a permis de visualiser deux saisons distinctes: l'une sèche de juin à août et l'autre humide de septembre à mai.

3.6. Cadre biotique :

3.6.1. La flore :

La wilaya est couverte par diverses espèces végétales selon la nature géographique et climatique de chaque région, réparti comme suit :

- La région des hauts plateaux : couverte par des petites plantes comme l'armoise ou Chih (*Artemesia herba-alba*), le guettaf (*Atriplex*), le Salsola, le jujubier (*Zizyphus*) et se caractérise aussi par son caractère agricole ou se propagent la culture des arbres fruitiers tels que le pommier, l'oranger, le poirier et les légumes.
- La zone montagneuse : c'est une région forestière et parmi les espèces rencontrées, en plus de la strate arbre (Pin d'Alep, Cèdre, Chêne vert, Pin noir, Cyprès, Frêne), on rencontre également l'alfa, l'armoise, le jujubier, le R'tem, l'Accacia et Genévrier de Phénicie.
- La région du sud : composée de vallées steppiques et sahariennes, les principales espèces rencontrées sont: Tarfa (tamarix), R'tem (Ratama), Accacia, Salsola, Guetaf (*Atriplex*) et Sparth. (Anonyme, 2010).

3.6.2. La faune :

Parmi les espèces animales qu'on trouve dans la région de Khenchela:

<i>Oiseaux</i>	<i>Animaux</i>
Perdrix gabra.	Le sanglier.
Tourterelle de bois.	L'hyène.
Tourterelle turque.	Le lièvre.
Cigogne blanche.	Le lapin.
Faucon crécerelle.	Le chat sauvage.
Faucon pèlerin.	
Faucon perenoptère.	

3.7. Potentialités cynégétiques de la wilaya en faune sauvage:

Au plan organisation cynégétique, la wilaya de Khenchela compte trois associations de chasse qui regroupent plus de 200 adhérents. Les principales espèces de gibier chassées sont : la caille, la perdrix, la tourterelle, le lapin de garenne, le lièvre et le sanglier. De plus, la wilaya renferme des espèces de faune sauvage et d'intérêt cynégétique en voie de disparition comme par exemple la gazelle de montagne, la gazelle dorcas, le mouflon à manchette et l'outarde houbara.

En ce qui concerne le complexe des zones humides de la wilaya on compte cinq sites :

- * **Barrage Foum el-Gueiss** : situé en lisière d'une forêt de pin d'Alep, celui-ci a été mis en service depuis 1935, sa capacité est de 2,5 millions de m³.
- * **Barrage de Babar** : inauguré en 1995, il possède une capacité de stockage de 44 millions m³.
- * **Zone humide de Sbikha** : Elle est considérée comme étant la plus petite zone humide de la wilaya.
- * **Garaat el-Tarf** : d'une superficie de 120 ha répartie sur 04 plans d'eau.
- * **Garaat el-Remila** : Elle est alimentée par l'oued Boulefreiss et le barrage de Kais. (Anonyme, 2010).

Chapitre II

Matériel et méthodologie



1. Objectifs de recherche

De façon générale, il s'agira d'étudier la qualité de l'eau de Hammam Essalihine avant et après rejet.

De façon spécifique, il s'agira de :

- analyser les paramètres physico-chimiques et microbiologiques.
- rechercher les sources probables de pollution de ces eaux.

2. Prélèvement

2.1. Matériel :

- Pour l'analyse microbiologique, on utilise des flacons en verre stériles.
- Pour l'analyse physicochimique, on utilise une bouteille en plastique.
- Glacière.
- Etiquettes.
- Un appareil photo numérique.
- Un multi-paramètre.

2.2. Sélection des sites de prélèvement :

Le choix des sites est aussi primordial pour la réalisation de cette étude. Trois stations différentes ont été choisit pour l'étude microbiologique et physico-chimique. (Tab5).

Tab.5. Période et nature de prélèvement.

		Date de prélèvement	Heure de prélèvement	Type d'analyses effectuées
Station 1	P1	18-07-2010	08 :30	Physico-chimique et microbiologique
	P2	18-04-2011	07 :36	
	P3	03-05-2011	07 :00	
Station 2	P1	18-07-2010	08 :55	
	P2	18-04-2011	07 :50	
	P3	03-05-2011	07 :15	
Station 3	P1	18-07-2010	09 :05	
	P2	18-04-2011	08 :05	
	P3	03-05-2011	07 :30	

Tab.6. Caractéristiques des stations de prélèvement.

Stations de prélèvement	X	Y	Z	Caractéristiques
Station 1	35°26'00.06"	7°05' 16.60"	1169	- Source d'eau potable (Ain Silène) -Absence de la végétation.
Station 2	35°26'23.40"	7° 5'4.80"	1071	- Source thermique (Hammam Essalihine).
Station 3	35°27'28.43"	7°5'11.50"	1001	- Cours d'eau (Oued El Hammam). -Présence de la végétation.

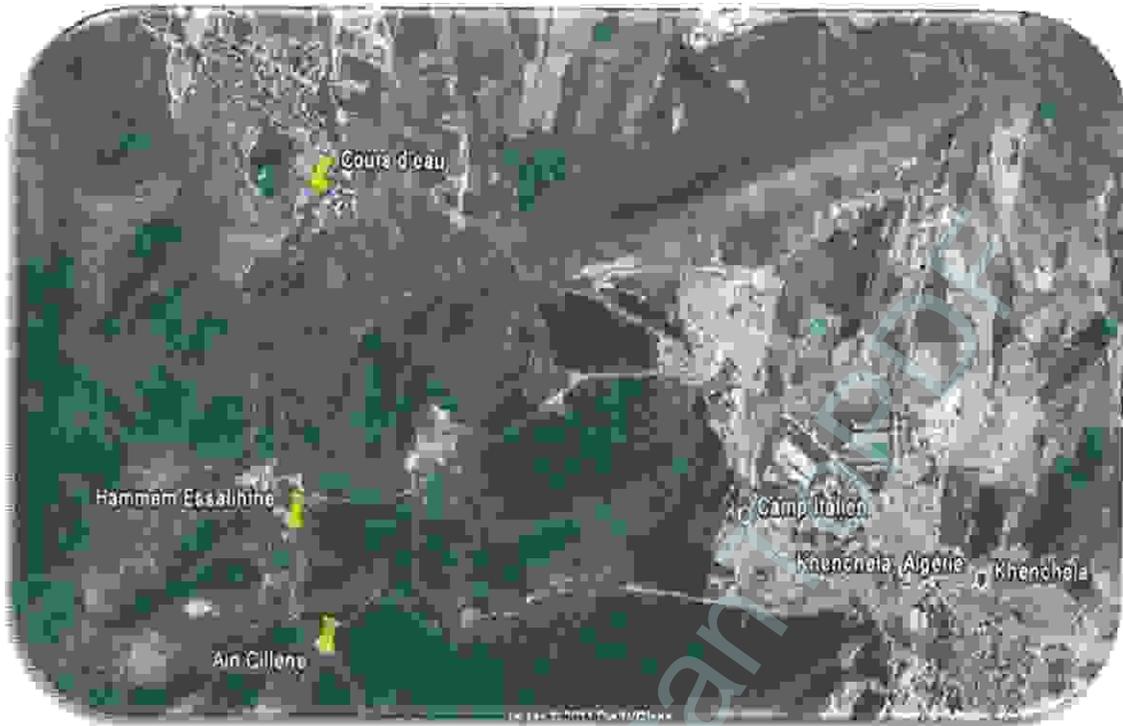


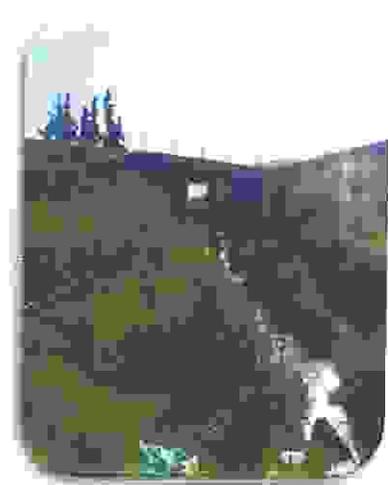
Fig.7. Positionnement des stations. (2).



Première station de Prélèvement.



Deuxième station de Prélèvement.



Troisième station de Prélèvement.

Fig.8. présentation des points de prélèvement.

2.3. Mode de prélèvement :

Les prélèvements ont été réalisés entre 7h et 10h. Ils se sont étalés sur une période de trois mois, le rythme d'échantillonnage était d'un prélèvement par mois, la fréquence était souvent conditionnée par les conditions météorologiques.

Au niveau de chaque station un prélèvement d'eau a été effectué pour l'analyse microbiologique et la mesure des paramètres physico-chimiques.

L'eau destinée à l'analyse microbiologique a été prélevée dans des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vis métallique suivant les techniques d'asepsie.

Le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, il convient de laisser un petit vide d'air, permettant un mélange correct en secouant le flacon. (Lightfoot, 2002; Chaouch, 2007).

2.4. Etiquetage des échantillons:

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et indétachables. Dans ces dernières, on doit noter avec précision; la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales. (Lightfoot, 2002; Merzoug, 2009).

2.5. Transport et conservation de l'échantillon:

Les échantillons sont transportés dans une glacière car il est conseillé de garder les échantillons à une température de 4°C et cela pour ralentir l'activité bactérienne (Aminot et Chausspied, 1983). L'analyse se fait le même jour et pas au delà de 24 heures.

3. Analyse microbiologique

Pour remédier aux objectifs de notre travail, les analyses sont effectuées aux mois de juillet, avril et mai. Les prélèvements d'eau brute ont été réalisés au niveau des trois stations. Les analyses microbiologiques des échantillons prélevés ont été faites au laboratoire d'hygiène de Kais (wilaya de Khenchela) et au laboratoire de l'université de Guelma.

Les germes-test recherchés sont les coliformes totaux, les coliformes fécaux, et les streptocoques fécaux. Ces germes sont peu ou pas pathogènes, ils sont révélateur de contamination fécale et entraînent par leur abondance la présomption de contamination plus dangereuse. (Figarella *et al.*, 2001).

Les germes supplémentaires recherchés sont les staphylocoques et cela pour leur intérêt pratique concernant les eaux de baignade. (Gaujous, 1995; Rodier *et al.*, 1996).

Les espèces considérées comme pathogènes à transmission hydrique sont réparties au sein de trois genres: *Salmonella* (bacilles de la typhoïde, des paratyphoïdes A et B et de diverses gastro-entérites), *Shigella* (bacilles dysentérique), *Escherichia* (essentiellement *E.coli* ou colibacille) parmi les Entérobactéries. (Brisou et Denis, 1978; Gauthier et Pietri, 1989; Eberlin, 1997).

Si la présence des espèces indicatrices ne confirme pas celle des espèces pathogènes dans les eaux analysées, elle la laisse supposer, car une certaine relation quantitative existe entre les deux groupes de bactéries (Gauthier et Pietri, 1989). En effet, La présence simultanée des coliformes et des entérocoques suffit à confirmer qu'il y a pollution (Brisou et Denis, 1978).

3.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables:

➤ Principe:

Il s'agit d'une technique de numération des microorganismes après incorporation de volumes déterminés d'échantillon ou de ces dilutions dans un milieu gélosé. (Rejsek, 2002).

➤ Mode opératoire:

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 2 fois 1ml dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées comme l'indique la figure 9.

Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.

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

Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose (TGEA). Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

➤ **Incubation:**

La première boîte sera incubée, couvercle en bas à 22°C.

La seconde sera incubée couvercle en bas à 37°C.

➤ **Lecture:**

Les germes revivifiables se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse :

Première lecture à 24 heures.

Deuxième lecture à 48 heures.

Troisième lecture à 72 heures.

➤ **Dénombrement:**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte les deux remarques suivantes:

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

- Le résultat sera exprimé par millilitre d'eau à analyser à 22°C et à 37°C. (Lebres, 2006).

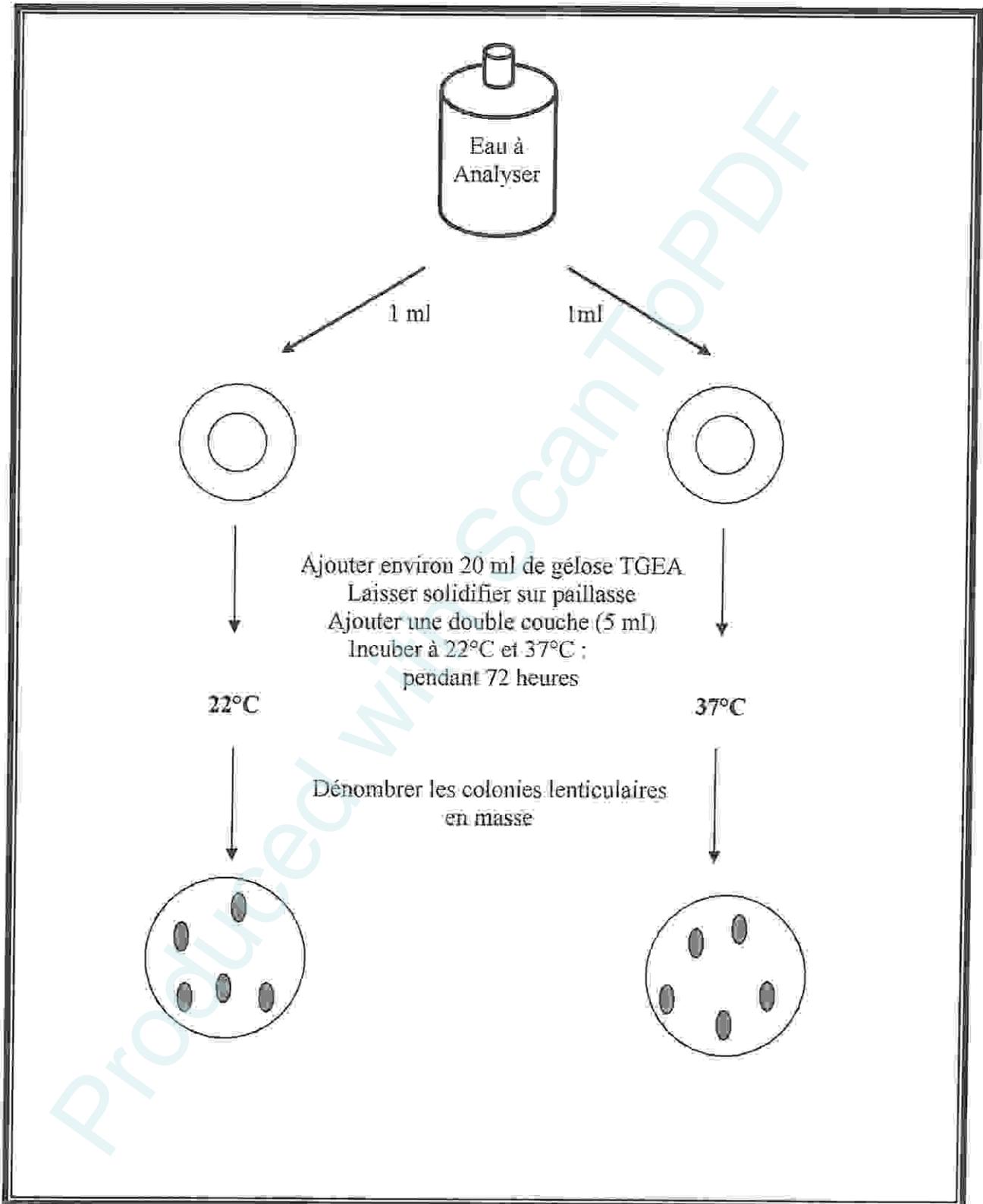


Fig.9. Recherche et dénombrement des germes revivifiables. (Labres, 2002).

3.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale:

3.2.1. Recherche des coliformes totaux par filtration:

Les coliformes totaux sont des bactéries provenant du sol et de l'environnement ces coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives. (3)

➤ Principe:

Cette technique consiste à filtrer sur des membranes montées dans un appareil de filtration une quantité d'eau brute (ou diluée), puis à appliquer ces membranes sur des milieux sélectifs coulés en boîtes de Petri.

Après incubation, les colonies développées seront dénombrées (Fig.10). (Dellaras, 2003).



Fig10. Rampe de filtration. (14/04/ 2011).

➤ **Mode opératoire:**

La colimétrie par filtration est une méthode rapide, simple, normalisée mais nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration.

- Tout d'abord, il faudrait stériliser un entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir soit avec l'eau à analyser ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- Prendre une membrane filtrante de 0,45 μ stérile près du bord à l'aide d'une pincette stérilisée et la déposer ensuite sur le support de filtre.
- Placer l'entonnoir sur le support et le fixer fermement.
- Remplir par la suite l'entonnoir par les volumes requis, selon la nature de l'échantillon analysé.
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Pétri contenant de la gélose TTC.
- Inscrive sur la boîte de Pétri le numéro de l'échantillon et le volume filtré.
- Placer la boîte de Pétri en position inversée pour empêcher la condensation sur la membrane.
- Cette membrane sera incubée à 37°C, pendant 24 heures et servira à la recherche des coliformes totaux. (Lebres, 2002).

3.2.2. Recherche des coliformes fécaux par filtration:

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et dans une moindre mesure certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés.

➤ **Mode opératoire:**

- Stériliser l'entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir soit avec l'eau à analyser ou bien avec de l'eau distillée stérile.

- Prendre une membrane filtrante de 0,45 μ stérile près du bord à l'aide d'une pincette stérilisée et la déposer ensuite sur le support de filtre.
- Placer l'entonnoir sur le support et le fixer fermement.
- Remplir par la suite l'entonnoir par les volumes requis, selon la nature de l'échantillon analysé.
- Actionner de la même façon la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Pétri contenant de la gélose TTC.
- Inscrire sur la boîte de Pétri le numéro de l'échantillon et le volume filtré.
- Placer la boîte de Pétri en position inversée pour empêcher la condensation sur la membrane.
- Cette deuxième membrane sera incubée à 44°C, pendant 24 heures et servira à la recherche des coliformes fécaux (Fig11). (Lebres, 2002).

Tab.7. Volume de l'échantillon analysé selon sa nature.

Provenance de l'eau	Volumes en ml
Eau potable traitée ou non traitée, eau souterraine (puits).	100 ml
Eaux de surface (rivières, lacs, plages, etc.)	50, 10 et 1 ml
Eaux usées domestiques, municipales, industrielles, etc. Lixiviats de sites d'enfouissement sanitaire, etc.	10 et 1 ml de chacune des dilutions.
Boues d'eaux usées industrielles, municipales, domestiques, etc. Sols, déchets solides et sédiments contaminés.	10 et 1 ml de chacune des dilutions effectuées à partir de la suspension dans l'eau tamponnée.

➤ **Lecture et interprétation:**

- Après la période d'incubation, sortir et ranger les boîtes de Pétri par ordre de numéro d'échantillon. L'observation des membranes s'effectue le plus tôt possible après leur sortie de l'incubateur.
- Les coliformes totaux et fécaux apparaissent sous forme de petites colonies jaunes ou orangées, lisses, légèrement bombées (colonies typiques).
- Etant donné le caractère sélectif de la gélose TTC, ne pousseront théoriquement que les coliformes.
- Ne dénombrer que les boîtes refermant entre 15 et 300 colonies.
- Le nombre de colonies trouvées sera exprimé en unités formant des colonies (UFC) par le volume d'échantillon analysé selon l'équation générale suivante :

$$\text{UFC/100 ml} = \frac{\text{Nombre de colonies de coliformes totaux}}{\text{volume d'échantillon analysé en ml}} \times 100$$

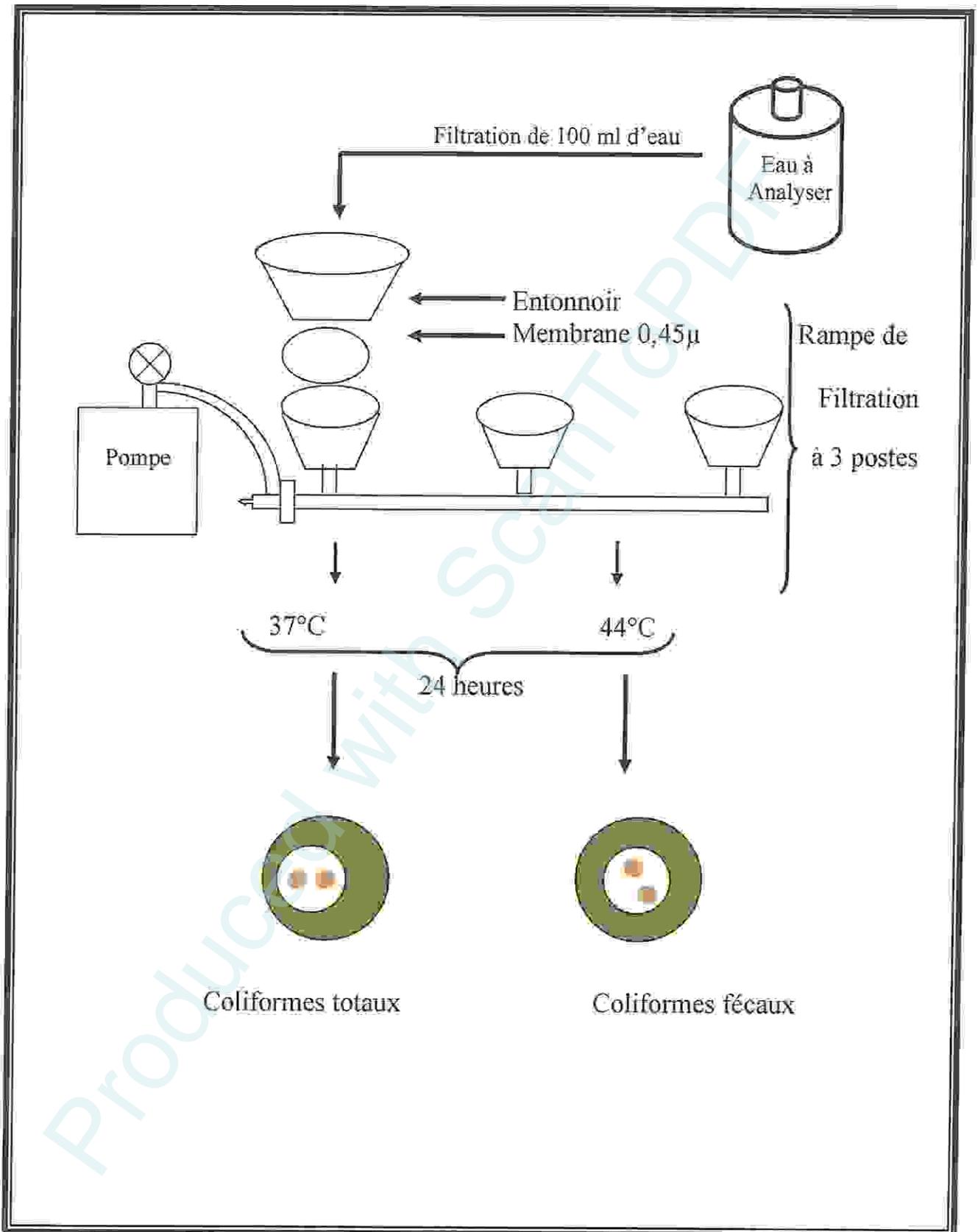


Fig.11. Colimétrie par filtration. (Lebres, 2002).

3.2.3. Recherche des streptocoques fécaux par filtration:

Ces bactéries appartiennent à la famille des streptococcaceae, sont des cocci généralement disposées en diplocoques ou en courte chaîne, à gram négatif, asporulantes, immobiles, aérobies facultatifs et possédant un métabolisme fermentatif. Ces germes colonisent l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur présence dans le milieu hydrique prouve une pollution d'origine fécale de l'eau. (7).

➤ Mode opératoire :

La Streptométrie par filtration est tout comme la colimétrie par filtration une méthode rapide, simple, normalisée mais nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration.

- Tout d'abord, il faudrait stériliser un entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir soit avec l'eau à analyser ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de $0,45 \mu$ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dernier avec la pince correspondante.
- Remplir par la suite l'entonnoir par les volumes requis, selon la nature de l'échantillon analysé.
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de Petri contenant de la gélose Slanetz et Bartley.
- Cette membrane sera incubée à 37°C , pendant 24 heures. (Lebres, 2002).

➤ Lecture et interprétation:

- Après 24 heures d'incubation, les streptocoques fécaux apparaissent sous forme de petites colonies rouges, marrons ou roses, lisses, légèrement bombées.
- Etant donné le caractère sélectif de la gélose Slanetz; ne pousseront théoriquement que les streptocoques fécaux.
- Ne dénombrer que les boîtes refermant entre 15 et 300 colonies.
- Le nombre de colonies trouvées sera exprimé dans 100 ml d'eau à analyser.

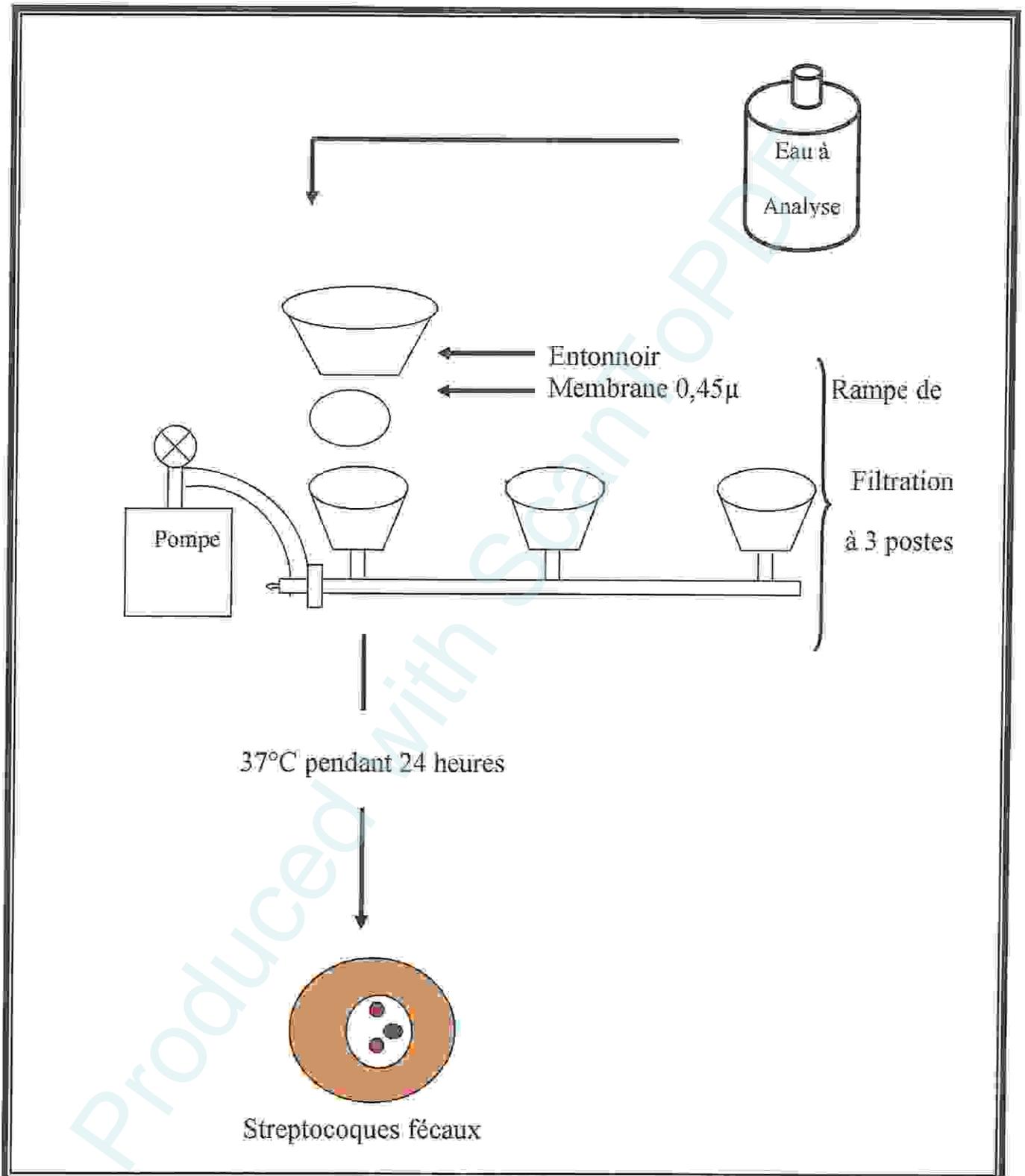


Fig.12. Streptométrie par filtration. (Labres, 2002).

3.2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréductrices (ASR) :

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

➤ Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser :

- prendre environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet. Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 20 ml de gélose Viande Foie, fondue, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium, puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant la formation des bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur pailleasse pendant 30 minutes environ, puis incubé à 37°C , pendant 24 à 48 heures.

➤ Lecture :

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures. Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser (Fig. 13). (Lebres, 2006).

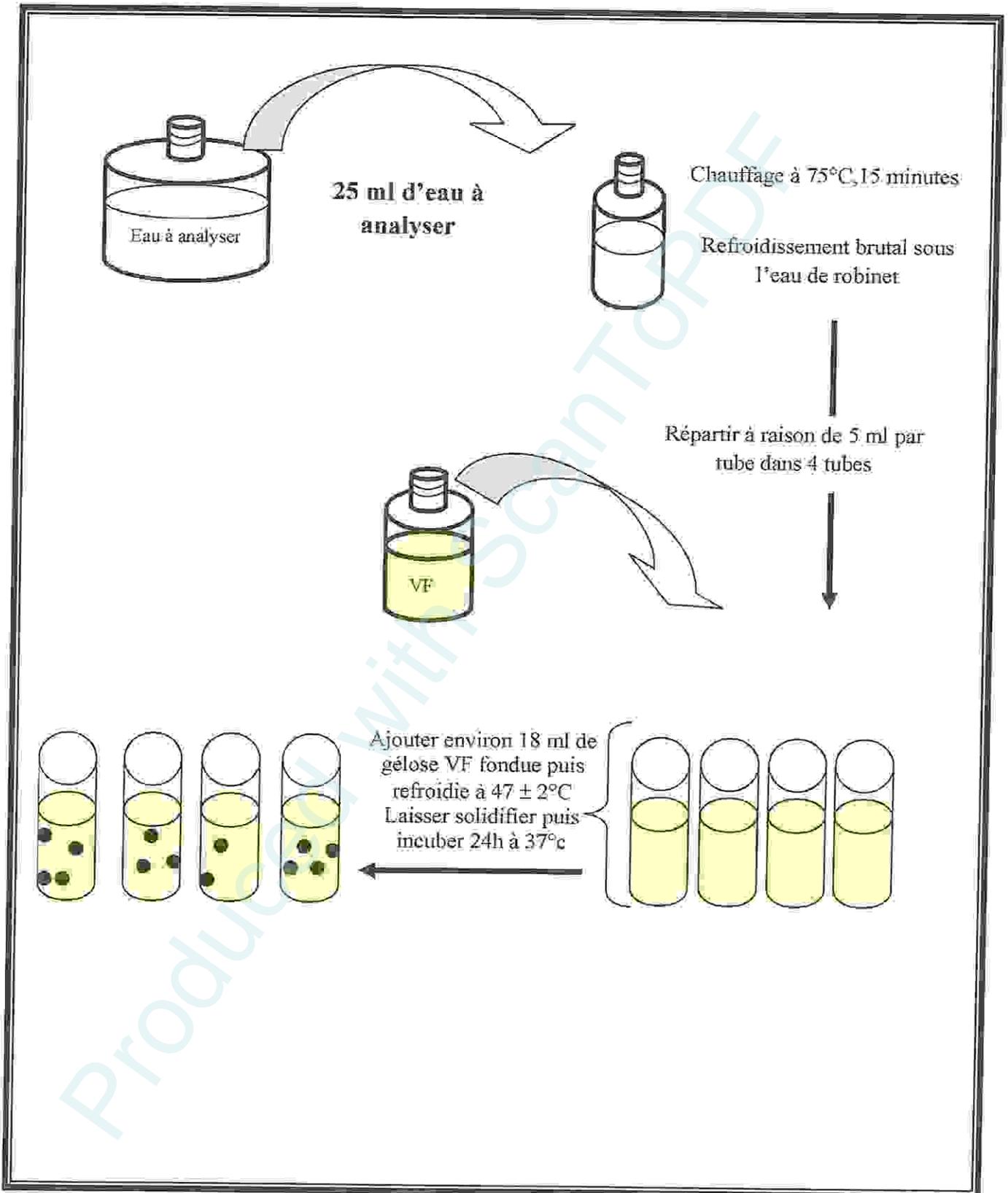


Fig.13. Recherche et dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs.
(Bouchaala, 2010).

3.3. Recherche des germes pathogènes

3.3.1. Recherche des Staphylocoques sur le milieu de Chapman gélosé :

Les Staphylocoques sont les bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, coagulase positive, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, possédant l'enzyme catalase et la coagulase. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ sur un milieu sélectif Chapman au mannitol. (Pechère *et al.*, 1982; Carbonnelle, 1988 ; Labres *et al.*, 2008).

Ce milieu est caractérisé par sa forte concentration en chlorure de sodium ce qui permet un isolement sélectif des staphylocoques. La fermentation du mannitol est indiquée par le virage au jaune de l'indicateur coloré, « le rouge de phénol », autour des colonies. (Rodier *et al.*, 1996).

➤ Mode opératoire :

A partir de la solution mère, on porte aseptiquement $\sim 0,1 \text{ ml}$ (2 gouttes) dans les boîtes de pétri qu'on étale à l'aide d'un râtelier (ou en utilisant la méthode des cadrans).

➤ L'incubation :

L'incubation se fait à 37°C pendant 48 heures.

3.3.2. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

➤ Isolement :

L'isolement est fait directement sur milieu sélectif King A et King B. Nous ensemençons l'eau à analyser par stries à la surface de la gélose à l'aide d'une anse de platine. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Pilet *et al.*, 1987).

➤ Confirmation :

- Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle (il permet d'observer la mobilité des germes) et la coloration de Gram.

- Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.
- Recherche de la pyoverdine : présente une teinte verte fluorescente est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. (Pilet et al, 1987).

3.3.3. Recherche des Salmonelles;

La recherche des salmonelles se fait par la méthode qualitative réalisée en trois étapes successives : le pré enrichissement, l'isolement, et l'identification biochimique. (Rodier et al., 1996).

La recherche des Salmonelles comporte plusieurs étapes :

Jour 1: Préenrichissement

Ensemencement du milieu liquide (eau peptonée tamponnée), ajouter l'échantillon à un volume égal d'eau peptonée tamponnée, puis incubé à 37°C pendant 16 heures au moins et 20 heures au plus.

Jour 2: Enrichissement

Cette étape consiste en l'ensemencement du milieu sélectif SFB à partir du bouillon de préenrichissement puis incubation à 37°C pendant 48 heures.

Jour 3 : Isolement

Ensemencement du milieu sélectif solide Hektoen ou du milieu SS à partir du bouillon d'enrichissement; l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

- Identification des colonies présumées à l'aide de tests biochimiques ou sérologiques (Fig.14). (6).

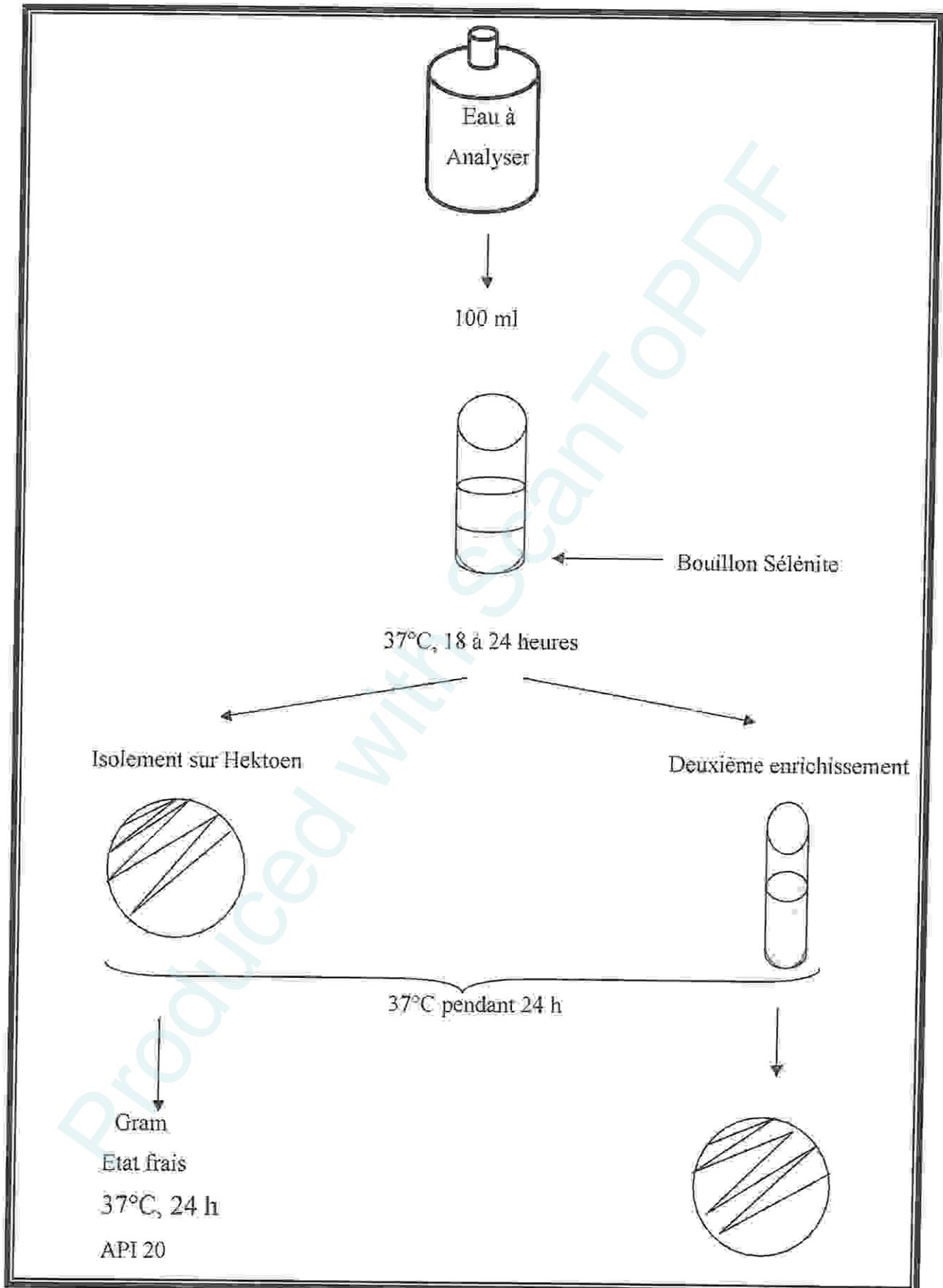


Fig.14. Recherche des Salmonelles. (Lebres, 2002).

3.4. Recherche des levures et moisissures:

Nous avons utilisés la technique d'isolement par stries sur gélose coulée dans des boîtes de Pétris contenant de la gélose Sabouraud. L'identification des levures et moisissures est effectuée par une coloration simple entre lame et lamelle sur les cultures en milieu solide, ayant permis d'observer les caractères cultureux, la forme et la taille des colonies.

3.5. Tests complémentaires :

3.5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux :

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

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

3.5.2. Examen microscopique après coloration:

Après Coloration simple :

C'est une coloration d'orientation : elle permet d'étudier la taille, la forme et le mode de regroupement des cellules bactériennes. Un seul colorant est généralement utilisé, le plus souvent c'est le bleu de méthylène. Ces renseignements peuvent être fournis par une simple préparation à l'état frais (coloration vitale) entre lame et lamelle, ou à l'état tué. (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2010).

Après coloration de Gram :

➤ Principe:

Le principe de cette coloration est que le violet de gentiane se fixe sur des composants cytoplasmiques et après ce temps de coloration, toutes les bactéries sont violettes. Chez les bactéries à **Gram négatif**, la paroi riche en lipides laisse passer l'alcool qui décolore le cytoplasme et adopte la couleur rosâtre de la Fushine, alors que chez les bactéries à **Gram positif**, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet. (6).

➤ Mode opératoire:

- Un frottis fixé à la chaleur et coloré pendant une minute avec une solution de violet de gentiane, le frottis coloré est rincé rapidement avec une solution iodo-ioduré de Lugol, et il y est maintenu pendant une minute.
- Le frottis est ensuite décoloré avec l'alcool à 95 % pendant quelques secondes jusqu'à élimination de l'excès du colorant puis rincé immédiatement avec l'eau du robinet.
- Le frottis est ensuite traité avec un colorant qui est une solution de Fushine, rincé rapidement au robinet et séché.
- Après ce traitement, les cellules Gram négatif apparaissent roses et les cellules Gram positif apparaissent sous une couleur violette. (6).

3.5.3. Examen liés aux caractères biochimiques :

3.5.3.1. La galerie API20E :

La galerie API20E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles Gram négatif utilisant 20 testes biochimiques standardisés et miniaturisés ainsi qu'une base de données. (Rouaiguia et Cherié, 2010).

➤ Principe :

La galerie API20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la

période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif. La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API20E. (Rouaiguia et Cheriet, 2010).

➤ **Mode opératoire :**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules des autres tests).
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 18-24 heures. (Defarras, 1998).

➤ **Lecture :**

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

- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacks. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20 E. (Fig.15). (Aouissi *et al.*, 2007).

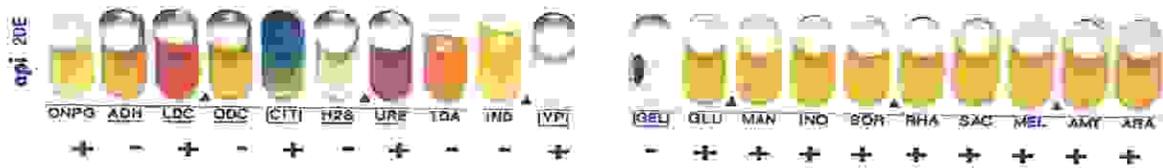


Fig.15. Galerie API20E. (Merzoug, 2009)

3.5.3.2. La galerie Api 20 NE :

➤ Principe :

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée.

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

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

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification. (4).

➤ Mode opératoire :

- **Préparation de la galerie :** Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.
- **Préparation de l'inoculum :** Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile.
- **Inoculation de la galerie :**
 - *Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO_3 à PNPG avec la suspension précédente. Eviter la formation de bulles.
 - *Transférer 200 μl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente dans une ampoule AUX Medium. Homogénéiser.
 - * Remplir les tubes et cupules des tests GLU à PAC.
 - *Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests GLU, ADH, URE.

*Incuber 24 heures à 30°C. (4).

➤ **Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture. Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de résultats. (4).

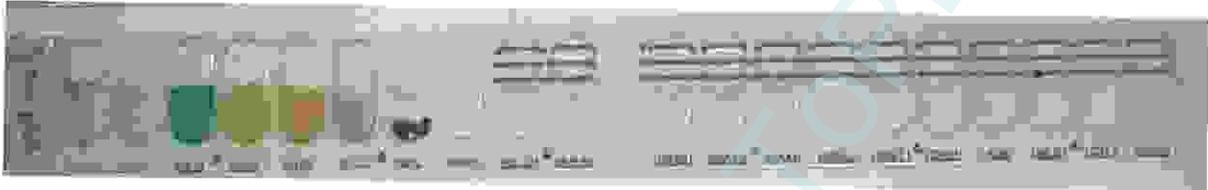


Fig.16. Galerie API20 NE. (8).

4. Analyse physico-chimique

4.1. Mesure *in situ* :

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place en plongeant directement le matériel dans l'eau. La température, le pH et la conductivité doivent être mesurés sur place. Ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et susceptibles de varier dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur le site.

4.1.1. La couleur apparente:

Une eau pure observée sous une lumière transmise sur une profondeur de plusieurs mètres émet une couleur bleue claire car les longueurs d'onde courtes sont peu absorbées alors que les grandes longueurs d'onde (rouges) sont absorbées très rapidement. La couleur des eaux de surface est due généralement à des substances colorées d'origine variées; (substance humiques, algues, substance minérales et rejets). (Rejsek, 2002).

La couleur apparente d'une eau c'est la couleur due aux substances dissoutes et aux matières en suspension. (Rodier, 1996; Rejsek, 2002).

4.1.2. La température:

Il est très 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 des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique et dans la détermination de pH.

D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et de leur origine. (Leclerc, 1996).

La mesure de la température est effectuée sur le terrain, on utilise souvent dans ce but un thermomètre ou un multi paramètres. La lecture est faite après une immersion de 10 minutes. (Rodier, 1996; Boukrouma, 2008).

4.1.3. Le pH:

Le pH d'une eau représente son acidité ou son alcalinité. Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés, il varie entre 7,2 et 7,6 habituellement. Le pH est un élément important pour définir le caractère agressif ou incrustant d'une eau. Pour la mesure du pH nous avons utilisé un pH mètre.

L'OMS préconise pour l'eau destinée à la consommation humaine un pH compris entre 6,5 et 8,5.

Tab.8. Classifications des eaux d'après leur pH. (Agrigon, 2000; Hakmi, 2002).

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

4.1.4. La conductivité électrique:

L'eau pure est peu conductrice du courant électrique car elle ne contient que très peu de particules chargées électriquement (ions), susceptibles de se déplacer dans un champ électrique. La mesure se fait à l'aide d'un multi-paramètre. L'unité de conductivité est le micro-siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

La conductivité traduit la minéralisation totale de l'eau. Sa valeur varie en fonction de la température. (Rodier, 1996).

La conductivité est liée à la présence d'ions en solution. Elle augmente avec la température et la concentration en sels dissous.

4.1.5. La salinité:

La présence de sel dans l'eau modifie certaines propriétés (densité, compressibilité, point de congélation, température du maximum de densité). D'autres (viscosité, absorption de la lumière) ne sont pas influencées de manière significative. Enfin certaines sont essentiellement déterminées par la quantité de sel dans l'eau (conductivité, pression osmotique).

Le chlorure de sodium (NaCl) n'est qu'un des très nombreux sels composant l'eau, pour la mesure de la salinité on utilise un multi-paramètre. (Merzoug, 2009).

4.1.6. Dosage du chlore (méthode à la DPD):

➤ Principe:

Dans ce dosage, la DPD sert d'indicateur redox, coloré en rose en milieu oxydant et incolore en milieu réducteur à un pH compris entre 6,2 et 6,5. Le chlore libre réagit instantanément avec la DPD en absence d'ions iodure dans le milieu réactionnel. (Rejsek, 2002).

➤ **Mode opératoire:**

La DPD est introduite sous forme de pastille dans un volume d'échantillon déterminé. La coloration développée est ensuite mesurée visuellement par rapport à des échelles de couleur ou avec des petites colorimètres de terrain. Ces méthodes sont très utiles lors de la vérification, en dehors du laboratoire. (Rejsek, 2002).

4.2. Mesure au laboratoire

4.2.1. La minéralisation de l'eau (TDS):

La quantité des sels minéraux dissous influence la conductivité, la mesure qui permet de déterminer la quantité totale de sels minéraux dissous dans l'eau qui est appelée le TDS. Une eau, dont la minéralisation est inférieure à 600 mg/l, est généralement considérée comme bonne.

La mesure de la TDS se fait dans le laboratoire à l'aide d'un multi-paramètre ou un TDS mètre en mettant une quantité de l'eau à analyser dans une cuve stérile et introduire cette eau dans l'une des appareils. (Rodier, 1996).

4.2.2. La dureté totale TH :

➤ **Principe :**

Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont anionés à former un complexe du type chélation par le sel disodique de l'acide éthylène-diaminetétracétique à pH 10, la disparition des dernières traces d'éléments libres à doser est décelée par le virage d'un indicateur spécifique.

En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du magnésium, la méthode permet de doser les sommes des ions calcium et magnésium.

➤ **Mode opératoire :**

- Prélever 100ml d'eau à analyser, ajouter 2ml solution tampon (pH=9.5 à 10) et quelques graines d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage rouge ou bleu. (Boukertouta *et al.*, 2009).

➤ **Expression des résultats :**

Soit V le volume de la solution d'EDTA versée.

$$TH (F^{\circ}) = V (ml) \times 10$$

4.2.3. La résistivité

La résistivité électrique est l'inverse de la conductivité et donne elle aussi une idée de la minéralisation globale de l'eau destinée à la consommation humaine. Une eau pure ou qui vient d'être distillée conduit mal au courant électrique (forte résistivité) mais dès que cette eau se charge en matières organiques ionisées, sa conductivité qui devient alors élevée. La mesure de la résistivité se fait dans le laboratoire à l'aide d'un multi-paramètre. L'unité de la résistivité est l'ohmes.cm. (5).

La relation entre la résistivité et la conductivité est la suivante:

$$\text{Résistivité } (\Omega.cm) = \frac{1000000}{\text{conductivité } (\mu s / cm)}$$

4.2.4. La détermination du titre Alcalimétrique (TA-TAC):

➤ **Principe :**

Le Titre Alcalimétrique (TA) mesure la teneur de l'eau en Alcalis libres et en Carbonates Alcalins Caustiques.

Le Titre Alcalimétrique Complet (TAC) correspond à la teneur de l'eau en alcalis libres, Carbonates et Bicarbonates.

➤ **Mode opératoire :**

La détermination du TA :

Prélever 100 ml d'eau à analyser dans une fiole conique. Ajouter 1 à 2 gouttes de solution alcoolique de phénol phtaléine. Une coloration rose doit alors se développer. Dans le cas contraire le TA est nul, ($\text{pH} < 8,3$).

Verser ensuite doucement l'acide dans la fiole à l'aide d'une burette, en agitant constamment, et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution ($\text{pH} 8,3$).

Soit V le volume d'acide utilisé pour obtenir le virage. (Rodier, 2009).

La détermination du TAC :

Utiliser l'échantillon traité précédemment ou le prélèvement primitif s'il n'y a pas eu de coloration. Ajouter 2 gouttes de solution de vert de bromocrésol et de rouge de méthyle et titrer de nouveau avec le même acide jusqu'à disparition de la coloration bleu verdâtre et apparition de la couleur rose ($\text{pH} 4,5$). Le dosage doit être effectué rapidement pour réduire les pertes de CO_2 qui pourraient entraîner une élévation du pH de virage (voir ci-dessus).

Soit V^* le volume d'acide 0,02 N versé depuis le début du dosage. (Rodier, 2009).

➤ **Expression des résultats :**

V : exprime le titre alcalimétrique en degrés français

V^* : exprime le titre alcalimétrique complet en degrés français

4.2.5. Les chlorures (Méthode de Mohr):

➤ **Principe :**

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

➤ **Mode opératoire :**

- Introduire 100 ml d'eau à analyser (préalablement filtrée si nécessaire).
- Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide nitrique pur puis une pincée de carbonate de chaux et 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10 %.
- Verser alors au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rougeâtre, qui doit persister 1 à 3 minutes.

Soit V le nombre de millilitres de nitrate d'argent 0,1 N utilisés. (Rodier, 2009).

➤ **Expression des résultats:**

Pour une prise d'essai de 100 ml:

$$V \times 10 \times 3,55$$

4.2.6. Dosage simultané du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA :

➤ **Principe :**

Le principe est le même que pour la mesure de la dureté calcique, mais l'utilisation de deux indicateurs permet de doser successivement et sur un même échantillon, le calcium et le magnésium. (Rodier, 2009).

➤ **Mode opératoire :**

Ajouter à l'échantillon à analyser 3 ml de solution d'hydroxyde de sodium puis quelques gouttes de solution de bleu d'ériochrome. Verser la quantité nécessaire de solution d'EDTA pour obtenir le virage au violet. Noter cette quantité (V_1). Ajouter 3,2 ml d'acide chlorhydrique N et agiter durant une minute jusqu'à parfaite dissolution du précipité magnésien. Verser 5 ml de la solution tampon et une goutte de solution de noir d'ériochrome. Bien mélanger. Introduire la quantité de solution d'EDTA nécessaire au virage au bleu (V_2). (Rodier, 2009).

➤ **Expression des résultats :**

Pour une prise d'essai de 50 ml :

– La teneur en calcium est égale à

$$\text{Ca (mg/l)} = \frac{V1.0,4008.1000}{50}$$

– La teneur en magnésium est égale à

$$\text{Mg (mg/l)} = \frac{V2.0,243.1000}{50}$$

4.2.7. La détermination du sulfate (SO_4^{2-}) : Méthode Allemande (Mr. KERN)

➤ **Principe :**

Les ions Sulfates (SO_4^{2-}) sont précipités et passés à l'état de Sulfates de Baryum en présence de BaCl_2 .

➤ **Mode opératoire :**

- Prendre 20 ml d'eau à analyser puis compléter à 100 ml d'eau distillée. Ajouter 5 ml de la solution stabilisante.
- Ajouter 2 ml de Chlorure de Baryum.
- Agiter énergiquement pendant une minute.
- Lire au spectrophotomètre.

➤ **Expression des résultats :**

La lecture se fait à une longueur d'onde 420nm

$$[\text{SO}_4^{2-}] \text{ mg/l} = \text{la valeur lue au spectrophotomètre} \times \text{la dilution.}$$

4.2.8. Les bicarbonates (HCO_3^-):

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence des bicarbonates, carbonates et hydroxydes. La présence des bicarbonates dans l'eau est due à la dissolution des formations carbonates (cipolin, calcaire) par des eaux chargées en gaz carbonique. La concentration des bicarbonates est calculée selon la relation suivante:

$$[\text{HCO}_3^-] = \text{TAC} \times 12,2$$

TAC: Alcalinité totale.

1°F = 10 mg/l. (Rodier, 1996).

4.2.9. Les résidus secs:

➤ **Principe :**

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau. Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporisée dans une capsule tarée de résidu desséché et ensuite pesé.

➤ **Mode opératoire :**

- Tarer une capsule préalablement lavée, rincer avec de l'eau distillée et dessécher.
- Prélever 200ml d'eau à analyser.
- Porter à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.
- Laisser refroidir pendant ¼ heures au dessiccateur.
- Peser immédiatement et rapidement. (Aminot, 1983; Rodier, 1996).

Chapitre III

Résultats et discussion

1. Résultats des analyses microbiologiques

1.1. Résultats de la recherche et du dénombrement des micro-organismes de l'eau :

1.1.1. Germes totaux :

Dans notre étude on a recherché des germes totaux uniquement pendant le mois de mai et lors de la manipulation les boites contenant la culture de ces germes ont été contaminées, ce qui a empêché leur correct dénombrement.

1.1.2. Recherche et dénombrement des germes témoins de contamination fécale :

Le dénombrement microbien est une étape primordiale pour la détermination de la qualité de l'eau d'un écosystème. Le dénombrement des coliformes qui sont considérés comme des germes test de contamination fécale est une étape obligatoire. (Khaled et Mebarkí, 2009).

1.1.2.1. Coliformes totaux :

L'évaluation du nombre de coliformes fécaux dans les eaux de Hammam Essalihine est présentée dans le Tableau ci-dessous.

Tab. 9. Evaluation du nombre des coliformes totaux.

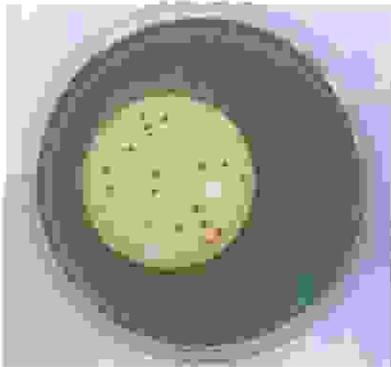
	Juillet 2010	Avril 2011	Mai 2011
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	>300 UFC/100ml
S3	> 300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml

(-) : culture négative.

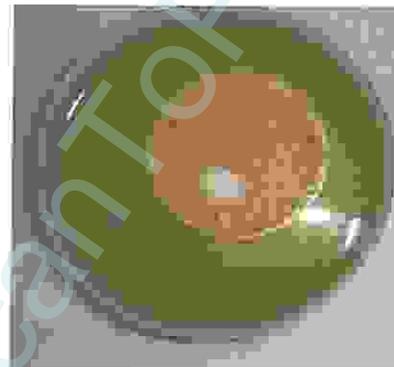
D'après les résultats présentés dans le tableau, on observe l'absence totale des coliformes totaux au niveau de la station (S1) pendant toute la période de l'étude.

Au niveau de la deuxième station, on observe l'absence des coliformes totaux pour le prélèvement d'avril et de juillet mais on a enregistré une contamination pendant le prélèvement de mois de mai.

Concernant la station (S3) le nombre des coliformes totaux dans l'eau analysée dépasse les 300 UFC/100ml durant toute la période d'étude.



Résultat négatif (S1).



Résultat positif (S3).

Fig.17.résultats de dénombrement des coliformes totaux (UFC/100ml).

1.1.2.2. Coliformes fécaux :

L'évaluation du nombre de coliformes fécaux dans les eaux de Hammam Essalihine est présentée dans le Tableau 10.

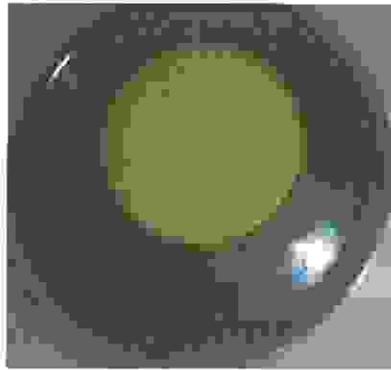
Tab.10. Evaluation du nombre des coliformes fécaux.

	Juillet 2010	Avril 2011	Mai 2011
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	12 UFC/100ml
S3	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml

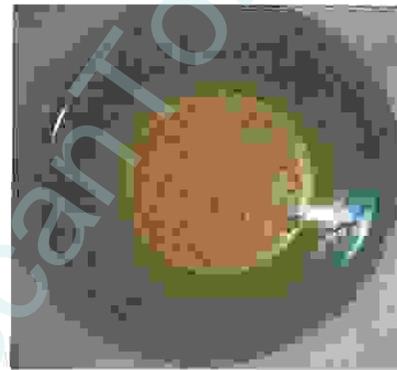
(-) : culture négative.

D'après les résultats obtenus le taux des coliformes fécaux est nul dans la station (S1) pendant les trois mois; même chose pour la station (S2) sauf qu'on a détecté quelques colonies pendant le mois de mai.

Les mêmes constatations des coliformes totaux sont notées pour les coliformes fécaux ou le nombre de coliformes fécaux est supérieure à 300UFC/100ml. Cette contamination est peut être due au rejet de la station (S2) et à leur présence près des agglomérations



Résultat négatif (S1).



Résultat positif (S3).

Fig.18.résultats de dénombrement des coliformes fécaux (UFC/100ml).

(04/05/2011).

1.1.2.3. Streptocoques fécaux :

Le nombre de Streptocoque D dans l'eau est étroitement lié à la quantité et à la concentration de la matière fécale dans cette eau (Guiraud, 1998). Ces bactéries sont très sensibles aux variations physicochimiques du milieu. (Boukrouma, 2008).

Les résultats sont exprimés dans le tableau ci dessous (Tab.11):

Tab.11. Evaluation du nombre des Streptocoques fécaux.

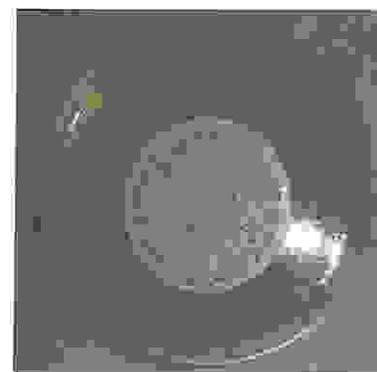
	Juillet 2010	Avril 2011	Mai 2011
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	20 UFC/100ml
S3	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml	>300 UFC/100ml

(-) = culture négative.

Le tableau nous montre que la présence des streptocoques D a été enregistrée au niveau de la station (S3) durant les trois mois de prélèvement. Concernant la station (S2) les streptocoques fécaux apparaissent juste pendant le mois de mai ceci est peut être due à une contamination par la présence des matières fécales au niveau de cette station ou à une contamination pendant le prélèvement ou pendant les analyses.



Résultat négatif (S1).



Résultat positif (S3).

Fig.19. résultats de dénombrement des streptocoques fécaux (UFC/100ml).

1.1.2.4. Les Anaérobies sulfite-réducteurs (ASR):

Les bactéries anaérobies sulfite-réductrices sont souvent considérées comme des indices de contamination ancienne. La forme spore est beaucoup plus résistante que la forme végétative des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de détecter une pollution fécale. (Rouaiguia et Cheriet, 2010).

Tab. 12. Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs(ASR).

	Juillet	Avril	Mai
S1	(-)	(-)	(-)
S2	(-)	(-)	(-)
S3	(-)	(-)	(-)

(-) : Culture négative.

Pour les spores des ASR les résultats négatifs obtenus montrent l'absence des espèces sulfitoréductrices (*Clostridium* sp) responsables des maladies graves tels le botulisme et le tétanos.

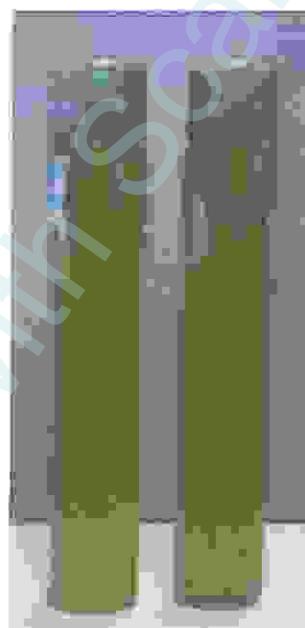


Fig.20. Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs.

1.2. Identification des souches bactériennes :

1.2.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram:

Du point de vue microscopique, l'examen cytologique nous a révélé que les bâtonnets Gram négatif sont plus représentés par rapport aux cocci Gram positif qui demeurent faiblement représentés.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 13.

Tab. 13. Aspect macroscopique et microscopique des colonies.

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Gélose nutritive (GN)	-Circulaires, lisses, plates, blanchâtres, 2mm de diamètre. Muqueuses.	-Cocci Gram positif.
	-Blanchâtres, contour régulier, opaques et bombées, 1mm à 3 mm de diamètre.	-Cocci Gram négatif.
	- Blanchâtres, régulières opaques, plates	-Bacilles Gram négatif associées en chainettes.
Mac-Conkey	-Roses, opaques, bord régulier, bombées, 1 à 2 mm de diamètre.	-Bacilles isolés, Gram négatif.
	-Blanche avec halo violet, bombée, bord régulier, muqueuse, 2 mm,	-Bacilles Gram négatif.
	-Circulaire, rigoureuse, transparente bombée, 1 mm de diamètre.	-Bacilles Gram négatif.
Chapman	(-)	(-)
Hektoène	Colonie jaune ponctiforme, régulière lisse de 0.5 mm de diamètre.	Bacilles Gram négatif.
SS	(-)	(-)
King A	-Colonie blanche translucide bombée régulière	-Bacilles à Gram négatif
King B	-Colonie blanche de grande taille bombée à bord irréguliers	-Bacilles à Gram négatif associées en chainettes.

(-) : culture négative.

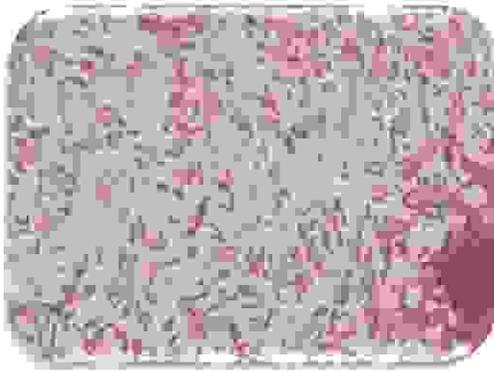


Fig.21. Bacilles Gram négatif.

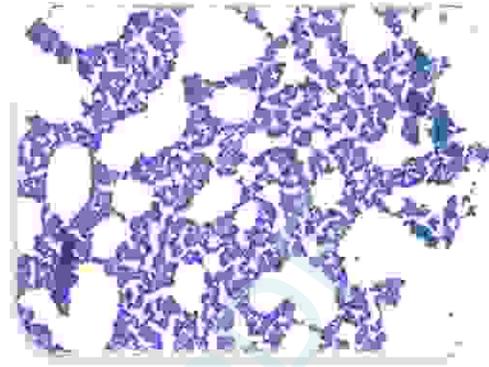


Fig.22. Cocci Gram positif.

1.2.2. Résultats de l'identification biochimique :

L'identification de ces bactéries par l'étude de leurs métabolismes (anabolisme + catabolisme) et de leurs arsenaux enzymatiques cellulaires par le biais de la galerie Api 20 E a permis d'identifier 8 espèces bactériennes.

Tab. 14. Résultats de l'identification biochimique.

Espèces bactériennes isolées	
Station 1	<i>Moraxella lacunata.</i> <i>Escherichia coli.</i>
Station 2	<i>Enterobacter cloacae.</i> <i>Serratia odorifera.</i>
Station 3	<i>Klebsiella oxytoca.</i> <i>Vibrio parahaemolyticus.</i> <i>Escherichia coli.</i> <i>Listonella domsela.</i>

La plus part des espèces isolées appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. D'après les résultats obtenus dans le dénombrement des germes témoins de contamination fécale on peut dire que la présence de (*Moraxella lacunata* et *Escherichia coli*) au niveau de la première station est due à une contamination externe des milieux de culture.

1.3. Levures et champignon :

L'aspect microscopique et macroscopique nous aide à différencier entre les levures et les champignons isolés dans le milieu Sabouraud.

Tab.15. Aspect macroscopique et microscopique des champignons.

Aspect macroscopique,	Aspect microscopique après coloration simple,
Colonie blanche, ronde, 2mm de diamètre,	Des langues filaments pour les champignons.



Fig.23. observation microscopique d'un champignon après coloration simple.

2. Résultats physico-chimiques

2.1. La couleur apparente:

Pour les deux stations (S1) et (S2) l'eau a été claire durant la période d'étude. Concernant la troisième station l'eau a été claire juste pendant le mois de juillet. Cette couleur a été altérée pendant le mois d'avril et de mai soit pendant les crues.

2.2. La température:

La température est une caractéristique importante de l'eau, qui a une influence sur les propriétés chimiques ainsi que sur l'activité microbiologique.

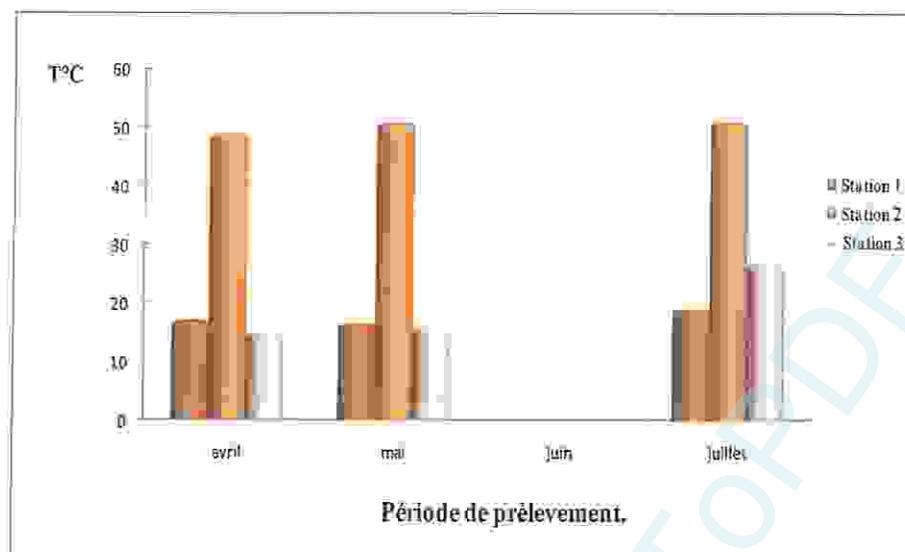


Fig.24. Variations spatio-temporelles de la température.

D'après le graphique, nous remarquons que la température de l'eau des trois stations augmente quand on s'approche à la période estivale. Cette augmentation est probablement due aux conditions climatiques. L'écart thermique entre ces trois stations de prélèvement est dû principalement à la nature de chacune de celle-ci.

2.3. Le pH:

Le pH est considéré comme étant l'un des paramètres les plus importants de la qualité des eaux. Il doit être étroitement surveillé au cours de la période de prélèvement. (Brisou et Denis, 1980).

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés. Il donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité d'une eau. Du point de vue sanitaire, un pH élevé peut provoquer un problème de corrosion alors qu'un pH faible peut modifier le goût de l'eau. (Aouissi, 2009)

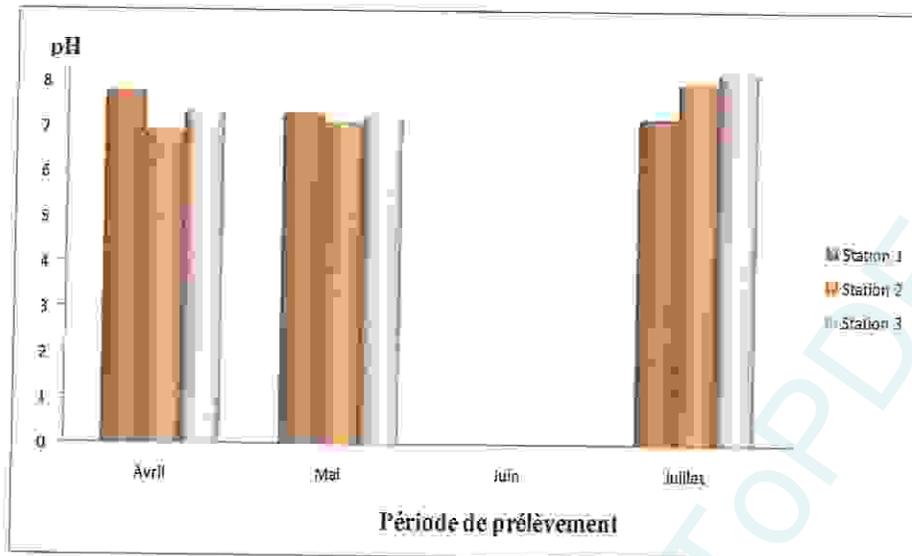


Fig. 25. Variations spatio-temporelles du pH.

D'après le graphique, Le pH de l'eau des deux premières stations de prélèvement est plus au moins neutre. Il oscille entre 6.93 et 7.99.

Nous observons qu'en moyenne, le pH de la station (S3) est élevé comparé à celui des deux autres stations (S1 et S2). Ceci est dû au rejet des eaux de baignade de la station (S2).

2.4. La conductivité:

Pour les eaux de surface, la minéralisation et la température de l'eau ont une influence sur la conductivité. Ainsi des modifications importantes de la conductivité peuvent s'observer rapidement au cours de la journée. (Boukertouta *et al*, 2009).

La conductivité électrique présente des variations importantes s'observant essentiellement durant le mois d'avril. (Fig.26).

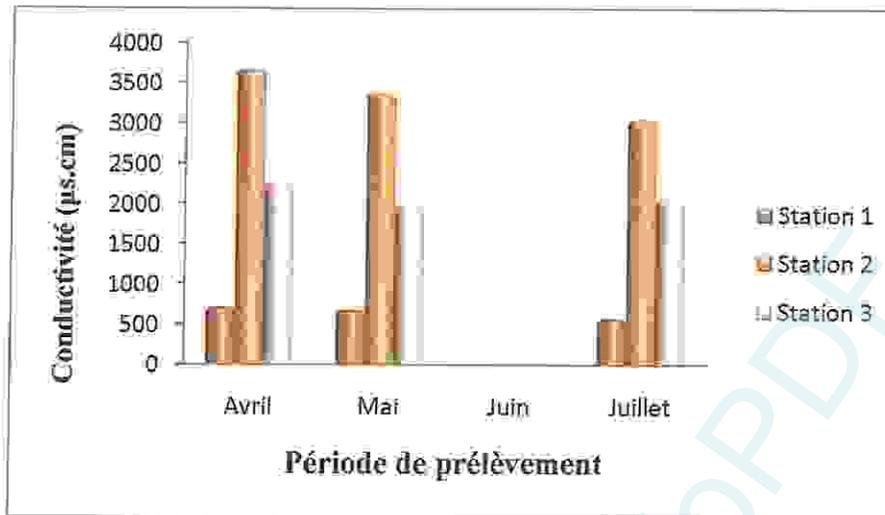


Fig.26. Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique.

La valeur la plus faible est $581 \mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée au niveau de la station (S1) pendant le mois de juillet et elle répond à la norme de potabilité décrite par l'OMS, la plus élevée est de $3660 \mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée au niveau de la station (S2) pendant le mois d'avril.

D'après la grille de la qualité des eaux de rivières (Monod, 1989) (Tab.16). L'eau de la station (S3) est médiocre.

Tab.16. Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique. (Monod, 1989).

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

2.5 La salinité:

Les résultats de la salinité sont représentés dans le graphique ci-dessous:

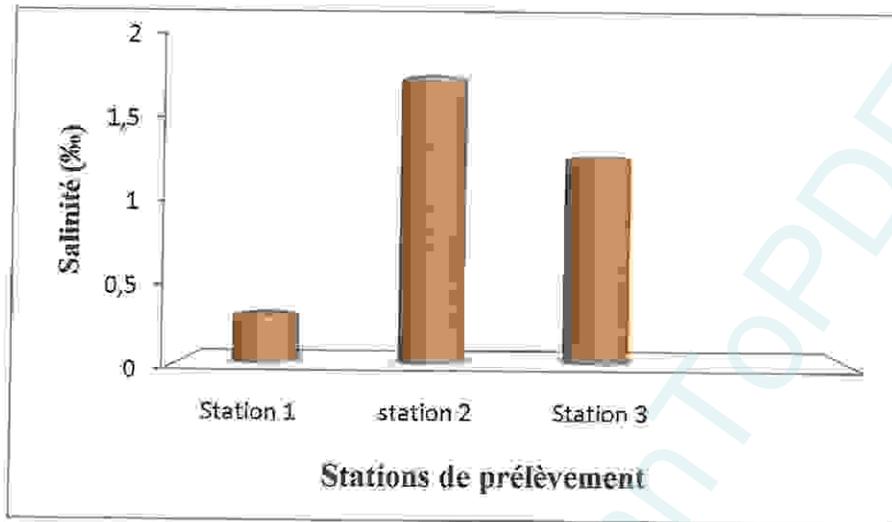


Fig.27. Valeurs de la salinité de l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

D'après les résultats obtenus, on constate que l'eau d'Ain Silène (S1) est une eau purement douce. Les deux autres stations présentent une salinité élevée.

2.6. Le chlore:

Après dissolution de la pastille DPD, aucun virage de couleur n'a été observé dans les tubes contenant les échantillons à analyser et ces résultats nous indiquent que la concentration en chlore est nulle au niveau des trois stations de prélèvement pendant toute la période de l'étude.

L'absence de chlore dans la station (S1) et dans la station (S2) est due principalement à la nature de ces stations car elles sont considérées comme des eaux naturelles (souterraines).

L'eau de la troisième station ne contient pas de chlore car tout simplement les eaux de baignades de la station (S2) sont rejetées dans ce cours d'eau sans traitement.

2.7. La minéralisation de l'eau (TDS):

La minéralisation globale nous renseigne sur la potabilité de l'eau. Les valeurs mesurées sont présentées dans la figure 28.

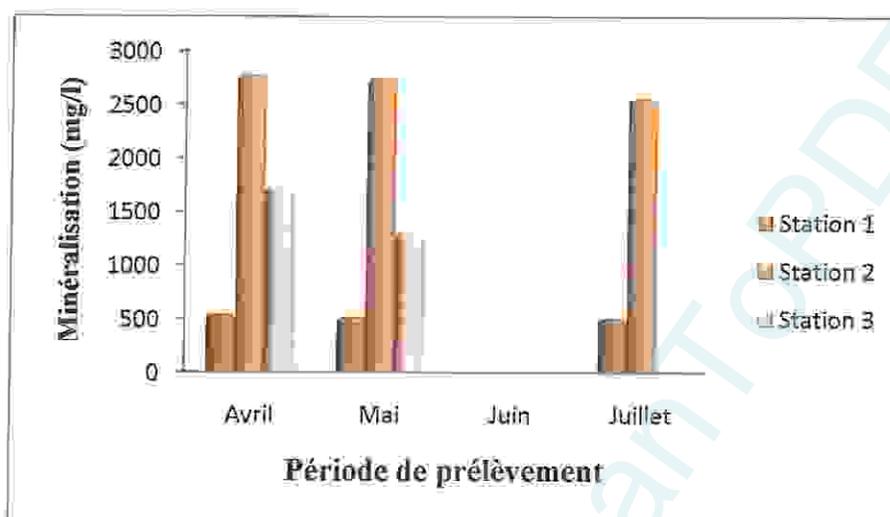


Fig.28. Variations spatio-temporelles de la minéralisation

Selon les résultats obtenus, on observe que les stations (S1) et (S3) présentent une minéralisation inférieure à 2000 mg/l (norme de l'OMS). Concernant la deuxième station, on a enregistré des valeurs élevées surtout pendant le mois d'avril.

2.8. La dureté (TH):

Selon l'origine de l'eau, la dureté peut être essentiellement calcique ou magnésienne, voire les deux à la fois. En fonction de la valeur de la dureté (TH), on peut déterminer le caractère de dureté de l'eau (Tab.16) :

Tab.17. Appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la dureté. (Rejsek, 2002)

Valeurs de la dureté	Qualité de l'eau
-Entre 0 et 10 °F	-Eau très douce
-Entre 10 et 20 °F	-Eau moyennement dure
-Entre 20 et 30 °F	-Eau dure
-Supérieure à 30°F	-Eau très dure.

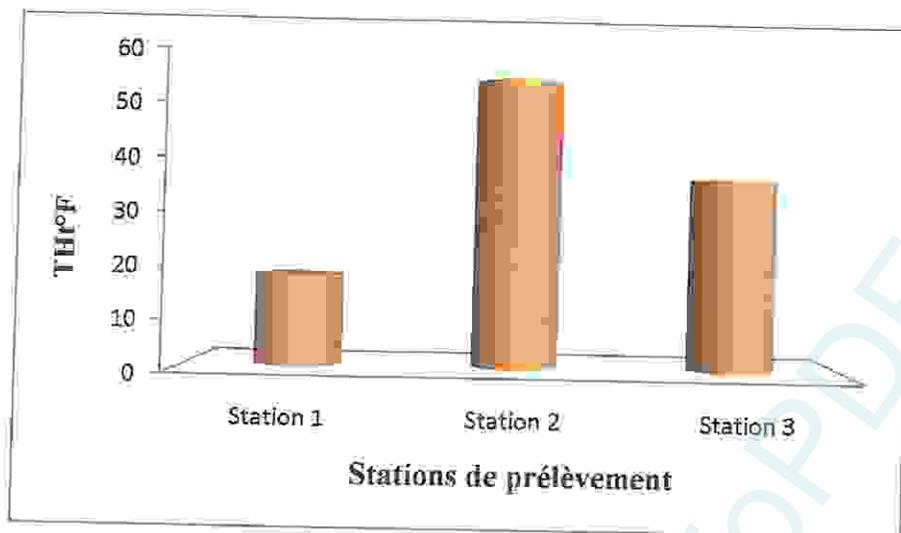


Fig.29. Variations la dureté de l'eau dans les différentes stations (Mai2011).

Les résultats obtenus nous montrent que les eaux des stations étudiées présentent des teneurs qui variant entre 18°F (S1) et 57°F (S3), et cette variation est due soit à la lithologie du terrain ou bien à des facteurs externes telle que la pollution (cas de la troisième station).

2.9. La résistivité:

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le graphique ci-dessous:

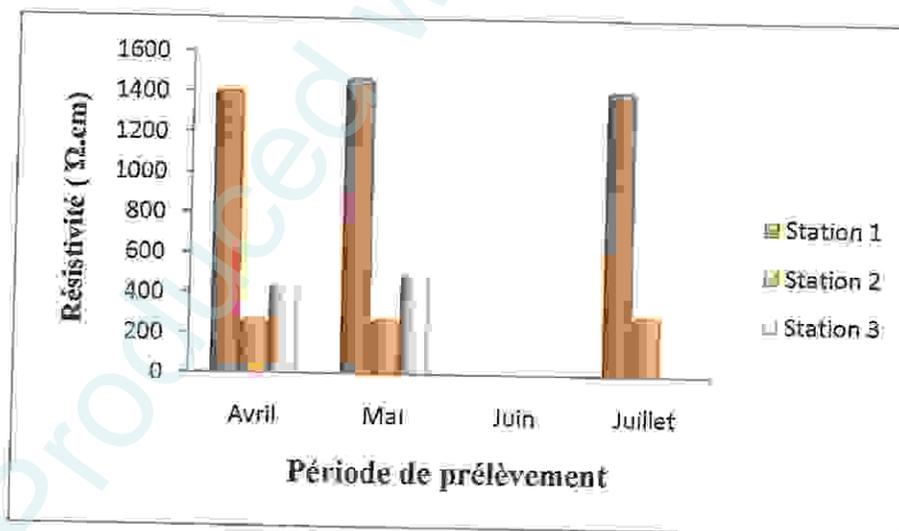


Fig.30. Variations spatio-temporelles de la résistivité.

Inversement à la conductivité les valeurs les plus élevés de la résistivité sont enregistrées au niveau de la première station (S1). Cette forte résistivité nous conduit à constater que l'eau de la station (S1) est une eau pure.

2.10. Titre alcalimétrique (TA-TAC):

Si le pH est compris entre 4.5 et 8.3 (cas des eaux naturelles) les seuls éléments alcalins présents en quantité mesurable par titrage sont les bicarbonates (HCO_3^-). Le TAC (titre alcalimétrique complet) traduit le caractère basique d'une eau $\text{HCO}^- + \text{CO}_2^- + \text{OH}^-$ (Fig.31).

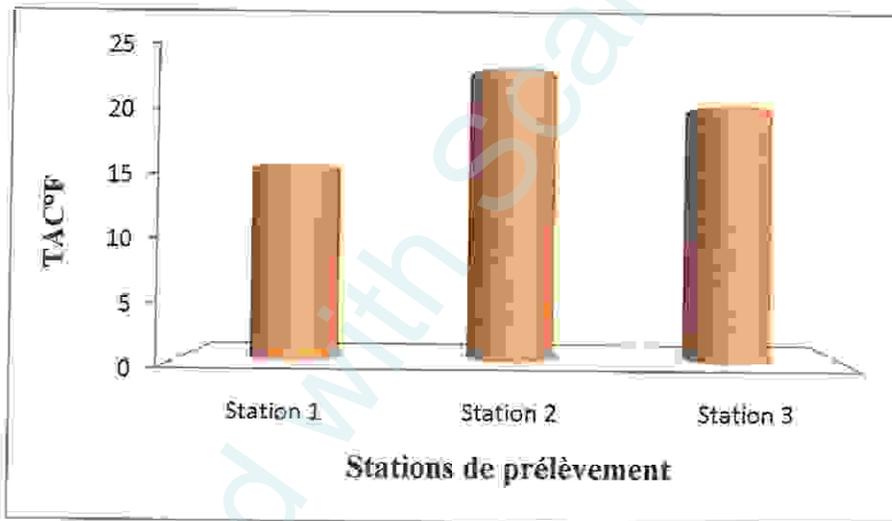


Fig.31. Variation de TAC de l'eau dans les différentes stations (Mai 2011).

D'après le graphique la valeur la plus faible 16°F a été mesurée au niveau de la station (S1), la plus élevée 24°F au niveau de la station (S2); mais en général toutes ces valeurs sont inférieures par rapport à la norme 30°F décrite par l'OMS pour les eaux destinées à la consommation humaine.

2.11. Les chlorures (Cl):

Les chlorures existent dans toutes les eaux à des concentrations très variables (Bremond et Vuichard, 1973).

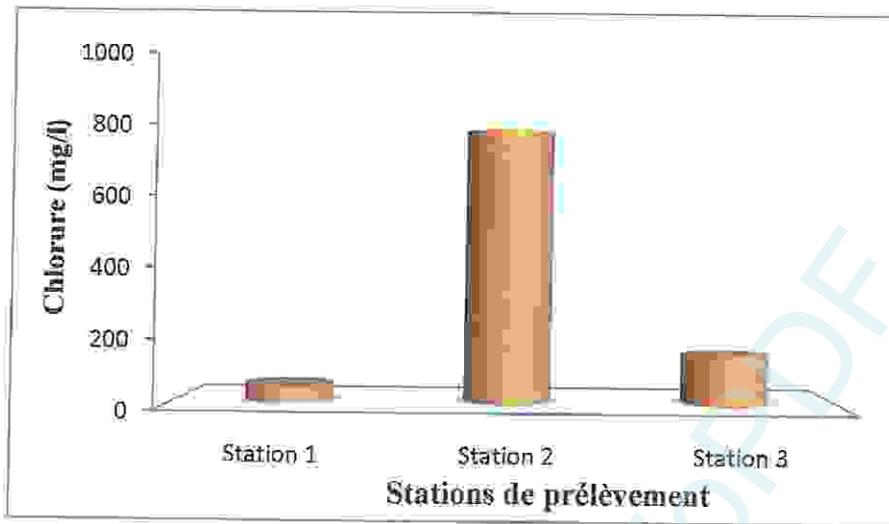


Fig. 32. Teneurs en chlorures en mg/l de l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

D'après ces résultats, on constate que les teneurs en chlorures varient d'une station à une autre. Les teneurs calculées au niveau de la station (S1) et la station (S3) sont inférieures à la norme de potabilité 200mg/l (OMS, 2002), ainsi que 809 mg/l ont été enregistré au niveau de la station (S2) qui est en réalité une source thermique.

2.12. Le calcium (Ca^{++}):

Le calcium est un métal alcalinoterreux extrêmement répandu dans la nature; dans les roches calcaires sous forme de carbonate; sa teneur dans les eaux superficielles varie essentiellement suivant la nature des terrains traversés (Fig.33). (Boukertouta *et al*, 2009).

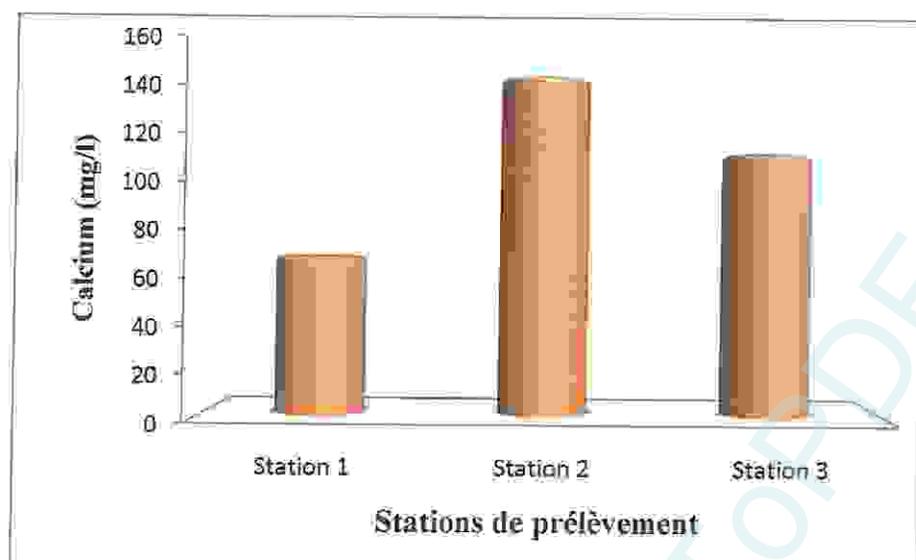


Fig.33. Variations des teneurs en Calcium dans l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

Le graphique nous montre que la concentration en calcium dans la station (S1) est inférieure à la norme de potabilité (100mg/l) pour les eaux destinées à la consommation humaine (OMS, 1994) et elle dépasse cette norme dans les deux autres stations.

2.13. Le magnésium (Mg^{++}) :

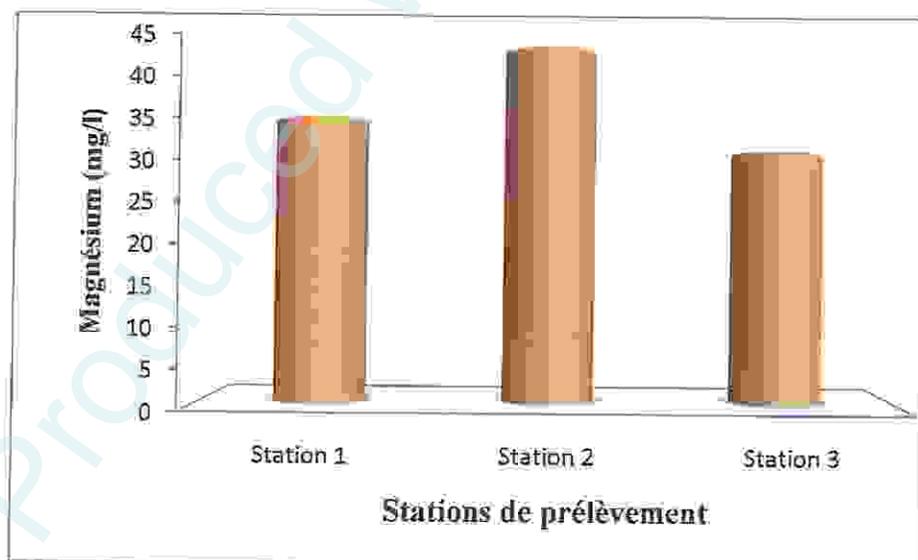


Fig.34. Variations des teneurs en Magnésium dans l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

D'après les résultats des analyses de magnésium, nous remarquons que tous les échantillons ont des teneurs inférieures à 50 mg/l qui est la teneur principale admissible décrite par l'OMS en 2002. Les cations Mg^{2+} ont la même origine et la même provenance que celles du Ca^{2+} (dissolution des formations carbonatées).

2.14. Le sulfate (SO_4):

La concentration maximale fixée par l'OMS en 2002 est de 250 mg/L. De fortes concentrations en sulfates provoquent des troubles gastro-intestinaux et peuvent donner un goût désagréable à l'eau. (Aouissi, 2009).

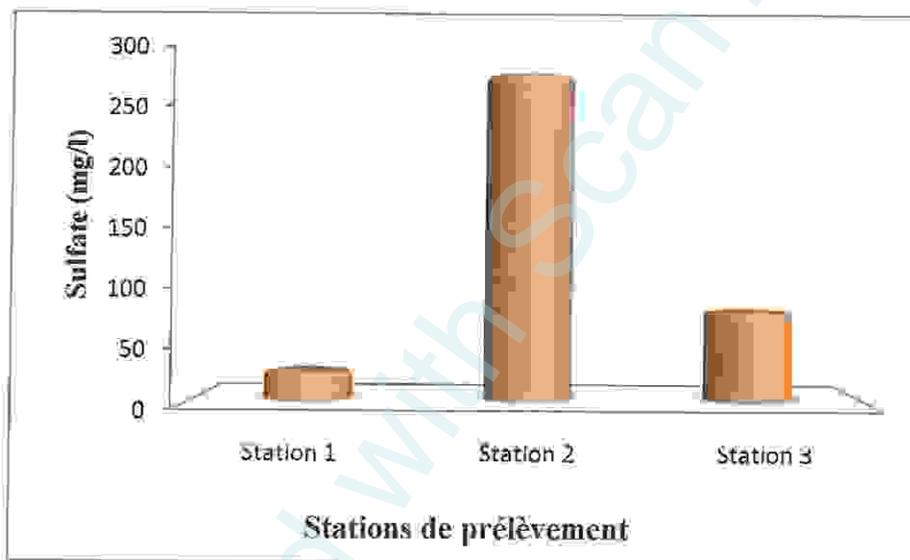


Fig.35. Variations des teneurs en sulfate de l'eau de Hammam Essalihine (Mai 2011).

Nous observons que les résultats sont extrêmement élevés au niveau de la station (S2) par rapport aux deux autres stations où on a enregistré les valeurs les plus faibles dans les stations (S1) et (S3), mais en général les deux teneurs restent inférieures à la norme fixée par l'OMS.

2.15. Les bicarbonates (HCO_3^-):

Les concentrations en bicarbonates dans les eaux naturelles dépendent essentiellement de la température ambiante, le pH de l'eau, de la concentration en gaz carbonique dissous et de la lithologie. (Sayad, 2008).

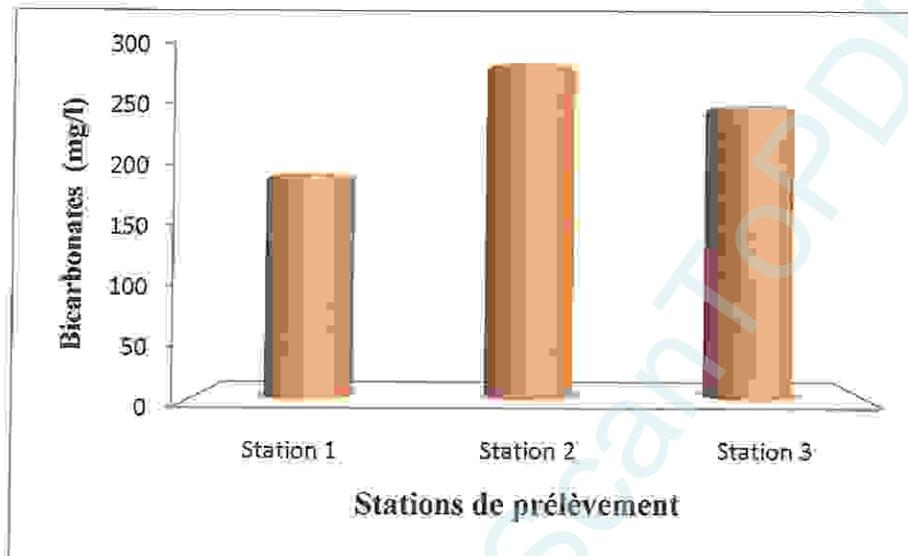


Fig.36. Variations des teneurs en bicarbonate de l'eau de Hammam Essaliniine (Mai 2011).

D'après le graphe, on observe que la valeur extrême est enregistrée dans la deuxième station est ceci peut être dû à la nature de cette dernière (source thermique).

2.16. Résidus secs:

Le résidu sec est la quantité de la matière solide dans l'eau, autrement dit la somme des matières en solution et en suspension. (Merzoug, 2009).

Les résultats des résidus secs au niveau des trois stations sont récapitulés dans la figure ci dessous :

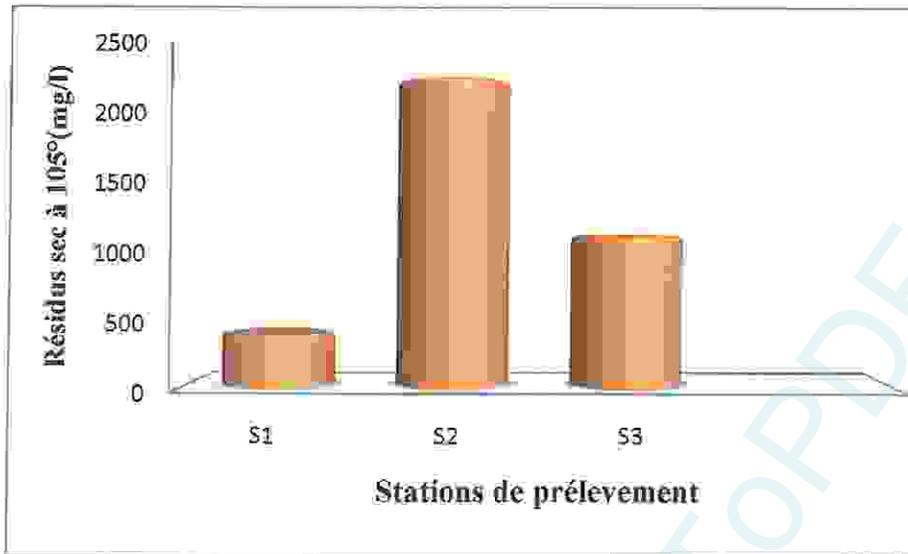


Fig.37. Valeurs de résidus secs à 105° pour les différentes stations (mai 2011).

La valeur maximale du résidu sec est de 2290 mg/l enregistrée dans la deuxième station de prélèvement et la plus faible valeur (390 mg/l) est observée au niveau de la station (S1).

Conclusion

Produced with [Scantopdf](http://www.scantopdf.eu)

Conclusion

Cette étude a été menée dans le but de déterminer la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de Hammam Essalihine (wilaya de Khenchela, Est de l'Algérie).

Hammam Essalihine est un site touristique et thérapeutique par excellence. Il est situé dans la commune d'El Hamma à 7 Km du chef lieu de la wilaya de Khenchela dans une région forestière au climat particulier, la date de son exploitation remonte à l'époque romaine.

La région de l'étude obéit à un climat continental, chaud et sec en été, froid et pluvieux en hiver. Les températures moyennes oscillent généralement entre 6°C durant le mois janvier et 27°C durant le mois de juillet. Les précipitations moyennes varient entre 400 et 600 mm/an, tandis que la moyenne au sud de la wilaya est de 200 mm/an. Les régions montagneuses sont souvent couvertes de neige en hiver.

Du point de vue microbiologique, les résultats que nous avons obtenus à travers les dénombrements réalisés pendant la période de l'étude ont permis de confirmer la bonne qualité de l'eau de Ain Silène. Pour l'eau de la source thermique Hammam Essalihine, le nombre des germes témoins de contamination fécale est très faible (ou presque nulle) ce qui nous a conduit à dire que cette eau est aussi de bonne qualité microbiologique, les visiteurs peuvent l'utiliser sans aucun risque. Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de la troisième station nous exposent une contamination fécale, signalées par les fortes concentrations en coliformes fécaux et streptocoques fécaux. La cause de cette pollution est principalement due aux rejets des eaux de baignade de la station de Hammam Essalihine.

Du point de vue physico-chimique, une différence notable des taux et des teneurs mesurées est observée dans chaque paramètre étudié au niveau des trois stations d'étude. Cette variation est due soit à la lithologie du terrain ou bien à des facteurs externes tels que la pollution. La plus part des teneurs mesurées dans l'eau de Ain Silène répondent aux normes de salubrité. Les résultats des dosages effectués sur l'eau de Hammam Essalihine ont révélé une richesse en éléments minéraux tels que les bicarbonates, les sulfates, le calcium et le magnésium qui leurs confèrent des propriétés thérapeutiques. Ces analyses nous ont aussi montrée que l'eau de la troisième station est très polluée et ces résultats corroborent d'une manière générale avec une intensification des rejets des eaux usées domestiques.

Il est cependant important de signaler que les résultats microbiologiques et physico-chimiques bien qu'essentiels, ne représentent que des données ponctuelles autrement dit caractérisent une période bien déterminée et un lieu bien précis.

En recommandation, et pour éviter tout type de pollution nous proposons les solutions suivantes :

- ✓ Réaliser des suivis réguliers de la qualité de l'eau, en procédant aux contrôles des différents paramètres physicochimiques et microbiologiques, pour intervenir en cas d'une anomalie.
- ✓ Pour l'agriculture, il est conseillé de ne plus utiliser l'eau de l'oued pour l'irrigation
- ✓ L'épuration des eaux usées avant leur évacuation dans les oueds s'avère une nécessité urgente. Il est donc indispensable d'édifier une station de traitement biologique et physicochimique des eaux rejetées.

Résumé

L'analyse physico-chimique et microbiologique de l'eau de trois stations de prélèvement: Ain Silène, Hammam Essalihine et Oued El Hammam (wilaya de Khenchela, Est de l'Algérie) a révélé que l'eau de Ain Silène est douce et de bonne qualité microbiologique et répond aux normes des eaux destinées à la consommation humaine. L'eau de Hammam Essalihine est d'une bonne qualité microbiologique et elle est aussi très riche en éléments minéraux.

Les dosages effectués et les dénombrements réalisés sur Oued El Hammam ont révélé une pollution d'origine fécale. Cette pollution affecte l'environnement et constitue une menace majeure sur les habitants avoisinants.

Mots clés: Analyse microbiologique, Analyse physico-chimique, pollution, Hammam Essalihine, Khenchela.

Produced with ScanTopDF

Abstract

The physico chemical analysis and microbiological water has tree stations: Ain Silène, Hammam Essalihine and Oued El Hammam (district of Khenchela, Est of Algeria) has revealed that water of Ain Silène is soft and good microbiological quality and fits the norms of the designated waters for human consumption. The water of Hammam Essalihine is of good biological quality also it is wealthy in mineral elements.

Assays performed on water of Oued El Hammam have revealed a contamination of fecal origin. This contamination affects the environment and constitutes a major threat to nearby residents.

Key words:

Microbiological analysis, physico-chemical analysis pollution, Hammam Essalihine, Khenchela.

Produced with ScanTopDF

الملخص

إن التحليل الفيزيوكيميائي و الميكروبيولوجي للماء لثلاث مواقع بولاية خنشلة: عين السيلان , حمام الصالحين و واد الحمام كشف أن ماء الموقع الأول عذب و يتناسب مع معايير المياه الصالحة للشرب و فيما يخص ماء الموقع الثاني فهو الآخر ذو نوعية ميكروبيولوجية جيدة و غني بالعناصر المعدنية .

نتائج التحاليل تبين لنا التلوث البرازي لمياه واد الحمام، و هذا التلوث يؤثر على البيئة و يشكل خطرا كبيرا على صحة السكان.

الكلمات المفتاحية: التحليل الفيزيوكيميائي ، التحليل الميكروبيولوجي ، التلوث ، حمام الصالحين ، خنشلة.



Références bibliographiques

Produced with ScanTOPDF

- Agrigon A. (2000).** *Annuaire de la qualité des eaux et des sédiments.* DUNOD, 206p.
- Anonyme. (2007).** *Khenchela le patrimoine passé et présent : Direction du tourisme de la wilaya de Khenchela.* 25p.
- Anonyme. (2007).** *Khenchela monographie: Direction du tourisme de la wilaya de Khenchela.* 25p.
- Anonyme. (2010).** *Présentation de la conservation des forêts de la wilaya de Khenchela.* Direction générale des forêts, 9p.
- Aouissi A., Fouzari A. et Meziane N. (2007).** *Qualité bactériologique de l'eau de Oued Seybouse.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 57p.
- Aouissi A. (2009).** *Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 120 p.
- Aminot A., Chaussepied M. (1983).** *Manuel des analyses chimiques en milieu marin.* CNEXO. 395p.
- Bremont R. et Vuichard R. (1973).** *Les paramètres de la qualité des eaux.* La documentation française, Paris. 173p.
- Bouchaala L. (2009).** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zénati (Guelma).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 131p.
- Boukertouta S., Sellaoui C. et Tahraoui C. (2009).** *Contribution à l'étude des paramètres physicochimiques et l'identification fongique à partir des eaux du lac Oubetra.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 79p.
- Boukrouma N. (2008).** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel: cas de la retenue collinaire d'Ain Fafroune (W. d'Oum El-Bouaghi).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p.
- Brisou J F et Denis E. (1978).** *Hygiène de l'environnement maritime.* Masson. 248p.

- Chaouch R. (2007).** *Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba: aspect physico-chimique et bactériologique des eaux.* Mémoire de Magister. Université Badji-Mokhtar Annaba. 105p.
- Carbonnelle D et Kouyoumdjian S. (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf.* 251 p.
- Délaras C. (2003).** *Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses.* Tec et Doc. 156 p.
- Eberlint. (1997).** *Les infections microbiennes.* Masson. 128p.
- Figarelle J., Leyral G. et Terret M. (2001).** *Microbiologie générale et appliquée.* Jacques Lanore. 285p.
- Gaujous D. (1995).** *La pollution des milieux aquatiques.* Lavoisier Techniques et documentation .Paris. 2 17p.
- Gauthier M., Pietri C. (1989).** Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Masson. 447p.
- Guiraud J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. *Dunod.* France, 652p.
- Haftari S. et Laasami M. (2009).** *Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches bactériennes thermophiles isolées de Hammam Essalihine de Khenchela.* Mémoire d'ingénieur. Centre universitaire de Khenchela. 82p.
- Hakmi A. (2002).** *Traitement des eaux " analyse de l'eau de source bousfer ORAN,* Mémoire de magister. Université des sciences et de la technologie Oran. 71p.
- Joffin J J-N et Leyrol G. (2001).** Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3^{ème} édition. *CRDP d'Aquitaine.* 320p.
- Khaled A. et Mebarki K. (2009).** *Qualité physico-chimique et microbiologique de deux écosystèmes aquatiques du Nord-Est de l'Algérie: cas du Lac des Oiseaux (El Tarf) et de Garet Hadj Taher (Skikda) et isolement de Bdellovibrio bacteriovorus.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 53p.

- Lebres E. (2002).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux, des boissons et des produits de la mer. *Institut Pasteur d'Algérie*. 34p.
- Lebres E. (2006).** Manuel des travaux pratique : analyse des eaux, *Institut Pasteur d'Algérie*. 60p.
- Lebres E. et Mouffok F. (2008).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. *Institut Pasteur d'Algérie*. 53p.
- Lightfoot N. F. (2002).** Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. *Directives pour l'assurance qualité*. 387 p.
- Leclerc. (1996).** *Microbiologie générale*. Doin. 368p.
- Merzoug S. (2009).** *Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, wilaya de Skikda)*. Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 109p.
- Guezlane-Tebibel N., Kahlouche B., Athmani S. et Guemouri. (2010).** Microbiologie travaux pratiques deuxième année TCB et LMD; Office des publications universitaires. 133 p.
- Pechère J. C., Acar J., Grenier B. et Nihoul E. (1982).** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4^{ème} édition. *Edisem ST-Hyacinthe*. Québec. 509p.
- Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., Marchal N., Balbastre C. et Person J-M. (1987).** Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. *Doin*. 372p.
- Rejsek F. (2002).** Analyse des eaux. *Tec et Doc*. 358p.
- Ronaiguia M. et Cheriet M. (2010).** *Qualité microbiologique des eaux de Oued Messida(wilaya d'El-Tarf)*. Mémoire de Master. Université 8 mai 1945, Guelma. 75p.
- Rodier J. (1996).** Analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires. 8^{ème} édition, *Dunod*, Paris 1130p.
- Rodier J. (2009).** L'Analyse de l'eau. 9^{ème} édition, *Dunod*, Paris. 1511p.

Webographie

1. http://fr.wikipedia.org/wiki/Hammam_Essalihine (08/04/2011).
2. www.googleearth.com (14/04/2011).
3. <http://www.lhl.fr/cms/nos...coliformes-totaux.html> (18/05/2011).
4. www.arnobio2.com/techniques/20-ne.pdf (22/05/2011).
5. http://www.memoireonline.com/.../m_Etude-de-la-qualite-de-leau-de-robinet-et-de-celle-de-la-nappe-phreatique-dans-les-di0.html (19/05/2011).
6. <http://www.memoireonline.com/08/09/2463/Contribution-letude-des-parametres-physico-chimiques-et-bacteriologiques-de-lembouchure-de-l.html> (04/04/2011)
7. http://www.memoireonline.com/04/10/3273/m_Contribution-une-gestion-des-effluents-liquides-hospitaliers2.html (02/06/2011)
8. <http://mail.nkmu.edu.tw/~p62365/tech/api20NE-1.jpg> (28/05/2011).

Produced with Scantopdf

Annexes

Produced with Scantopdf

Composition des milieux de culture et des réactifs

1. Milieux de culture :

✓ Milieux liquides :

◆ **Bouillon au sélénite** : Le bouillon sélénite est utilisé pour l'enrichissement sélectif des *Salmonella* dans les produits alimentaires. Ce bouillon contient :

- Des tryptones : source azoté.
- Du lactose : source de carbone.
- Du sélénite : pour inhiber la croissance des bactéries coliformes et des entérocoques tout en sélectionnant *Salmonella* et *Proteus*.
- Du phosphate disodique : pour contribuer à maintenir le pH de 7 et à réduire la toxicité du sélénite pour augmenter la capacité de récupération du milieu.

pH final $7,2 \pm 0,2$ à 25°C

◆ **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 g/l.
Chlorure de sodium	5 g/l.
pH final	7.2.

➤ **Préparation** :

Mettre 15 g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 7.2. Répartir puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

✓ Milieux solides :

◆ **Milieu Slanetz et Bartley** :

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée)

Tryptose	20,0 g
Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
Glucose.....	2,0 g

Phosphate dipotassique.....	4,0 g
Azide de s.....	0,4 g
Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium	0,1 g
Agar agar bactériologi.....	10,0 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.	

♦ **Gélose lactosée au TTC et Tergitol** : Milieu de recherche et de dénombrement des coliformes. Il est surtout utilisé pour la colimétrie des eaux par la méthode de filtration. TTC = chlorure 2-3-5 triphényl-tétrazolium.

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone.....	10 g/l
Extrait de viande.....	5 g/l
Extrait de levure.....	6 g/l
Extrait de levure.....	20 g/l
Tergitol	7 0,01 g/l
TTC.....	0,025 g/l
Bleu de bromothymol.....	0,05 g/l
Agar.....	13 g/l
pH.....	7,2

♦ **Milieu de Chapman** : le milieu de Chapman mannité est un milieu sélectif pour la culture des staphylocoques.

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique	10g/l.
Extrait de viande de bœuf.....	1 g/l.
Chlorure de sodium.....	75 g/l.
Mannitol.....	10g/l.
Rouge de phénol.....	0.025 g/l.
Agar	15g/l.
pH.....	7.5 (environ)

➤ **Préparation** :

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

◆ **Milieu de Mac Conkey :**

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

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique.....	20 g/l.
Sels biliaires.....	1,5 g/l.
Chlorure de sodium.....	5 g/l.
Lactose.....	10g/l.
Rouge neutre.....	0.03 g/l.
Cristal violet.....	0,001 g/l.
Agar.....	15 g/l.
pH.....	7.1 (environ).

➤ **Préparation :**

Verser 51,5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes. Liquefier au bain-marie bouillant et coller en boîte de pétri. Après solidification, laisser sécher à l'étuve à 37°C (couverture entrouverte).

◆ **Milieu de Hektoen :**

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

Protéase peptone.....	12 g/l
Extrait de levure.....	3 g/l
Saccharose.....	12 g/l
Lactose.....	2 g/l
Solicine.....	2 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Thio sulfate de sodium.....	5 g/l
Citrate ferrique ammoniacal.....	5g/l
Sels biliaires.....	9g/l
Bleu de bromothynol.....	0.064g/l
Fuchsine acide.....	0.04 g/l

➤ **Préparation :**

Dissoudre 75 g/l, ne pas autoclave. Après refroidissement aux environs de 50°C, 15 mg/l Novobiocine peuvent être mélangés sous forme de solution aqueuse filtrée stérilement. Couler en boîtes pH=7.7±0.1.

◆ **Viande foie (VF):** préparer en deux étapes :

➤ **Milieu de base :**

Basé viande foie.....	30g
Glucose.....	2g
Amidon.....	2g
Agar.....	1g
Eau distillée.....	1000 ml

➤ **Au moment de l'emploi :** Ajouter à 20 ml de base fondé

Sulfate de sodium à 5%.....	0.5 ml
Alun de fer commonacol.....	4 gouttes.

◆ **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.....	5g/l
Extrait de viande.....	1g/l
Extrait de levure.....	2g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Agar.....	15g
pH.....	7.4 (environ)

➤ **Préparation :**

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

◆ **TGEA (gélose numération : gélostryptone-glucose-Extrait de levure) :**

Tryptone.....	5g
Glucose.....	1g
Extrait de levure.....	2.5 g
Gélose.....	15g

Eau distillée.....	1000ml
pH	7

- ◆ **Milieu *Salmonella- Shigella* (SS)** : Isolement des *Salmonella* et *Shigella* mais aussi des *Pseudomonas* ou des *Yersinia enterocolitica*.

➤ **Formule :**

Peptone	5g.
Extrait de viande.....	5g.
Lactase	10g.
Citrate de sodium.....	10g.
Citrate de fer III.....	1g.
Sels biliaires.....	8.5g.
Vert brillant.....	3.3g.
Rouge neutre.....	25mg.
Thiosulfate de sodium.....	8.5g.
Agar	12g.
pH.....	7.3.

➤ **Préparation**

63g de poudre dissouté par ébullition. Se reporter à la notice en raison de variation de la composition (formule moins inhibitrice des *Shigella* à 5.5g des sels biliaires par exemple). Ne pas autoclaver.

◆ **Milieu Gélose Sabouraud :**

➤ **Formule :**

Peptone.....	10 g
Glucose massé.....	20 g
Agar-agar.....	15 g
Eau distillée (qsp).....	1 000 ml
vitamines et facteurs de croissance	

➤ **Caractéristiques :**

Naturellement acide, il inhibe la croissance de nombreuses bactéries. Additionné de chloramphénicol à 0,5 g/l ou de gentamicine à 0,04 g/l, il inhibe une grande partie des bactéries permettant la sélection des levures et moisissures. L'addition d'actidione (cycloheximide) à la concentration de 0,5 g/l permet la sélection de moisissures et levures pathogènes. L'addition de chlorure de triphényl 2-3-5-tétrazolium (TTC) (à 0,1 g/l) permet la différenciation des levures du genre *Candida*. En effet, le TTC peut être réduit par certaines levures en produits colorés.

2. Réactifs :

◆ **Réactif TDA :** pour la recherche de tryptophane désaminase :

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

◆ **Réactif IND :** pour la recherche de l'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....	5.0g
Alcool isoamylique.....	75.0 ml
HCL	3%

◆ **Réactif de Voges Proskauer (VP) :** pour la recherche de l'acétone :

❖ **VP 1 :**

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

❖ **VP 2 :**

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

◆ **Réactif Kowax :** pour la recherche de l'indole.

Paradiméthylamino-benzaldéhyde	5g
Alcoolamylique.....	75ml
Hcl pur25ml

◆ **Réactif de Griess pour les nitrites**

❖ **NIT1**

Acide sulfanilique	0.8g.
Acide acétique 5 N	100 ml

❖ **NIT2**

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

➤ **Les Colorants :**

❖ **Lugol :** Elle est utilisée sur la coloration de Gram pour fixer le colorant

Iode	1g.
Iodure de potassium	2g.
Eau distillée	3g.

❖ **Violet de gentiane :** Elle est utilisée pour colorer les bactéries.

violet de gentiane	1g.
Ethanol à 90%	1ml
phénol	2g.
Eau distillée	100ml.

❖ **Fushine**

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

➤ **Solutions:**

◆ **Solution de Noir d'Eriochrome:**

Noir d'Eriochrome	0.5 g
Ethanol	25 ml

◆ **Solution de Bleu d'Eriochrome :**

Bleu d'Eriochrome.....	100 mg
Eau distillée.....	100 ml
Chlorhydrate de d'hydroxy lamine.....	0.25 g

◆ **Solution de NaOH 1N :**

NaOH.....	4 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution de NaOH N/50 :**

NaOH.....	0.08 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution d'HCl 1N :**

HCl.....	8.3 ml
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution d'Acide Sulfurique N/50 :**

H ₂ SO ₄ ,	0.55 ml
Eau distillée.....	1000 ml

◆ **Solution de Methyl Orange :**

Methyl Orange.....	0.5 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution de Phénophtaléine à 0.5 % :**

Phénophtaléine.....	0.5 g
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution Stabilisante :**

Acide Chlorhydrique pur.....	15 ml
Ethanol.....	50 ml
Chlorure de Sodium.....	37.5 g
Glycérol.....	25 ml
Eau distillée.....	250 ml

◆ **Solution de Chlorure de Baryum :**

Chlorure de Baryum.....	30 g
Acide Chlorhydrique.....	1 ml
Eau distillée.....	100 ml

◆ **Solution mère de Sulfates :**

Na ₂ SO ₄	1,479 g
Eau distillée.....	1000 ml

Tab.1. Gamme d'étalonnage (sulfate)

Solution mère 1 g/l (ml)	0	1	2	3	4	5	6	7
Eau distillée (ml)	10	99	98	97	96	95	94	93
	0							
Solution Stabilisante (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5
Chlorure de Baryum (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
Agitation 1 mn								
[SO ₄ ²⁻] mg/l	0	10	20	30	40	50	60	70

Tab.2. Qualité physico-chimique de l'eau de boisson (directive de l'OMS, 2002).

Paramètres		Norme
Température	(°C)	25
Potentiel d'hydrogène (pH)		6.5-8.5
Mg ⁺⁺	(mg/l)	50
TH	(°F)	30
Cl ⁻	(mg/l)	200
So ₄ ⁻	(mg/l)	250
HCO ₃ ⁻	(mg/l)	-
TAC	(° F)	30
Conductivité	(µs/cm)	1000
TDS	(mg/l)	-
Résidus sec à 105° C	(mg/l)	1500

Tab.3. Lecture des résultats de l'API 20 E.

Test	Groupements active	Réactions/ Enzymes	Résultats	
ONPG	Ortho-nitro-phényle-B-D- Galactopyranoside	Beta-galactosidase	Positive	Négative
			incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine désahydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
CIT	Sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	Bleu-ver/orange
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production de H ₂ S	incolore	Noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Marron
IND	Tryptophane	Production d'indole	incolore	Rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+ VP2	
			Incolore	Rose/rouge
GEL	Gélatine emprisonnant de charbon	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/vert jaune
MAN	Mannitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Sucrose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
NO ₃ -NO ₂	GLU tube	Production de NO ₂ réduction N ₂ gaz	NIT 1+NIT 2, 2-3 min	
			Jaune	Rouge

Tab.4. Lecture des résultats de l'API 20 NE.

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