

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

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



## MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister en  
**BIOLOGIE-ECOLOGIE**

**Option :**

**Biodiversité et conservation des Zones humides**

**Thème**

**MICROBIOLOGIE DE L'EAU D'UNE ZONE HUMIDE LOTIQUE EXOREIQUE  
CAS D'OUED MESSIDA  
(OUM TEBOUL – EL-TARF-)**

Présente par : **ZERAOULA Ali**

**Membres de jury :**

<b>Président :</b>	<b>BENOUARETH D.E. Professeur</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>Encadreur:</b>	<b>HOUHAMDI Moussa Professeur</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>Examineur :</b>	<b>SAHEB Menouar M.C.A</b>	<b>Université d'O. E. B</b>
<b>Examineur :</b>	<b>OUAKID M<sup>ed</sup> Laid M.C.A</b>	<b>Université d'Annaba</b>

2011/2012



Je tiens en premier lieu à adresser mes sincères remerciements à HOUHAMDI Moussa, Directeur du Laboratoire Biologie, Eau et environnement, à l'université de Guelma, d'avoir accepté de m'accueillir au sein de son équipe. Ses conseils avisés et sa grande disponibilité m'ont aidée à aller au bout de ce travail.

Je remercie monsieur "BENOUARETH Djamel Eddine", Professeur à l'Université de Guelma, d'avoir accepté d'honorer cette soutenance comme président de jury. Qu'il me soit permis de lui exprimer ma plus haute considération.

J'adresse mes sincères remerciements aux Professeur OUAKID Mouhamed Laid et Docteur SAHEB Menouar qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'être examinateurs de ma thèse et d'avoir ainsi consacré de leur temps pour évaluer mes travaux.

J'ai une pensée toute particulière à cet instant pour l'ingénieur de laboratoire des analyses médicale de la polyclinique de sidi Amar. Elle a su me transmettre ses connaissances dans le domaine de la recherche et m'aider à développer mon esprit critique par son sens du perfectionnisme. Je le remercie chaleureusement pour sa grande disponibilité, ses encouragements et sa gentillesse, particulièrement en cette fin de thèse.

Je remercie également l'ensemble du personnel du Département de biologie (étudiants, enseignants, techniciens, secrétaires), et surtout le responsable de laboratoire Monsieur Bouchlaghem, et sans oublié les techniciennes de laboratoire "Hourria" et "Rania" que j'ai pu côtoyer durant cette années.

Un grand merci à toutes les personnes qui m'ont permis de mener à bien ce travail : ROUAIGIA Meriem, HEDDAD Soumia, KAFI Fadhila, AMOR ABDA Wahiba, BRAHMIA Hafid, GUERGUEB El Yamine, BOUNAB Chouayb et BARA Mousmil.

Je tiens à remercier spécialement Mr ZERAOULA A. El Hak qui m'a aidé dans la réalisation de ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent également à toute les personne de ma famille qui n'on pas hésiter de m'aider et m'encourager moralement et matériellement Jusqu'à la fin de cette ouvrage.

Enfin à tous ceux qui m'ont soutenu tout au long de ce travail directement ou indirectement, par leur amitié et leur sympathie, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

**Que ceux que j'ai oubliés m'en excusent. . .**

## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

RÉSUMÉ

ABSTRACT

الملخص

INTRODUCTION	p.1
Problématique	p.2
Les objectifs du travail	p.2
Présentation du travail	p.3
<b>CHAPITRE I : DESCRIPTION DE L' AIRE D' ETUDE</b>	
Généralité	p.4
1. Définition des zones humides	p.4
2. Les rôles des zones humides	p.5
2.1. Rôles hydrologique	p.5
2.2. Epuration naturelle	p.5
2.3. Biodiversité	p.5
2.3. Stabilisation et protection des sols	p.6
2.4. Les fonctions climatiques	p.6
2.5. Aspect paysager et touristique	p.6
3. Importance des zones humides en Algérie	p.6
4. Types des zones humides	p.7
4.1. Les eaux lenticques	p.7
4.2. Les eaux lotiques	p.8
4.2.1. Le biotope	p.8
4.2.2. La biocénose	p.8
4.2.2.1. Variabilité spatiale de la biocénose	p.9
4.2.2.2. Variabilité temporelle	p.9
Description de la région d' étude	p.10
1. La Numidie Algérienne	p.10
1.1. La Numidie orientale	p.10

1.2. La Numidie occidentale	p.10
2. Présentation de la région d'El-Kala	p.12
3. Situation géographique du PNEK	p.12
4. Situation administrative du PNEK	p.12
5. Présentation du site d'étude (Oued Messida)	p.14
6. Importance d'Oued Messida	p.14
7. principaux rejets au niveau d'Oued Messida	p.15
8. conditions générales de la région d'étude	p.16
8.1. Conditions physiques	p.16
8.1.1. Pédologie	p.16
8.1.2. Géologie	p.16
8.1.3. Hydrologie	p.17
8.2. Conditions climatiques	p.19
8.2.1. La température	p.19
8.2.2. Données pluviométriques	p.20
8.2.3. L'hygrométrie	p.20
8.2.4. Les vents	p.21
8.2.5. Expression synthétique du climat	p.21
8.2.5.1. Climagramme d'Emberger	p.21
8.2.5.2. Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gausсен	p.22
8.3. Conditions socio-économique	p.23
8.3.1. Population du bassin versant du lac Tonga	p.23
8.3.2. Les activités	p.24
8.3.2.1. L'agriculture	p.24
8.3.2.2. Elevage et pastoralisme	p.25
8.3.2.3. Tourisme	p.25
8.3.2.4. Industrie	p.26

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE**

1. Matériels utilisés durant la période d'étude	p.27
2. Présentation des points de prélèvement	p.27
3. Méthode d'analyse biologique des eaux	p.30
4. Technique de prélèvement de l'eau pour une analyse bactériologique	p.30
5. Transport et conservation des échantillons	p.30

6. Examen Bactériologique de l'eau	p.31
6.1. Détermination des germes revivifiables à 37°C	p.31
6.2. Recherche et dénombrement des germes témoignant d'une pollution fécale	p.34
6.2.1. La méthode du nombre le plus probable	p.34
6.2.2. Recherche et dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo tolérants avec identification d' <i>Escherichia coli</i>	p.35
6.2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	p.38
6.2.4. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	p.40
6.3. Recherche bactérien et isolement des germes pathogènes	p.42
6.3.1. Recherche bactériologique	p.42
6.3.1.1. Méthode d'ensemencement sur gélose	p.42
6.3.1.2. Isolement et purification des souches	p.42
6.3.2. Isolement des germes pathogènes	p.42
6.3.2.1. Recherche des <i>Salmonella</i>	p.42
6.3.2.2. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	p.45
6.3.2.3. Recherche des <i>Staphylocoques</i>	p.45
6.4. Recherche des levures et des champignons	p.47
7. Identification	p.48
7.1. Caractéristiques morphologiques	p.48
7.2. Examen microscopique après coloration de Gram	p.49
7.3. Identification biochimique	p.49
7.3.1. Galeries biochimiques classiques pour les coliformes	p.49
7.3.2. Galeries d'API 20 E	p.54
8. Les analyses statistiques	p.55

### **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Résultats des dénombrements des micro-organismes dans l'eau	p.56
1.1. Les germes totaux	p.56
1.2. Recherche et dénombrement des germes témoins d'une contamination fécale	p.58
1.2.1. Les coliformes totaux	p.58
1.2.2. Les coliformes fécaux	p.58
1.2.3. Les streptocoques fécaux	p.59

1.2.4. Les Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	p.60
1.2.5. La variation saisonnière du nombre des germes témoins d'une contamination fécale	p.60
1.2.6. Le rapport CF/SF	p.61
1.2.7. Indice de qualité microbiologique (IQM)	p.62
1.2.7.1. Calcul de l'indice de qualité microbiologique	p.62
2. Résultats de l'identification des souches	p.63
2.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	p.63
2.2. Résultats de l'identification biochimique	p.65
2.2.1. La famille des Enterobactériaceae	p.65
2.2.2. La famille des Micrococcaceae	p.68
2.2.2.1. Résultats du profil biochimique de Staphylococcus	p.68
2.2.3. La famille des Pseudomonadaceae	p.69
2.2.4. La famille des Vibrionaceae	p.70
2.2.5. La famille des Streptococcaceae	p.70
2.3. Identification des levures et des champignons	p.71
2.3.1. Isolement des levures	p.71
2.3.2. Isolement des champignons	p.71
3. Les analyses statistiques	p.73
3.1. Les analyses de la variance à un critère de classification (ANOVA-1-)	p.73
3.2. L'analyse factorielle de correspondance (AFC)	p.74
CONCLUSION	p.76
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	

Fig. 1.1 : Le complexe de zones humides de la Numidie orientale	p.11
Fig. 1.2 : Les zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja	p.11
Fig. 1.3 : Carte de localisation du Parc National d'El-Kala	p.13
Fig. 1.4 : Situation géographique d'Oued Messida	p.15
Fig. 1.5 : Carte géologique de la région d'étude	p.17
Fig. 1.6 : Carte du réseau hydrographique de la région d'étude	p.18
Fig. 1.7 : Graphe d'Emberger pour la région d'El Kala.	p.22
Fig. 1.8 : Diagramme pluvio-thermique de la région d'El Kala	p.23
Fig. 2.1 : Localisation des points de prélèvement	p.29
Fig. 2.2 : Recherche et dénombrement des germes totaux	p.33
Fig. 2.3 : recherche et dénombrement du coliforme thermo-tolérant	p.37
Fig. 2.4 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	p.39
Fig. 2.5 : Recherche et dénombrement des ASR	p.41
Fig. 2.6 : Recherche des <i>Salmonella</i>	p.44
Fig. 3.1 : Évolution du nombre des germes totaux (37°C)	p.56
Fig. 3.2 : Variation du nombre des germes totaux	p.57
Fig. 3.3 : Évolution du nombre des coliformes totaux	p.58
Fig. 3.4 : Évolution du nombre des coliformes fécaux	p.58
Fig. 3.5 : Résultat de la recherche des coliformes totaux dans les eaux d'Oued Messida.	p.59
Fig. 3.6 : Évolution du nombre des streptocoques fécaux	p.59
Fig. 3.7 : Résultat de la recherche des streptocoques fécaux.	p.59
Fig. 3.8 : Variation saisonnière des germes témoins d'une contamination fécale	p.60
Fig. 3.9 : variation saisonnière de l'indice de qualité microbiologique	p.62
Fig. 3.10 : Bâtonnets gram négatif	p.63
Fig. 3.11: cocci gram positive	p.63
Fig. 3.12 : Résultat de la galerie classique pour <i>E. coli</i>	p.67
Fig. 3.13: Résultat de la galerie classique pour <i>Klebsiella oxytoca</i>	p.67
Fig. 3.14 : Profil biochimique de la souche <i>Acinetobacter baumannii</i>	p.67
Fig. 3.15 : Profil biochimique de la souche <i>Proteus mirabilis</i>	p.67
Fig. 3.16 : Profil biochimique de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	p.69
Fig. 3.17: profil biochimique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	p.69
Fig. 3.18 : <i>Microsporium canis</i>	p.72
Fig.3.19 : <i>Aspergillus flavus</i>	p.72
Fig. 3.20 : <i>Aspergillus fumigatus</i>	p.72



Tab. 1.1: Données climatiques de la région d'El-Kala	p.19
Tab. 1.2: Température de l'air Période (1997-2006)	p.19
Tab. 1.3: Valeurs météorologique de la région d'El-Kala période (1997-2006)	p.21
Tab. 1.4: Superficie, population, et densité de la population dans les quatre communes dans le bassin versant du la Tonga	p.24
Tab. 1.5: Pourcentages des terres cultivées par commune du bassin versant du la Tonga	p.24
Tab. 1.6 : Effectifs de bovins, ovins et caprins dans le bassin versant du la Tonga	p.25
Tab. 2.1 : Nature et période de prélèvement	P.28
Tab. 2.2 : Caractéristiques des points de prélèvement	P.28
Tab. 3.1 : Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).	P.60
Tab. 3.2: Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale	p.61
Tab. 3.3 : Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale	p.61
Tab. 3.4 : répartition des classes de l'IQM	p.62
Tab. 3.5: Calcul de l'IQM	p.62
Tab. 3.6 : Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées de l'eau d'Oued Messida	p.64
Tab. 3.7: Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Enterobactériaceae	p.66
Tab. 3.8 : Résultats de profil biochimique des <i>staphylococcus</i>	p.68
Tab. 3.9 : Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Enterococcaceae	p.68
Tab. 3.10 : Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Pseudomonadaceae	p.69
Tab. 3.11 : Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Vibrionaceae	p.70
Tab. 3.12 : Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Streptococcaceae	p.70
Tab. 3.13 : Résultats des tests d'identification des Candida	p.71
Tab. 3.14: Aspect macroscopique des espèces fongiques isolées	p.70
Tab. 3.15 : les résultats de l'ANOVA -1- des germes totaux, coliforme fécaux et les streptocoques fécaux	p.73

## Résumé

Les eaux douces et les hydrosystèmes de l'éco-complexe des zones humides d'El-Kala constituent des écosystèmes d'une immense richesse, assemblés en un réseau complexe des lacs, de rivières et de milieux humides. De nombreuses espèces fauniques les utilisent et en dépendent pour compléter leurs cycles vitaux. En plus de leur grande importance pour la biodiversité, ces milieux sont utilisés par les humains pour une variété d'activités, incluant l'exploitation agricole et le tourisme de nature. La qualité de ces eaux est très importante pour le développement de la biodiversité dans le PNEK.

Dans notre étude, nous avons choisi de suivre la pollution microbiologique des eaux d'Oued Messida reliant le lac Tonga à la mer méditerranéenne. Ce travail a été étalé sur un cycle annuel dont on a essayé de déterminer la charge bactérienne dans le canal ainsi que d'identifier les souches isolées lors de notre étude.

Les résultats de nos analyses bactériologiques nous ont montré une nette contamination fécale de l'eau de cet écosystème lotique avec des taux très élevés des effectifs des germes bactériens (germes totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux).

Les résultats de l'identification des souches isolées montrent que la famille des Enterobacteriaceae est la plus dominante avec 13 espèces suivies par les familles des Micrococcaceae et des Pseudomonadaceae (03 espèces) et les familles des Vibrionaceae et des Streptococcaceae avec 01 espèce pour chacune.

Cette pollution affecte l'environnement et présente un danger majeur pour la santé humaine dans la région qui est touristique.

**Mots clé :** zone humide lotique, qualité microbiologique des eaux, contamination fécale, parc national d'El-Kala, Oued Messida

## **Abstract**

Freshwater and wetland ecosystems of the eco-complex of El-Kala represent rich ecosystems forming complex network of lakes, rivers, and wetlands. Many wildlife species use and rely on these habitats for their life cycle. In addition to this high biodiversity value, aquatic, wetland, and riparian habitats are used by humans for a variety of activities, of which farming operation and nature tourism. The quality of these waters is very important for the development of biodiversity in the PNEK.

In our study, we chose to follow the microbiological pollution of the waters of Oued Messida connecting Lake Tonga with the Mediterranean Sea. This work was spread over an annual cycle which we tried to determine the bacterial load in the channel and to identify the strains isolated induring our study.

The results of our bacteriological analysis has shown us a strong fecal contamination of water in this lotic ecosystem with very high numbers of bacterial germs (total germs, total coliforms, faecal coliforms and fecal streptococci).

The results of the strains identifications present that the Enterobacteriaceae famly is the most dominant with 13 species followed by the families of the Pseudomonadaceae and the micrococcaceae (03 species), the Vibrionaceae family and the Streptococcaceae family being least representative with 01 specie for each one.

This pollution affects the environment and presents a malor threat to the human health in the region which is tourism.

**Key words :** lotic wetland, microbiological water quality, fecal contamination, national park of El Kala, Oued Messida.

## الملخص

المياه العذبة و المناطق الرطبة لمركب البيئي للمناطق الرطبة للقاله تشكل نظام ايكولوجي يحتوي على ثروة هائلة، مجتمعة في شبكة معقدة من الأنهار، البحيرات و المستنقعات. كثير من الأنواع الحيوانية تستخدمها و تعتمد عليها لاستكمال دوراتها الحياتية. بالإضافة إلى أهميتها في التنوع البيولوجي، تستخدم هذه المناطق من طرف البشر لمجموعة متنوعة من الأنشطة، مثل الأنشطة الفلاحية و السياحة الطبيعية. إن جودة مياه المنطقة مهمة جدا لتنمية التنوع البيئي في (البنك).

في دراستنا، اخترنا رصد التلوث الميكروبي لمياه واد المسيدة الذي يربط بحيرة طونقة بالبحر الأبيض المتوسط. هذا العمل يمتد على دورة سنوية أين حاولنا تحديد الحمولة الجرثومية في القناة و التعرف على السلالات المعزولة خلال دراساتنا.

لقد أظهرت نتائج التحاليل البكتيريولوجية وجود تلوث بزازي ملحوظ في مياه هذا الوادي مبينة في العدد الكبير للجراثيم البكتيرية (مجموع جراثيم القولونيات، مجموع القولونيات البزازية و العقديات البزازية).

نتائج تحديد السلالات تبين أن عائلة الأمعائيات هي الأكثر وجودا ب 13 نوع متنوعة بعائلة ميكروكوكاسي و عائلة الزوائف (03 أنواع) و أخيرا عائلتي الضماوات و العقديات بنوع لكل واحدة.

هذا التلوث يؤثر على البيئة و يمثل خطرا كبيرا على صحة الإنسان في هذه المنطقة السياحية.

**الكلمات المفتاحية:** المناطق الرطبة الجارية، النوعية البيولوجية للمياه، التلوث البزازي، المحمية الوطنية للقاله، واد المسيدة.

# *Introduction*

La qualité et la protection de notre environnement sont aujourd'hui des sujets de préoccupation majeurs pour nos sociétés. En effet, nos conditions de vie sont intimement liées à la qualité de notre environnement, et même si la modernisation et l'urbanisation de notre monde, ont conduit à un éloignement de la population des milieux naturels, la nature nous rappelle aujourd'hui que l'on ne peut faire sans elle. La qualité de l'air et les variations climatiques sont aujourd'hui des sujets connus d'une grande partie de la population mondiale. La ressource en eau est un sujet touchant malheureusement moins la population. Une prise de conscience des problèmes liés à l'eau est cependant en train de voir le jour, suite notamment aux sécheresses et aux restrictions d'eau des dernières années. Cependant, l'attention de la population est attirée essentiellement sur les problèmes de quantité, la qualité de l'eau, et plus largement des milieux aquatiques restant au second plan.

Aussi loin que remonte la mémoire des hommes, l'eau a toujours été au cœur des préoccupations. Au Moyen Age, l'eau tombée du ciel et celle des sources étaient réputées meilleures que celle des rivières, des puits et des marais... En absence des critères scientifiques, sa qualité était appréciée aux critères simples, en connaissant son origine avec une simple estimation visuelle de la couleur de l'eau suffisait pour la déclarer potable. A l'époque de la révolution scientifique, les premières études ont été orientées sur la santé des hommes, les ichtyologues se sont intéressés aux poissons en tant que ressource alimentaire, tandis que les hydrobiologistes se souciaient du monde des végétaux et des invertébrés. Avec la sensibilisation aux pollutions, les chimistes se sont préoccupés des apports et les géographes ont attiré l'attention sur le fonctionnement physique des cours, alors que les microbiologistes ont mis la lumière sur la présence des microorganismes dans l'eau. C'est ainsi qu'au cours des décennies, dans chacune de ces disciplines, les scientifiques ont mis progressivement en place les outils permettant de connaître voire de maîtriser cet élément liquide indispensable à la vie (Karr & Chu, 2000). En hydrobiologie, les premières analyses destinées à estimer la qualité des eaux continentales remontent au début du 20ème siècle (Kolkwitz & Marsson, 1902 ; 1909).

De par certaines zones du milieu naturel requièrent une qualité microbiologique accrue car elles constituent un facteur de propagation d'épidémies, par l'ingestion des pathogènes qu'elles comportent par exemple. C'est le cas notamment des zones comprenant les eaux de baignade et les eaux servant à l'irrigation. En 2003, Shuval estima le coût global annuel des maladies provenant de la baignade, de l'ingestion de produits et des eaux de mer polluées, à 12 milliards de dollars (Shuval, 2003 in Ottoson et al. 2006). Il s'agit donc ici d'une

problématique environnementale qui mérite une attention particulière car l'impact sur la santé humaine peut s'avérer fort important.

### **Problématique :**

La qualité microbiologique des eaux d'Oued Messida, situé dans le nord-est algérien au niveau du Parc National d'El-Kala (PNEK), est un modèle type de la mauvaise utilisation des zones humides et l'échec de la gestion durable dans l'Algérie. La pollution biologique des eaux de ce canal, lié le lac Tonga à la méditerranéen, répercuté négativement sur le fonctionnement hydrologique de la mer en causant la pollution de cette zone touristique importante ce qui a un effet direct sur la santé humaine en provoquant plusieurs maladies surtout pendant la période estivale caractérisé par l'activité humaine intense.

Plusieurs facteurs sont dus à cette pollution biologique :

- Les apports qui viennent du lac Tonga vers la méditerranéen en passant par l'Oued en provoquant la pollution de ce dernier par les déférents rejets des espèces hébergeant le lac.
- Les Oueds qui alimentent le lac sont liés avec les installations septiques inadéquates ce qui conduit à une pollution du lac et du canal aussi.
- La présence d'une décharge au niveau du canal dans la partie la plus proche à la plage.
- La présence d'un égout qui alimente le canal.

Devant cet état de fait et inspirant des nombreuses expériences à travers le monde dans l'étude de la qualité biologique des eaux, nous proposons cette étude dans le but de bien présenté l'état de pollution et son effet sur l'environnement et sur la santé humaine dans cette zone humide.

### **Les objectifs du travail :**

Nous projetons dans ce modeste travail d'estimer pendant un cycle annuel le degré de pollution du canal Messida, dans le bassin versant du lac Tonga, et d'étudier sa qualité microbiologique. Notre démarche est comme suit :

- La détermination de la qualité microbiologique de l'eau de cet écosystème lotique tout le long de l'Oued avec :
  - Dénombrement instantané des germes totaux dans l'eau
  - Estimation des effectifs des germes témoins d'une contamination fécale
  - Recherche éventuel des microorganismes procaryotes pathogènes dans ce plan d'eau

- Déterminer la variation saisonnière du germe totaux et des germes témoins d'une contamination fécale

### **Présentation du travail :**

Pour réalisé cette étude et atteindre nos objectifs, notre travail a été organisé et présenté sous trois chapitres :

- Le premier chapitre, une étude bibliographique qui présente la localisation et les conditions générales de l'aire d'étude en montrant la climatologie, l'hydrologie, la géologie et l'aspect socioéconomique de la région d'étude.
- Le deuxième chapitre, une étude expérimentale consacré aux présentations des différents matériels et la méthodologie utilisé pour la réalisation des analyses microbiologiques nécessaire (recherche et dénombrement des microorganismes).
- Le troisième chapitre, consacré pour la présentation et la discussion des résultats obtenus durant notre période d'étude.

# *Chapitre I*

## Généralité

### 1. Définition des zones humides :

Interfaces écologiques et géographiques entre les milieux aquatiques et terrestres, les milieux humides sont difficiles à définir. Plus précisément, ces milieux chevauchent les limites de ceux qui sont couramment désignés aquatiques et terrestres. Plusieurs définitions écologiques des milieux humides, ou terres humides, ont été avancées par divers scientifiques.

Pour les besoins du présent rapport, nous retenons pour sa clarté la définition des milieux humides de Cowardin et al. (1979). Cette définition, en plus de comprendre les éléments véhiculés par Warner et Rubec (1997), est complétée d'une définition des sols hydriques et d'une classification des plantes selon leur caractère indicateur de milieu humide. Elle s'énonce comme suit (traduction de l'anglais):

*«Les milieux humides sont des terres de transition entre les systèmes terrestre et aquatique, où la nappe phréatique est habituellement au niveau ou près de la surface, ou dont le substrat est couvert d'eau peu profonde. Une terre humide se définit comme présentant au moins un des trois attributs suivants:*

*(1) Au moins périodiquement, des hydrophytes dominent la terre.*

*(2) Un sol hydrique non drainé domine le substrat.*

*(3) Le substrat est un non-sol et est saturé d'eau ou couvert par de l'eau peu profonde à quelque moment durant la saison de croissance de chaque année.»* (Louis-Vincent, 2008)

Au niveau international, la Convention de Ramsar du 2 février 1971, relative aux zones humides d'importance nationale est considérée comme zones humides :

*«Les étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres»* (Boumezbeur, 2001).

En 1992, l'union européenne a adoptée une définition, de la loi française sur l'eau, plus restrictive et permet une différenciation plus nette vis-à-vis des écosystèmes marins et fluviaux :

*« On entend par zone humide les terrains exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire ; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année».*

De point de vue de la biodiversité, en 1991 Barnaud a ajoutée une autre notion:

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

## **2. Les rôles des zones humides :**

### **2.1. Rôles hydrologique :**

Les zones humides ont une fonction capitale dans le maintien des réseaux hydrologiques d'un bassin versant. Elles permettent, en fonction de la variation de ses surfaces, le contrôle des inondations par l'étalement des crues.

Elles permettent de maintenir le niveau des nappes souterraines, de lutter contre les crues, de piéger les sédiments, de stabiliser le littoral, de purifier l'eau, de recycler les nutriments et de réguler les microclimats. Alors que pendant la saison sèche les vastes zones humides alimentent les aquifères.

En outre, en absorbant les agents des contaminations, les zones humides neutralisent les eaux usées.

### **2.2. Epuration naturelle :**

Les zones humides, avec ses composants en flores et sols, jouent une fonction capitale dans la réduction des agents polluants, telles que le phosphore et l'azote, transporter par la nappe et les cours d'eaux, Conformément à les processus suivants :

- Sédimentation.
- Dénitrification.
- Absorption des contaminants des eaux usées.

Ainsi, deux rôles principaux sont identifiés : un rôle tampon (interception et rétention de phosphore et des métaux) et un rôle d'épurateur vis-à-vis de l'azote (Sayad, 2008).

### **2.3. Biodiversité :**

En fonction de leur grande hétérogénéité, les zones humides hébergent une diversité et une richesse spécifique très diversifiées et avec des effectifs incroyables. Bien que les

écosystèmes d'eau douce ne couvrent qu'un pour cent de la superficie terrestre, ils contiennent plus de 40 pour cent des espèces de la planète et 12 pour cent de toutes les espèces animales (Halassi, 2010).

### **2.3. Stabilisation et protection des sols :**

La flore adaptée aux des zones humides fixe les berges et les rivages en participant ainsi à la protection des terres contre les différentes types d'érosion.

### **2.4. Les fonctions climatiques :**

A travers les caractéristiques des zones humides (sols et flores), les phénomènes d'évaporation intense d'eau et de l'évapotranspiration peuvent influencées localement sur la précipitation et la température atmosphérique, donc Les zones humides participent aussi à la régulation des microclimats.

Du point de vue des changements climatiques, les zones humides jouent au moins deux rôles qui, pour être différents, n'en sont pas moins vitaux: d'une part, dans la gestion des gaz à effet de serre (en particulier le dioxyde de carbone) et, d'autre part, en tamponnant concrètement les effets des changements climatiques (Halassi, 2010).

### **2.5. Aspect paysager et touristique :**

Les zones humides sont des destinations touristiques idéales avec leur beauté naturelle et leur biodiversité animale et végétale que l'on y trouve.

Il existe une relation étroite entre les fonctions écologiques et les valeurs économiques des zones humides: que l'on touche à l'une des composantes, et c'est le rôle de l'ensemble qui risque d'être perturbé. De ce fait, leur gestion doit être conçue de manière intégrée dans le cadre de projets de développement durable et d'aménagement raisonné.

## **3. Importance des zones humides en Algérie :**

Avec deux sites sur la liste des zones humides d'importance internationale : Le Lac Tonga et le Lac Oubeïra (tous deux dans le complexe des zones humides d'El-Kala -wilaya d'El Tarf-), L'Algérie a réalisé son adhésion à la convention de Ramsar en novembre 1983, avant de rejoindre la liste en mars 1999 par Le Lac des Oiseaux.

La position géographique de l'Algérie, sa configuration physique et la diversité de son climat lui confèrent une importante richesse de zones humides.

Sa configuration physique s'est traduite globalement par une zonation latitudinale caractérisée par l'existence de plusieurs types de climats sur lesquels l'influence méditerranéenne s'atténue au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la mer. Cette diversité de climat a engendré une grande diversité d'écosystèmes de zones humides (Metallaoui, 2010) :

- La partie Nord-Est de l'Algérie, la plus arrosée, renferme un complexe lacustre particulièrement important, le complexe d'El-Kala.
- La partie Nord-Ouest, moins arrosée, se caractérise surtout par des plans d'eau salée tels que ; les marais de la Macta et la sebkha d'Oran.
- Dans les hautes plaines steppiques on rencontre principalement des chotts et des sebkhas. Ce sont des lacs continentaux salés de très faible profondeur qui se sont formés au Pléistocène et s'étendent sur de très grandes superficies en millions de km carrés, tel que Chott El Hodna, Chott chergui et Chott Melghir.
- Le Sahara renferme de nombreuses zones humides artificielles : les oasis.
- Les massifs montagneux de l'Ahaggar et du Tassili renferment dans leur réseau hydrographique de nombreuses zones humides permanentes appelées gueltats qui témoignent encore d'une période humide du sahara.

L'autorité de la Convention de Ramsar en Algérie, la Direction Générale des Forêts, a procédé au classement de 42 sites sur la Liste de la Convention de Ramsar des zones humides d'importance internationale, englobant une superficie totale de 2 959 000 ha. Le classement de ces sites est intervenu entre 1982 et 2004. Dix huit autres sites sont proposés pour classement et normalement l'Algérie comptera d'ici la fin 2011 une soixantaine de zones humides classées (Metallaoui, 2010).

#### **4. Types des zones humides :**

Les écosystèmes limniques désignent l'ensemble des eaux courantes continentales, lacustres et stagnantes (Ramade, 1994). Cette terminologie est subdivisée en deux : les écosystèmes lenticques (lacs, étangs, marécages, gravières, etc.) et les écosystèmes lotiques (rivières, fleuves, torrents, etc.).

##### **4.1. Les eaux lenticques :**

Les écosystèmes lenticques sont définis comme « *des étendues d'eau libre stagnante comblant une dépression naturelle ou artificielle des continents, n'ayant pas de contact direct avec les océans* » (Meybeck, 1995).

La taille de ces systèmes est fortement variable en termes de profondeur pouvant aller de quelques mètres à plusieurs centaines de mètres, de superficie et de volume (Meybeck, 1995). Deux classifications sont principalement employées :

- La première est basée sur l'origine des lacs ; distingue 11 catégories selon les agents ayant entraîné la formation de ces dépressions dont les principaux sont les forces tectoniques, les glaciers, les fleuves et les eaux souterraines (Gaëlle Triffault – Bouchet, 2004)
- La seconde est basée sur le statut trophique de l'écosystème conditionné par ses teneurs en éléments nutritifs, particulièrement en ions ortho-phosphates  $PO_4^{3-}$  et nitrates  $NO_3^-$ . Sont distingués les systèmes oligotrophes (pauvres à très pauvres en éléments nutritifs), mésotrophes (teneurs moyennes en éléments nutritifs) et eutrophes (riches en éléments nutritifs) (Gaëlle Triffault – Bouchet, 2004)

## **4.2. Les eaux lotiques :**

Les milieux lotiques correspondent aux milieux d'eau courante tels que les fleuves, les rivières et les ruisseaux.

Les cours d'eau étant des écosystèmes, peuvent être décrits comme des systèmes unitaires et fonctionnels composés d'une biocénose regroupant l'ensemble des êtres vivants et un biotope correspondant au milieu dans lequel ils vivent (Aucouturier Thomas, 2008).

Nous allons maintenant nous intéresser à chacun de ces éléments :

### **4.2.1. Le biotope**

Il est constitué par l'eau et le substrat, c'est-à-dire, dans le cas d'un cours d'eau, le lit et les berges. Ces éléments présentent une forte variabilité tant au niveau spatial que temporel.

En effet, chaque cours d'eau sera sous l'influence de son bassin versant : facteurs climatiques mais aussi géologiques et topographiques influenceront sur des critères tels que le débit, la granulométrie du lit de la rivière, la nature des berges, ou encore la végétation présente sur celles-ci. Par ailleurs, pour un même cours d'eau, on observera de fortes variations, liées elles aussi à des facteurs multiples : variations de débit liées à la pluviométrie, variations de température,... (Aucouturier Thomas, 2008).

### **4.2.2. La biocénose**

Il s'agit de l'ensemble des êtres vivants peuplant le biotope. Dans le cas des cours d'eau, l'ensemble des grands groupes (d'animaux et de végétaux) est susceptible d'être

représenté, (virus, bactéries, algues, végétaux, protozoaires, invertébrés et vertèbres). Il existe ici aussi une grande diversité spatiale et temporelle (Aucouturier Thomas, 2008).

#### **4.2.2.1 Variabilité spatiale de la biocénose**

Comme nous l'avons vu le biotope est très variable en fonction du cours d'eau, influençant directement la composition de la biocénose : des espèces adaptées à un milieu avec une eau froide et riche en oxygène, un courant rapide et un substrat de granulométrie élevée, ne pourront survivre dans un milieu plus pauvre en oxygène, avec des eaux de température plus élevée, et un substrat sableux par exemple (Aucouturier Thomas, 2008).

#### **4.2.2.2 Variabilité temporelle**

La variabilité de la biocénose ne se limite pas à une seule variabilité spatiale, il existe une forte variabilité temporelle au sein des écosystèmes aquatiques. Une nouvelle fois, les origines de cette diversité sont variées :

- **Le climat**, qui du fait des cycles saisonniers entraîne de nombreux changements. Ainsi, le printemps s'accompagne d'une température moyenne et de la luminosité, à l'origine d'une croissance importante des végétaux, entraînant par le jeu des édifices trophiques des modifications à tous les niveaux de la biocénose (Aucouturier Thomas, 2008).
- **Les activités de reproduction**, selon les saisons, au delà des variations de la végétation, on remarquera de grandes modifications de la biocénose. Ces modifications peuvent résulter du déplacement de populations (Aucouturier Thomas, 2008). Nous pouvons ainsi citer comme exemple les migrations de poissons vers leurs lieux de reproduction, mais aussi des mouvements de plus faible ampleur, comme la migration des alevins de nombreuses espèces du sédiment vers la pleine eau.
- **Les facteurs climatiques ne présentant pas de caractère saisonnier**, Il s'agit des crues ou des étiages très marqués lors des périodes de sécheresse. Ces phénomènes s'accompagnent de fortes modifications de la biocénose et du biotope, soit par déplacement d'individu et de substrat, soit du fait de mortalités importantes. Les modifications causées par ces phénomènes peuvent amener à des remaniements profonds de certaines portions de cours d'eau. Cependant, après une durée variable, les effets de ces phénomènes exceptionnels tendent à s'atténuer pour revenir à un état de climax.

## **Description de la région d'étude**

### **1. La Numidie Algérienne**

La Numidie, situé dans le Nord-Est algérien, est réputée pour ses zones humides réparties en deux grand complexes séparés par Oued Seybouse : **la Numidie orientale** composée des complexes de Annaba et d'EL-Kala et **la Numidie occidentale** représentée par le complexe de Gurebes-Sahadja et lac Fetzara (Samraoui et De Belair 1997)

#### **1.1. La Numidie orientale (Fig. 1.1) :**

Cette région de l'Algérie renferme un grande nombre de sites humides exceptionnels possèdent une grande diversité des écosystèmes marins lacustres et forestières qui renferment une richesse animale et végétale élevée. Ces zones humides s'étendent sur une superficie de 156 000 ha.

Elle est délimitée :

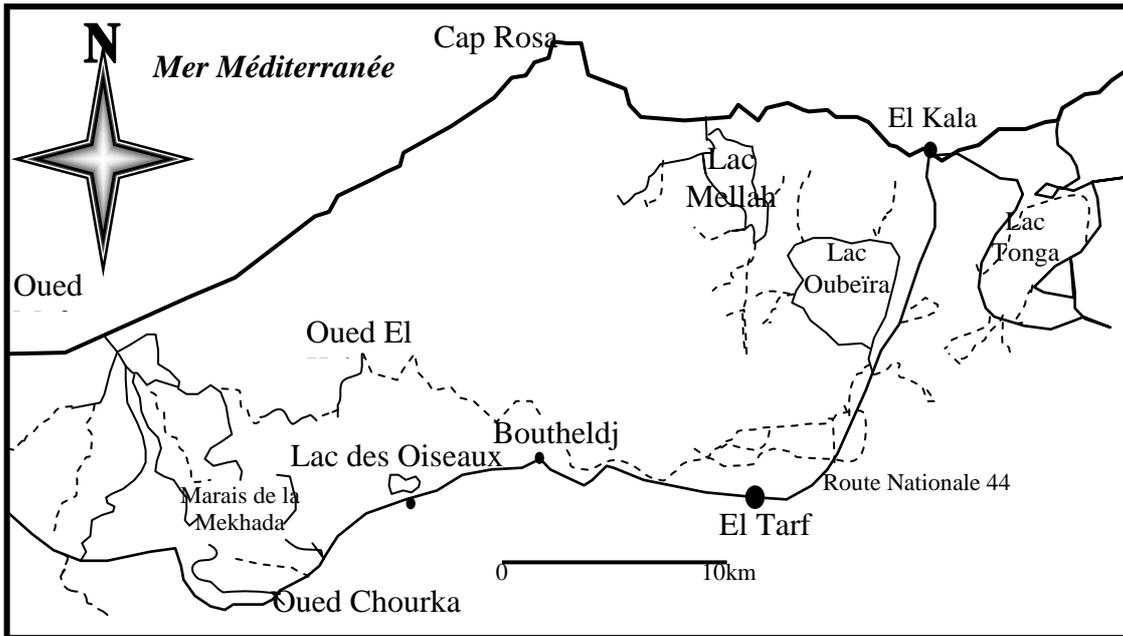
- Dans sa partie occidentale par Oued Seybouse.
- Dans sa partie septentrionale par la Méditerranée.
- Pour la limite méridionale par les collines de l'Atlas tellien.
- La délimitent à l'Est est les frontières algéro-tunisiennes, (Samraoui et De Belair, 1998).

#### **1.2. La Numidie occidentale (Fig. 1.2) :**

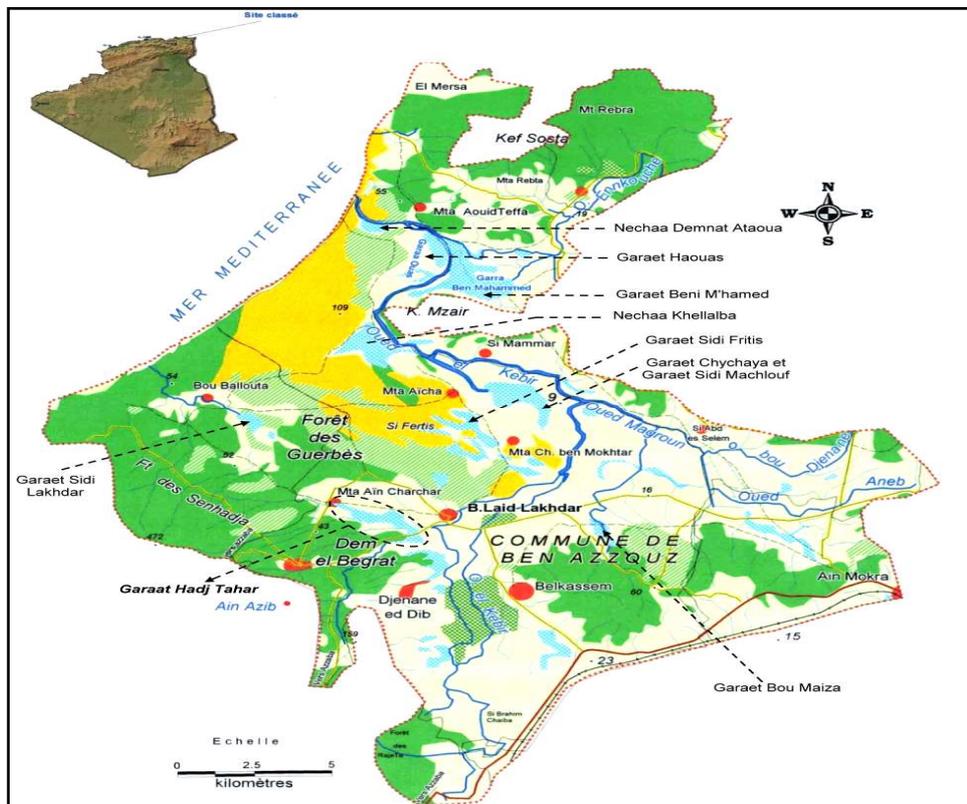
Représentée par le complexe de Guerbes-Sanhadja (site Ramsar depuis le 02 février 2001), est située au Nord-Est de l'Algérie dans la Wilaya de Skikda et à l'Ouest de Annaba et de complexe de zones humides d'El-Kala.

Elle est délimitée par la Méditerranée au nord, à l'Est par la Wilaya d'Annaba, par la plaine de Bekkouche Lakhdar dans l partie Sud alors que la région de l'Ouest est délimitée par les forets de sanhadja.

La superficie totale de la zone homogène s'étend sur 42.100 ha. C'est une grande plaine littorale bordée à l'Ouest par des collines côtières de Skikda et à l'Est par le massif côtère de Chitaibi. Les altitudes de la zone se situent entre 0 et 200m. 48,5% des terres ont une pente inférieur à 3 (Conservation des forets de la willaya de Skikda, 2002) (Metallaoui et Houhamdi, 2008).



**Fig.1.1:** Le complexe de zones humides de la Numidie orientale (Houhamdi, 2002)



**Fig. 1.2.** Les zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja (Atoussi, 2008)

## **2. Présentation de la région d'El-Kala :**

La région d'El-Kala est considérée comme la région la plus humide d'Algérie. Ainsi, étant donné sa grande diversité et sa richesse biologique. Sa richesse tant floristique que faunistique à fait l'objet de plusieurs études depuis le début du siècle, c'est pour cette raison qu'elle a été déclarée le 23 juillet 1983 un parc national (Anonyme, 1996).

## **3. Situation géographique du PNEK (Fig.1.3):**

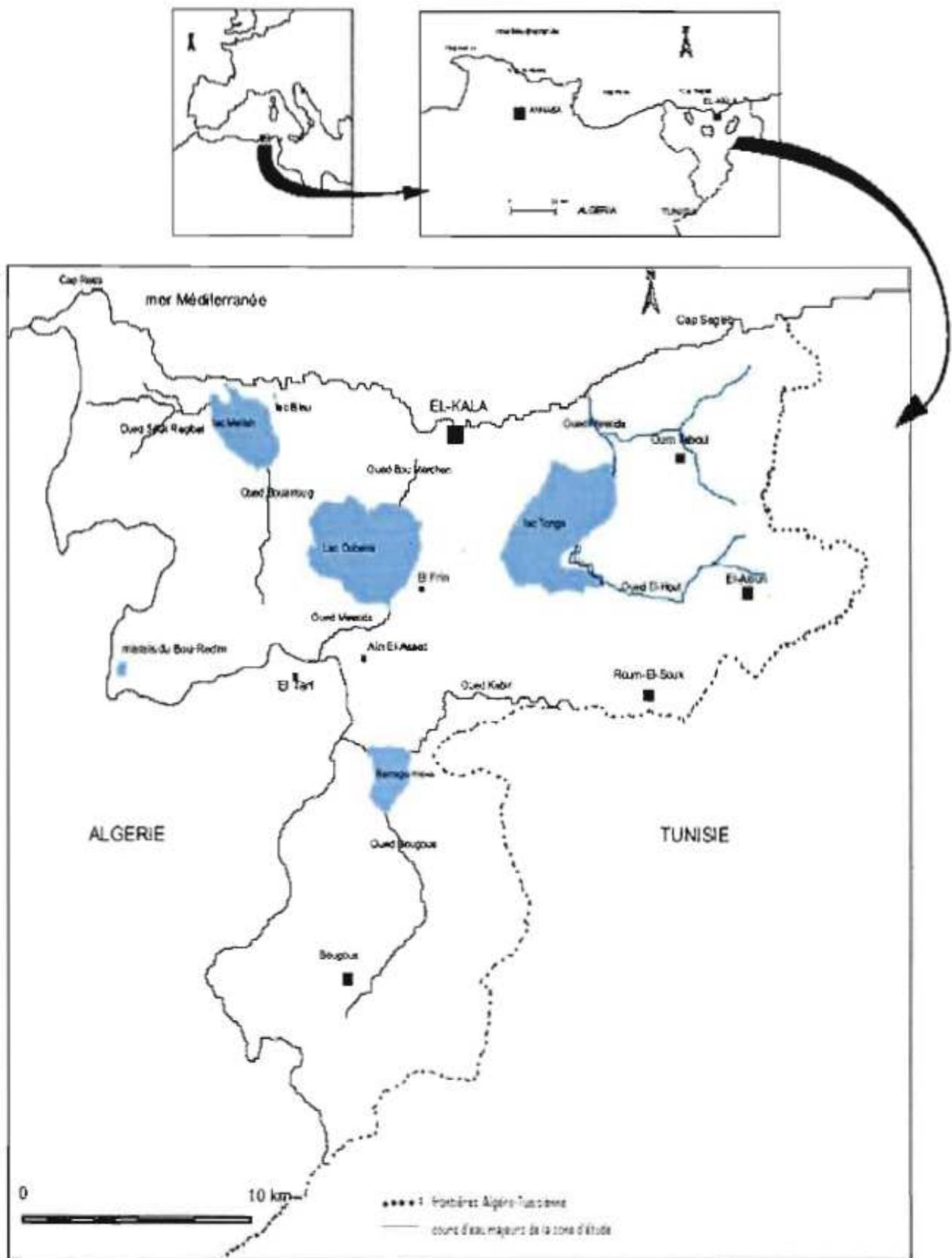
Dans le Nord-Est Algérien à 70 km de l'Est de la ville d'Annaba et environ 80 km au Nord de celle de Souk-Ahras se situe le parc national d'El-Kala, il s'étend sur une superficie de 76,438 ha (Sarri, 2002)

Il est limité:

- Au Nord : la Méditerranée.
- Au Sud: les monts de la medjedra
- A l'Est : la frontière algéro-tunisienne.
- A l'Ouest : les plaines d'Annaba.

## **4. Situation administrative du PNEK**

Administrativement, le parc national d'El-Kala est inclus dans la wilaya d'El-Tarf et comporte huit communes qui sont : El-Kala, Bouteldja, Berihane, El-Tarf, Bougous, Oum-Theboul, Ain Assel et El-Aioun (Kadid, 1989).



**Fig.1.3:** Carte de localisation du Parc National d'El-Kala  
 (Source: LANDSCAP AMENAGEMENT, 1998)

## **5. Présentation du site d'étude (Oued Messida) (Fig.1.4)**

La Messida, avec une profondeur maximale d'environ 2.5 m durant la période sèche et de 3.5 m durant la période d'hiver, est localisé dans le Parc National d'El-Kala (PNEK), dans le bassin versant du Lac Tonga, à l'extrême Nord-Est de l'Algérie. Il s'étend sur une distance d'environ 6 km du lac à la mer en passant par la route d'Oum Teboul avec une largeur moyenne de 4 m.

Cette zone humide lotique est limitée par :

- Le lac Tonga au Sud.
- La mer méditerranéenne au Nord.
- Les plaines de la commune de Souarekh à l'Ouest.
- Les pinèdes qui fixent la plus grande partie de la dune de la mer Messida à l'Est.

Ses coordonnées géographiques sont comprises 36° 53' 60 N et 8° 31' 0 E, à environ 22 km de la frontière Algéro-Tunisienne à l'Est et environ 11 km de la ville d'El-Kala à l'Ouest.

Le canal Messida est un oued artificiel creusé par les français pendant l'époque coloniale afin d'assécher le lac Tonga. Il présente une altitude égale à 0 et de ce fait coule dans les deux sens suivant le niveau d'eau du lac. Ainsi, en hiver l'écoulement se fait du lac vers la méditerranée et en été, il coule dans le sens inverse.

L'Oued est alimenté par les eaux du lac qui est considéré comme le distributeur principal de l'Oued, ainsi que par deux autres distributeurs secondaires : la nappe dunaire de Maloul et la nappe dunaire de la pinède Tonga voisine surtout dans la période sèche où ces deux nappes dégagent les eaux vers l'Oued.

## **6. Importance d'Oued Messida :**

Oued Messida est un cours d'eau qui joue un rôle biologique et écologique très important, parmi ses fonctions on peut citer :

- Il relie le lac Tonga avec la mer méditerranéenne.
- Il assure le niveau d'eau du lac Tonga de sorte que l'écoulement des eaux vers la mer soit forte lorsqu'il y a un surplus d'eau du lac et l'inverse lorsqu'il y a une diminution du niveau d'eau dans le lac.

- Pour certain animaux aquatique, comme l'Anguille (*Anguilla anguilla*), la loutre (*Lutra lutra*) et quelque d'autre espèces de poisson, il est considéré comme le passage principal pour la circulation de la mer vers le lac Tonga et vice versa.
- Une richesse floristique est remarqué durant notre sorties au site de prélèvement dont on a noté la présence du Nénuphar blanc, l'Iris des marais et le jonc des marais.
- De point de vue faunistique, durant notre travail au terrain nous avons marqué la présence de certaines espèces comme le Héron garde-bœuf, poule d'eau et même la présence du Poule sultane à la partie voisine du lac.
- Pour certaines animaux domestiques (les bovins, des chiens...) et quelque animaux sauvages (Sanglier « *Sus scrofa* »,...) qu'on a noté à partir des traces observer durant les sortie sur terrain, l'Oued est considéré comme un site de rafraichissement.
- Les eaux de l'Oued sont utilisées pour l'irrigation au niveau de la pépinière du Tonga.
- L'Oued Messida se trouve dans une zone de pêche d'Anguille suivi et contrôlée par un exploitant durant la période de la pêche entre les mois d'Octobre et Avril.



**Fig.1.4** : Situation géographique d'Oued Messida (Google Earth)

### **7. principaux rejets au niveau d'Oued Messida :**

Les eaux usés des localités fortement peuplé dans la région ; Malloul, Oum chtab, Souarakh et tonga, sont totalement rejettent dans l'Oued El Eurg qui est directement lié avec Oued Messida. Alors que d'autres localités ; Maizilla, Oued Hout et El Aioun, rejettent les

eaux usées au niveau du lac Tonga et atteignent ensuite Oued Messida. Enfin, l'Oued est pollué aussi par les déchets des animaux.

## **8. Conditions générales de la région d'étude:**

Oued Messida fait partie du bassin versant du lac Tonga qui se compose de deux sous bassins versant celle de Oued El Eurg et celle de Oued El Haut. Dans ce cas les conditions physiques, socio-économique et climatiques sont presque les même.

### **8.1. Conditions physiques :**

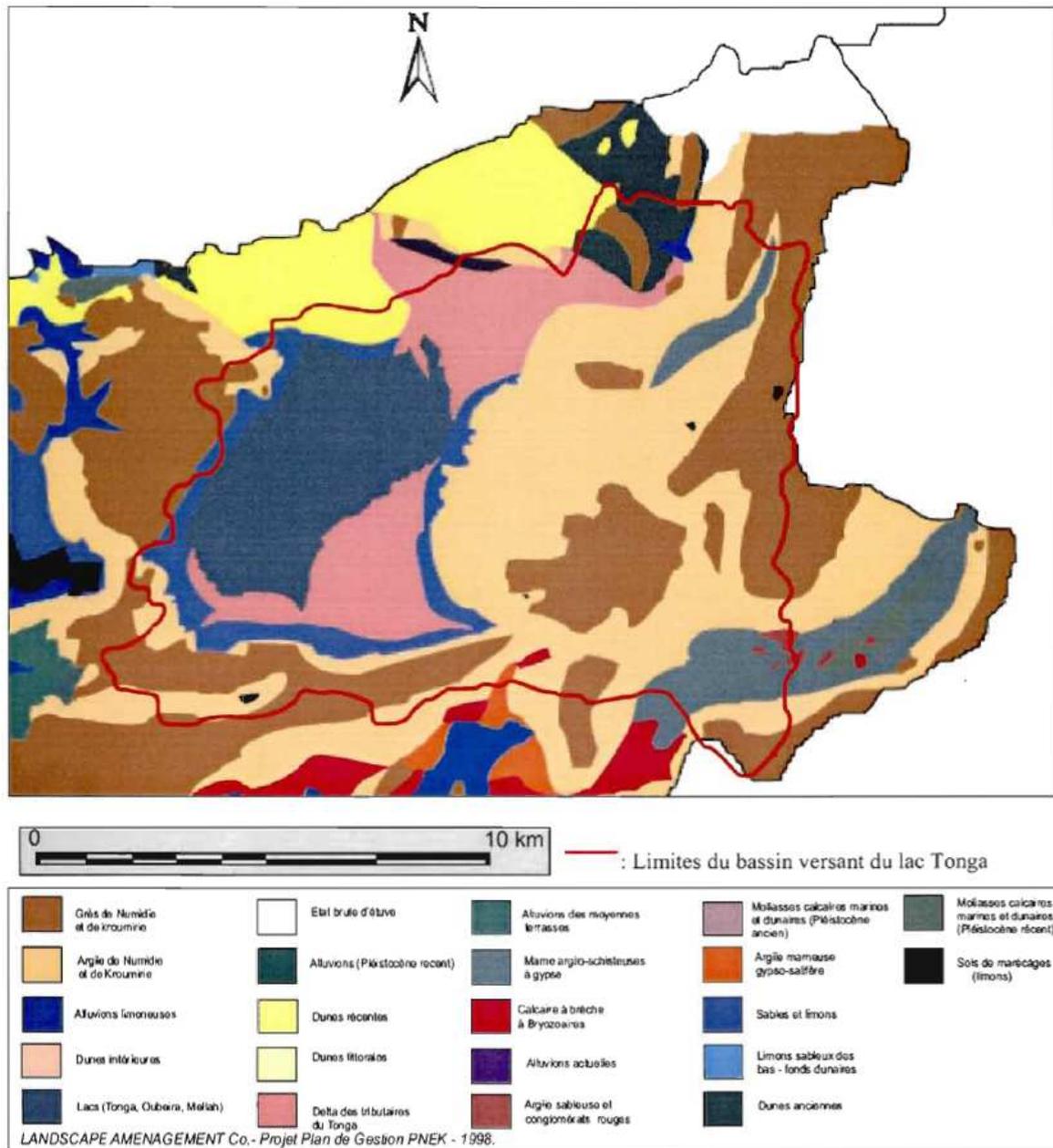
#### **8.1.1. Pédologie:**

Les précieux travaux de Durand (1952) ont contribués considérablement à la connaissance de la pédologie de la région d'El-Kala. Dès lors, de travaux sur le sol de la région et plus particulièrement sur la cuvette du lac Tonga, on été effectués. En 1983, les travaux de ce pionnier ont été repris et affinés par la société d'études hydrologique de Constantine (Durand, 1952) distingua dix (10) types de sols qu'il classa en deux grandes catégories. Les sols zonaux et les sols azonaux. Les types décrits sont :

1-Sol dunaire	6-Podzol
2- Sol de marais	7-Solod
3- Sol tourbeux non inondé	8-Sol acide
4- Sol oxhydrique	9-Sol alluvial
5- Sol de prairie	10-Sol saturé

#### **8.1.2. Géologie (Fig. 1.5):**

La géologie de la région et plus précisément le bassin versant du lac Tonga, dont Oued Messida fait partie, est constitué de diverses formations géologiques: Sols de marécages, formés de limons de bas fonds, alluvions limoneuses formées de sable et limons récents, formations du Pontien, formées de conglomérats à ciments argileux, grès de Numidie qui sont quartzueux, blanchâtres, formant des reliefs abrupts, argiles de Numidie, formées de marnes argilo schisteuses, argiles, grès et calcaires noirs de l'Éocène moyen qui constituent les contreforts entourant le lac. (Raachi, 2007).



**Fig. 1.5:** Carte géologique de la région d'étude  
(Source: LANDSCAP AMENAGEMENT, 1998)

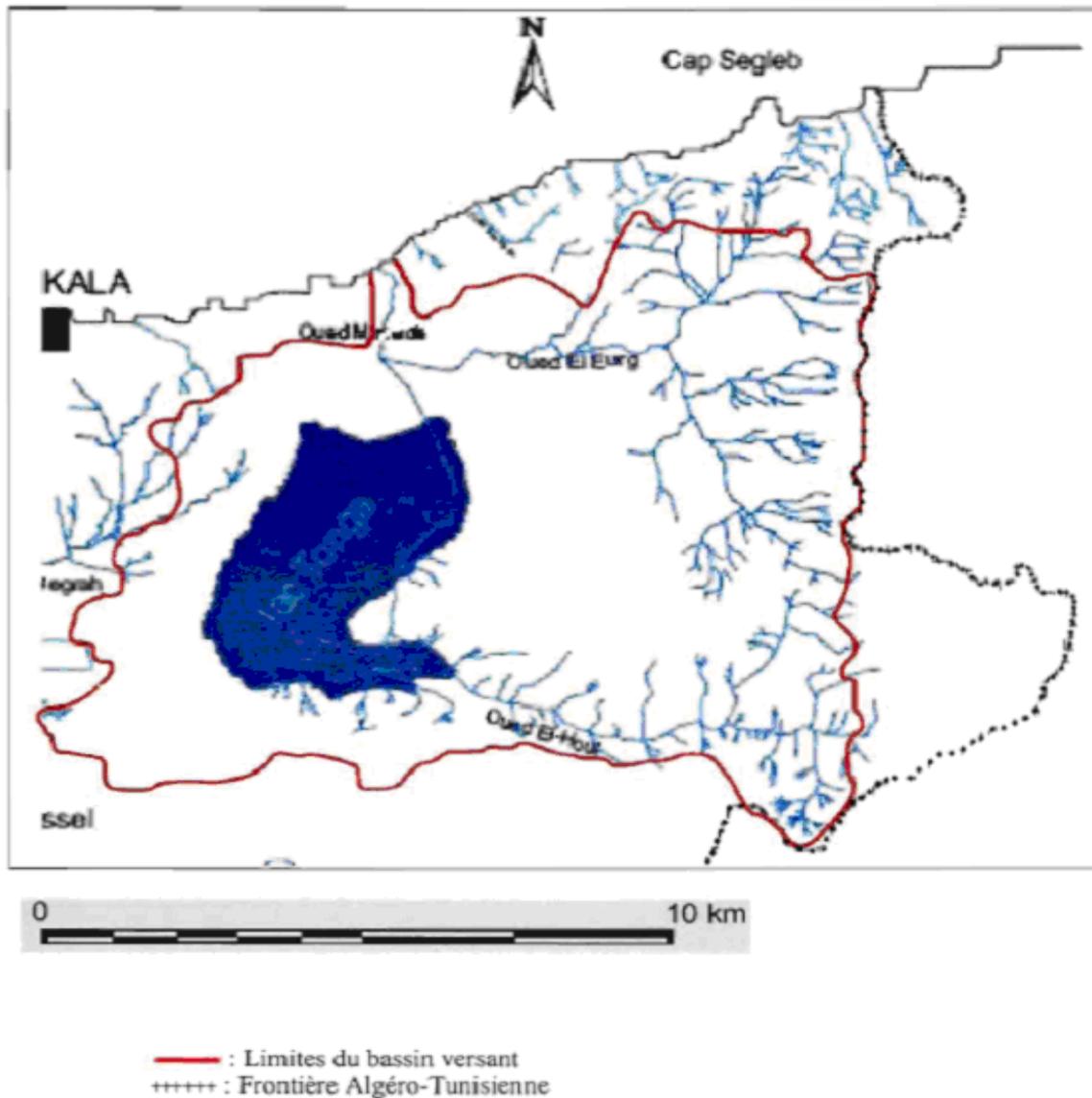
### 8.1.3. Hydrologie (Fig.1.6)

Le réseau hydrographique du bassin versant inclut l'ensemble des cours d'eau drainant le territoire du bassin versant. Il comprend tous les canaux et les ruisseaux pour aboutir au cours d'eau principal.

Il présente deux cours d'eau majeurs qui coulent toute l'année vers le lac Tonga (Oued El Haut, long de 14 km, et Oued El Eurg, long 10 km). Ces deux Oueds ont eu la capacité d'édifier des deltas grâce à un écoulement torrentiel en amont dû au développement de leurs

sous bassins versants. Tandis que le pourtour du Lac Tonga est raviné par un réseau non hiérarchisé (Raachi, 2007).

D'une manière générale le réseau hydrologique de la région n'est pas assez développés, les lits de ces Oued sont de très faible capacité et ne conviennent pas ainsi au drainage des eaux de pluie ou celle des crues. Un tel réseau hydrographique ne fait qu'accentuer le phénomène d'hydromorphes dans cette zone (Benslama, 1993).



**Fig. 1.6:** Carte du réseau hydrographique de la région d'étude  
(Source: LANDSCAP AMENAGEMENT, 1998)

## 8.2. Conditions climatiques:

Le climat est certainement un facteur du milieu très important. Il a une influence directe sur la faune et la flore. La région d'El-Kala se caractérise par un climat méditerranéen avec une pluviométrie abondante pendant la saison humide et les mois froids et par une sécheresse pendant l'été (Ozenda, 1982 ; Samraoui et De Belair, 1998).

Les données fragmentaires sur la climatologie de la région ne permettent malheureusement pas de dresser un tableau détaillé des conditions climatiques qui y règnent. Si le méso climat reste connu dans ses grands traits, il reste bien des faits, tels que la nature et la répartition de la végétation par exemple, qui ne peuvent s'expliquer que par la présence d'un climat plus localisé dont nous ne connaissons aucune caractéristique (Chabbi Y et Benyacoub S, 2000).

### 8.2.1. La température:

Elle dépend de l'altitude, de la distance du littoral et de la topographie (Seltzer, 1946). À mesure que l'on s'éloigne de la mer, les températures annuelles moyennes s'abaissent. (Tableau 1.1)

**Tab. 1.1:** Données climatiques de la région d'El-Kala (source BNEF « bureau national d'études forestiers », 1979).

Zone paramètre	Littorale	Sublittoral	Montagneuses
T C° (moy/an)	18	15	10
P mm/an (moy/an)	936,7	879	1191

Cette régression thermique s'explique par le rôle régulateur de la mer, et des lacs (Tonga et Oubeira). Dans la zone montagneuse, les températures varient suivant le gradient altitudinal (Raachi, 2007).

**Tab. 1.2:** Température de l'air (station météorologique d'El-Kala) Période (1997-2006)

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
T°C <sub>max</sub>	16.15	16.60	19.41	21.50	24.62	28.99	31.20	31.84	29.07	27.08	21.57	17.39
T°C <sub>min</sub>	6.66	6.49	8.11	9.86	13.28	16.78	19.26	20.14	18.07	18.07	11.22	7.84
T°C <sub>moy</sub>	10.96	11.27	13.63	15.64	19.02	23.00	25.39	26.02	23.38	20.63	15.89	12.17

De manière générale, de Novembre à Avril, la température moyenne est inférieure à la moyenne annuelle dont Janvier et Février sont les mois les plus froids et elle lui est supérieure de mai à octobre dont les mois les plus chauds sont Juillet et Août.

### **8.2.2. Données pluviométriques:**

Les précipitations sont régulées par trois facteurs : l'altitude, la longitude (elle augmente de l'Ouest vers l'Est) et la distance à la mer. (Seltzer, 1946)

La région de l'extrême Nord-Est de l'Algérie compte parmi les plus abondamment arrosées 1300 mm/an (d'après BNEF, 1985).

Deux phénomènes météorologiques importants conditionnent la pluviosité dans cette région: les perturbations cycloniques d'origine atlantique de l'Ouest et du Nord-Ouest et les dépressions qui prennent naissance en Méditerranée Occidentale (De Belair, 1990).

Une des caractéristiques de la pluviosité dans la région réside est sa grande variabilité annuelle, saisonnière et mensuelle, c'est une caractéristique du climat méditerranéen avec une concentration de la totalité des précipitations sur quelques mois de l'année, de novembre à avril au cours desquels, les précipitations gagnent sur l'évaporation. Une saison sèche de mai à octobre, où les précipitations sont déficitaires par rapport à l'évaporation et le minimum annuel s'observe toujours en juillet-août (Raachi, 2007).

Le couple latitude/altitude et le facteur vent influencent aussi les précipitations de la région qui sont caractérisées par deux types:

- **Précipitations littorales** : le littoral freine à sa base le flux d'air maritime rapide, et le perturbe, provoquant ainsi des chutes de pluies appréciables.
- **Pluies orographiques (de relief)** : les reliefs montagneux contraignent l'air à s'élever le long de leur pente et créent ainsi des mouvements ascendants favorables en altitude.

Dans le (tableau 1-3), on résume la situation pluviométrique annuelle durant la période (1997-2006) et démontre que cette région a reçu pendant cette période une moyenne annuelle de 635.01 mm. Le maximum des pluies se situe en hiver, aux mois de janvier et décembre.

### **8.2.3. L'hygrométrie :**

Dans la région d'El-Kala, le degré d'hygrométrie est très élevé tout au long de l'année et presque constant durant toute l'année (la variation de l'humidité est très faible)

La forte humidité de la région est causée par la forte évaporation de nombreuses zones humides et la proximité de la mer, ainsi que la richesse de la région en écosystèmes forestiers (zones montagneuses)

Le paramètre, proximité du littoral, dont les valeurs sont relativement élevées, atteint ses valeurs les plus fortes au lever et au coucher du soleil. Cette humidité de l'air, élevée même en été, explique le voile de brume qui peut être couvrir la région et peut propice, en fin de compte, aux cultures d'été et à la végétation naturelle : véritable compensation pour les végétaux ne bénéficiant d'aucune précipitation durant l'été (Raachi, 2007).

L'humidité est dans ces valeurs maximales durant le mois de Décembre, alors que les valeurs minimales sont observées pendant le mois de Juillet (Tableau 1.3).

#### 8.2.4. Les vents :

Les vents du Nord-Ouest sont prédominants, surtout en hiver, et leur stabilité depuis le quaternaire est attestée par l'orientation des dunes dans toute la Numidie (Samraoui et De Belaire, 1998).

**Tab. 1.3:** Valeurs météorologique de la région d'El-Kala (Station météorologique d'El-Kala) période (1997-2006)

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<b>P<sub>moy</sub> mm</b>	85.19	64.16	35.77	52.09	38.00	7.14	2.46	13.29	52.15	43.69	107.47	133.42
<b>Humidité moy %</b>	77.36	76.94	73.82	72.99	74.00	69.48	68.86	69.01	72.42	72.18	75.94	77.49
<b>Vitesse de vents km/h</b>	13.86	14.26	13.73	13.94	13.13	13.77	14.58	14.01	13.36	12.40	13.69	14.66

#### 8.2.5. Expression synthétique du climat :

##### 8.2.5.1. Climagramme d'Emberger : (Fig.1.7)

En 1955, Emberger a classé les climats méditerranéens en faisant intervenir deux facteurs essentiels : les précipitations et la température.

$$Q_2 = p1000 / [M+m]^{1/2} [M-m]$$

$Q_2$  : quotient pluviométrique

P : précipitations moyennes annuelles

M : T°max du mois le plus chaud (K°)

m : température des minima du mois le plus froid (K°)

Le quotient pluviométrique de la région d'El-Kala  $Q_2 = 103.71$ .

La Numidie est localisée dans l'étage bioclimatique sub-humide à hiver chaud.

### 8.2.5.2. Diagramme pluvio-thermique de Bagnouls et Gaussen: (Fig .1.8)

Pour l'élaboration du diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen (1957) nous avons tenu comptes 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.

Les courbes ombro-thermiques ainsi établies, nous ont permis de visualiser deux saisons distinctes: l'une sèche de Mai à Septembre et l'autre humide d'Octobre à Avril (Touati, 2008)

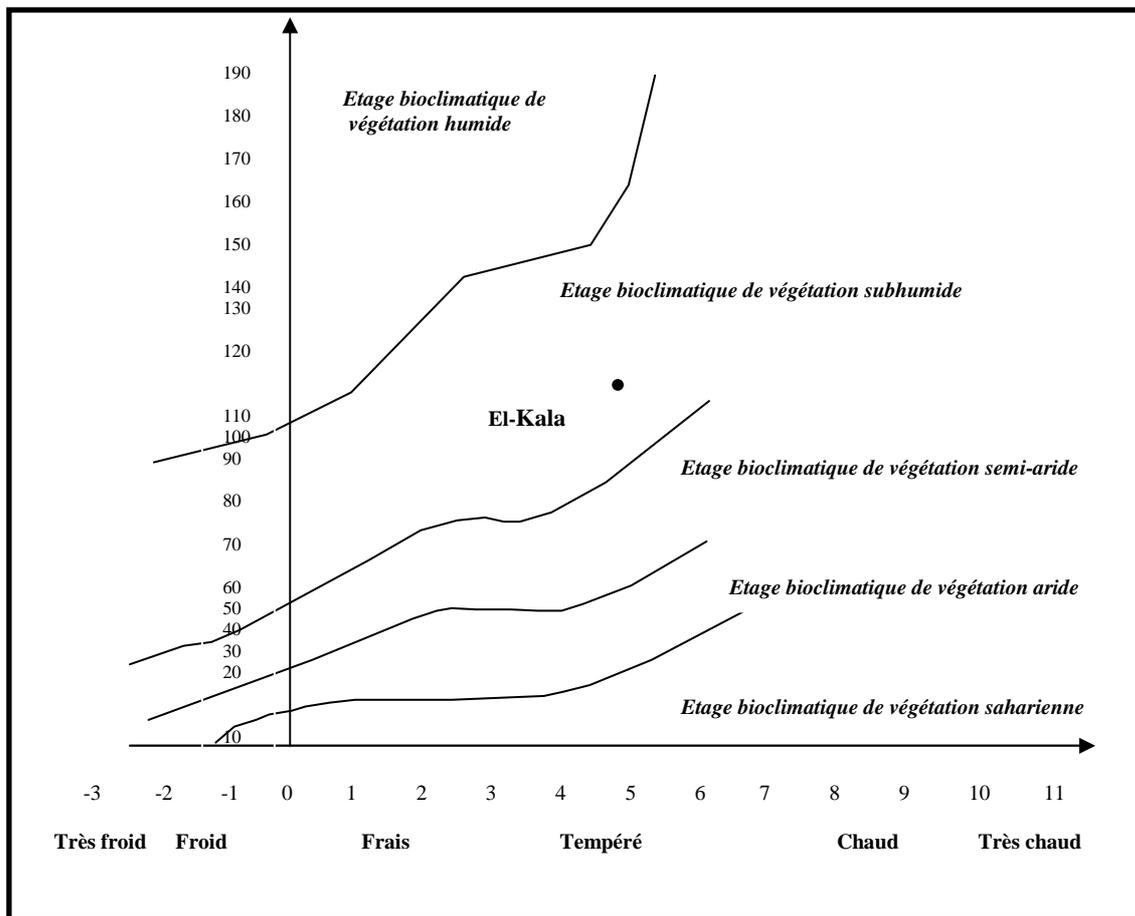


Fig. 1.7 : Graphe d'Emberger pour la région d'El Kala.

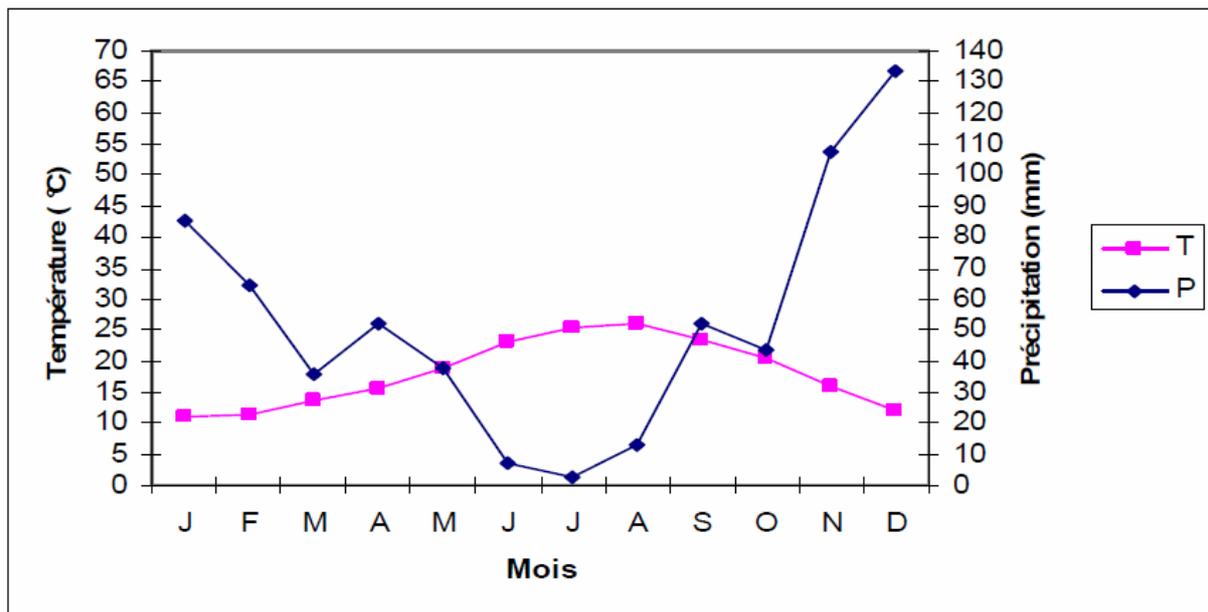


Fig. 1.8 : Diagramme pluvio-thermique de la région d'El Kala.

### 8.3. Conditions socio-économique :

#### 8.3.1. Population du bassin versant du lac Tonga :

L'aménagement du bassin versant doit être évidemment intégré et prendre en compte les activités humaines des riverains qu'ils réalisent par l'intermédiaire de la chasse, élevage et l'agriculture. Ces activités agit directement ou indirectement et à degrés divers sur la structure, le fonctionnement et la délimitation de l'écosystème du bassin.

Durant la période (1985-1995), l'ouverture des routes, l'électrification rurale qui atteint une couverture des besoins proche de 100%, la disponibilité de l'eau potable et le rapprochement des structures de santé et d'éducation favorise le retour à la terre après avoir une concentration des populations dans les chefs lieux des communes d'El-Kala dont 1% seulement de sa population vie sur le territoire du bassin versant du lac Tonga, et la commune de Ramel El Souk (Raachi, 2007).

Le bassin hydrographique est limité entre quatre communes (El-Kala, Oum Teboul, Ramel El Souk et El Aioun) (Raachi, 2007). (Tableau 1.4)

**Tab. 1.4:** Superficie, population, et densité de la population dans les quatre communes dans le bassin versant du la Tonga

Commune	Superficie (km)	Population en 2002	Densité (habitants/kn2)
El-Kala	292,00	27 511	94,2
Oum Teboul	87,35	8 144	93,2
El Aioun	45,85	5 051	110,1
Ramel El Souk	50,00	3 990	79,8

D'après les chiffres fournis par la Chambre d'Agriculture de la Wilaya d'El Tarf, la population qui vit sur le bassin versant peut donc être estimée à : 17460 habitants.

### 8.3.2. Les activités :

#### 8.3.2.1. L'agriculture :

L'agriculture autour du bassin est peu développée et caractérise par des petites exploitations familiales tournées vers une agriculture traditionnelle sur des superficies petites avec un rendement souvent faible à moyen, ceci dû au sol ingrat de nature sableuse. Même dans le passé, nous notons les habitants cultivant des pastèques et quelque arbre fruitier (Néflier, Pommiers et Bananiers...). (Abbaci, 1999)

La surface agricole utilisée (S.A.U.) représente 3 509 ha, c'est-à-dire 2,33% du bassin versant. (Tableau 1.5)

**Tab. 1.5:** Pourcentages des terres cultivées par commune du bassin versant du la Tonga (Compagne 1993-94,1994-95,1996-97)

Commune	Terre utilisée annuellement (ha)	Jachère (ha)	S.A.U. (ha)	% de terres utilisées (ha) (ha)
El-Kala	656	406	1062	61
Oum Teboul	412	524	936	44
El AiOUD	430	181	611	70
Ramel El Souk	837	63	900	93
Total (B .V)	2335	1174	3509	66

Les cultures sont dominées par le maraîchage (12,11 % de la S.A.U.), et l'arachide (14,8% de la S.A.U.) (DSA « direction des services agricoles », El-Tarf 1990), pratiquées aux abords des sources d'eau facilement accessibles comme les Oueds, le lac, «fonda», excavations qui mettent à nu la nappe phréatique proche de la surface.

Dans les zones montagneuses, la céréaliculture est pratiquée sur les piémonts où les programmes de développement suggèrent plutôt aux agriculteurs d'opter pour l'arboriculture qui pour l'instant se limite, à quelques parcelles (Raachi, 2007).

On note une grande pression démographique sur les parcelles agricoles dont il existe une population de 17460 habitants, et une S.A.U. de 3 509 ha c'est à dire la densité de la population selon la S.A.U est de 5 habitants / ha ou 1 habitant / 2 000 m<sup>2</sup>

### 8.3.2.2. Elevage et pastoralisme :

Les prairies et les forêts entourant le lac sont des zones de pâturage surtout pour les vaches qui sont rencontrés avec des nombres assez élevés. Cette activité est caractérisée par une pratique d'élevage traditionnelle incontrôlée.

Le troupeau existant sur le territoire du bassin versant du lac Tonga s'élève à 22 080 têtes (bovines, ovines et caprines), ce qui explique les effets négatifs sur les massifs forestiers et les zones humides, et distinctement les ripisylves et aulnaies où le potentiel fourrager offert est énormes (Raachi, 2007) (Tableau 1.6).

**Tab. 1.6** : Effectifs de bovins, ovins et caprins dans le bassin versant du la Tonga

Elevage Commune	Bovins	Ovins	Caprins
El-Kala	2750	2080	400
Oum Teboul	2050	1300	1150
El AïOUD	1750	3400	2000
Ramel El Souk	2450	2300	450
Total (B . V)	9000	9080	4000

Dans la partie des terres basses, les plaines, près d'Oued Messida et autour du lac Tonga, l'élevage est complémentaire aux cultures, le troupeau est généralement constitué d'une douzaine ou une vingtaine de bovins qu'accompagnent fréquemment un nombre équivalent d'ovins ou de caprins et qui ne sont pas systématiquement destinés à la vente (Raachi, 2007).

### 8.3.2.3. Tourisme :

Surtout durant la période estivale, le tourisme balnéaire est pratiqué sur le littoral (plage Messida qui accueille chaque année un nombre croissant d'estivants). L'écotourisme y

est pratiquement absent et peu de routiers, de passant, font une halte au niveau du site (Abbaci, 1999).

#### **8.3.2.4. Industrie :**

C'est une activité heureusement forte absente sur un rayon de 2 à 3Km du site, à l'exception d'une petite unité de fabrication de Siporex (brique silico-calcaire) à Oum Teboul, partiellement à l'arrêt.

# *Chapitre III*

Les bactéries peuvent avoir trois origines différentes dans l'eau :

- Origine aquatique
- Origine terrestre
- Origine animal et humaine : ce sont des germes de contamination, les plus souvent fécal, parfois rhino-pharyngée dont la température est autour de 37°C et qui sont accoutumés à un milieu nutritif riche en matière organique.

L'objectif de cette étude bactériologique est de mettre en évidence la pollution fécale de l'eau et évalué le risque microbiologique par la mise en évidence des germes tests d'origine fécale. Elle représente également un bon moyen pour contrôler l'efficacité des mesures de protection et de traitement.

Pour contribuer de la qualité bactériologique et suivi de la teneur et l'évolution microbienne des eaux d'Oued Messida, nous avons choisi quatre points de prélèvement et concentré notre étude à la recherche et l'identification des Bactéries dans les eaux d'Oued Messida.

La totalité de nos analyses sont effectués au niveau de laboratoire de Microbiologie du département de Biologie à l'université de 08 Mai 1945 de Guelma et laboratoire d'analyse médicale de la polyclinique de Sidi Amar à Annaba.

## **1. Matériels utilisés durant la période d'étude:**

Le matériel utilisé dans notre travail est :

- Pour les prélèvements des flacons en verre stériles de 200 cc de volume
- Au laboratoire, comme tous les laboratoires de Microbiologie avec ses matériels classiques: une étuve, des milieux de culture solides et liquides, ainsi que des réactifs.

## **2. Présentation des points de prélèvement : (fig2.1)**

Durant un cycle annuel et avec deux prélèvements par trimestre, huit prélèvements dans le total, nous avons concentré nos efforts à étudier, recherche et identifier les bactéries indicatrices d'une contamination fécale dans l'eau de cet écosystème aquatique.

L'objectif est d'obtenir un échantillon aussi représentatif que possible de l'eau à analyser. En respectant les conditions fixées par les normes (volume de l'échantillon, qualité du matériel d'échantillonnage, agents de neutralisation...), en fonction de la nature des eaux à analyser et celle des bactéries rechercher, nous avons sélectionné quatre points de

prélèvements S 01, S 02, S 03 et S 04. Ces points avec ses coordonnées et ses caractéristiques sont présentée dans les tableaux suivants :

**Tab. 2.1** : Nature et période de prélèvement

Nature de prélèvement	Période de prélèvement
Eau	Juin 2010 – mi Juillet 2010 Mi Juillet 2010 – fin Aout 2010 Septembre 2010 – mi Octobre 2010 Mi Octobre 2010 – fin Novembre 2010 Décembre 2010 – mi Janvier 2011 Mi Janvier 2011 – fin février 2011 Mars 2011 – mi Avril 2011 Mi Avril 2011 – fin Mai 2011

**Tab. 2.2** : Caractéristiques des points de prélèvement.

Points de prélèvements	Coordonnées	Caractéristiques
S 01	36° 53' 60 N et 8° 31' 0 E	- Prés de la Mer Méditerranée avec une distance de 100 m. - Présence de la végétation.
S 02	36° 52' 42 N et 8° 31' 33 E	- Après le rejet d'un égout avec 1 Km de la méditerranéen. - Absence de la végétation.
S 03	36° 51' 60 N et 8° 30' 22 E	- Au centre de l'Oued presque de 3 Km de la méditerranéen. - Absence de la végétation.
S 04	36° 51' 00 N et 8° 30' 00 E	- Prés de la route nationale N44 avec 100 m du lac Tonga. - Présence de la végétation.

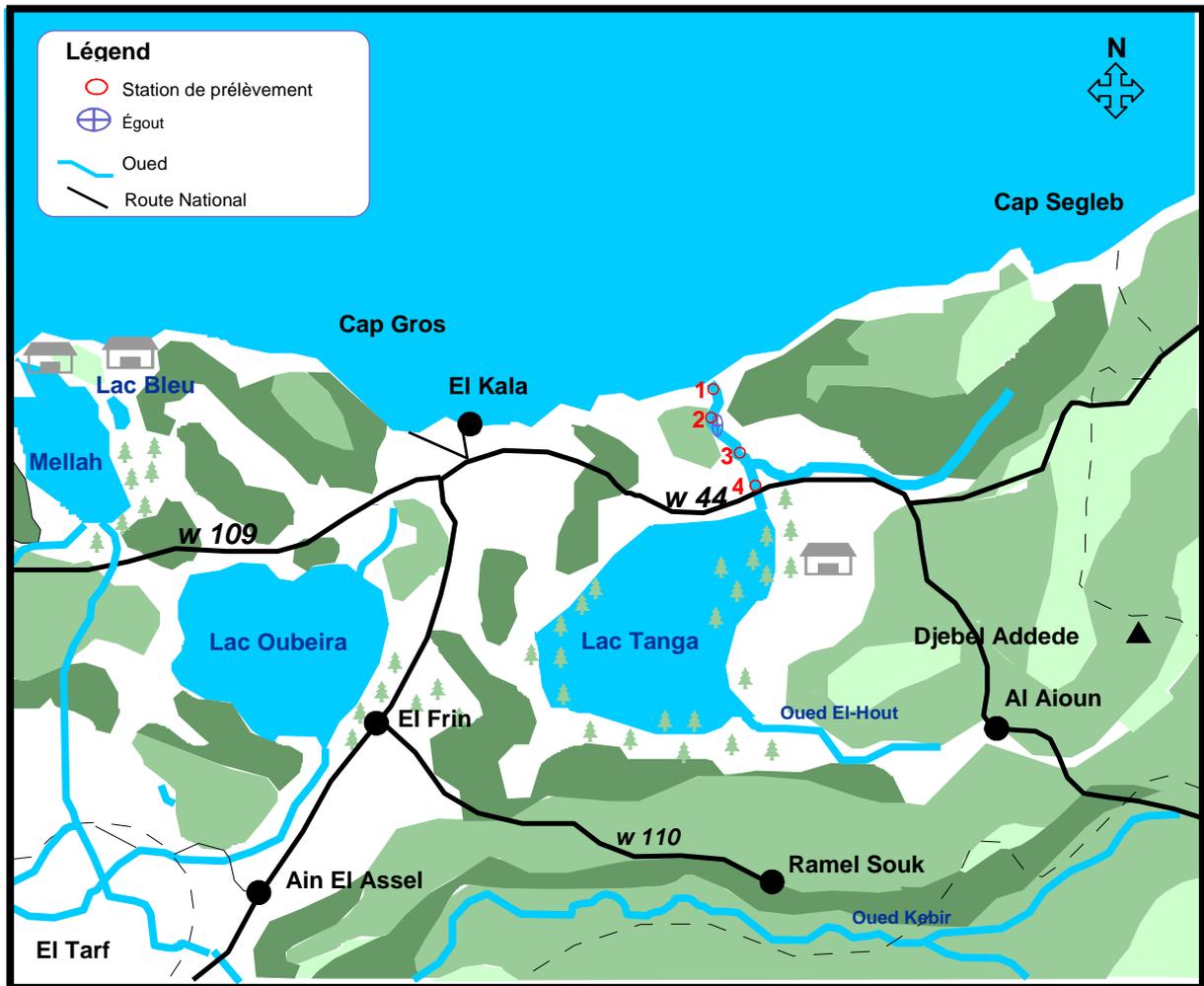
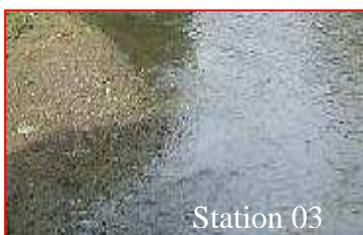


Fig.2.1 : Localisation des points de prélèvement.



### **3. Méthode d'analyse microbiologique des eaux :**

Les analyses bactériologiques sont reposées sur trois lignes principales :

- L'étude de la variation de la population bactérienne globale.
- Rechercher et dénombrer des bactéries d'origine fécale.
- Rechercher des bactéries pathogènes.

Avant chaque prélèvement, il faut stériliser le matériel à utiliser pour l'évaluation de la qualité des eaux.

Après la stérilisation nous fixons sur chaque flacon une étiquette sur laquelle sont inscrit la date et le point de prélèvement.

### **3. Technique de prélèvement de l'eau pour une analyse bactériologique :**

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuses. Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vise métallique. Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser.

Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont prolongés à une distance qui varie de 25 à 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels. Les flacons sont ouverts sous l'eau et sont remplis jusqu'au bord, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. (Rodier, 1996)

Il faut recueillir au maximum les informations qui ont une relation avec la qualité bactériologique des eaux : origine de l'eau, la cause probable de la contamination, l'importance des pluies avant le prélèvement, la nature lithologique du terrain traversé et la cause de la souillure permanente ou accidentelle auxquelles les eaux paraissent exposées (établissement agricole ou industrielle...).

### **4. Transport et conservation des échantillons :**

Depuis le moment du prélèvement à celui de l'examen, la teneur des échantillons en coliformes se modifie, il est important de procéder à l'analyse dans un délai très court, inférieur

à 8 heures. En aucun cas l'analyse ne doit être effectuée lorsque le délai dépasse 24 heures. Si le transport doit dépasser une heure, il faut utiliser une boîte isotherme munie d'éléments réfrigérants.

Pour les échantillons qui ne sont pas analysés sont aussitôt place au réfrigérateur et conservé jusqu'au début des analyses.

## **5. Examen Bactériologique de l'eau :**

Nous avons effectué pendant notre travail un dénombrement systématique des germes indicateurs de pollution qui sont :

- les germes totaux (la flore totale).
- les coliformes (coliformes totaux).
- les coliformes fécaux thermo-tolérants (*E.coli*)
- les streptocoques fécaux.
- les clostridium sulfito-réducteurs.
- autres germes pathogènes tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*....

Notre travail repose largement sur la numération des cellules bactériennes selon la méthode d'estimation directe des cellules bactériennes en milieu liquides (méthodes NPP : nombre le plus probable).

### **6.1. Détermination des germes revivifiables à 37°C : (fig2.2)**

Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 48h, 72h à 37°C). Bien que la présence en grande quantité des bactéries revivifiables ou la microflore totale aérobie mésophile n'est, a priori, aucune valeur indicative, leur dénombrement dans les conditions doit être régulièrement effectuée car une évolution importante, peut être représentative d'un apport contaminant (matière organique par exemple) (Kéleké et al, 2004).

#### **✓ Mode opératoire :**

- Dans deux boîtes de Pétri, on ensemence, à un milieu de culture défini (TGEA), un échantillon non dilué (solution mère) et de diverses dilutions de cet échantillon (dilutions décimales,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ... $10^{-5}$ ).

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

- Faire des mouvements circulaires 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.

- Puis incubée, aussitôt après solidification, dans une étuve à  $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  durant 24 à 48 heures.

✓ **Lecture et interprétation :**

Les boîtes contenant des colonies qui apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes et aussi celles qui contenant un nombre des colonies entre 30 et 300, au niveau de deux dilutions successives, sont retenir pour le comptage.

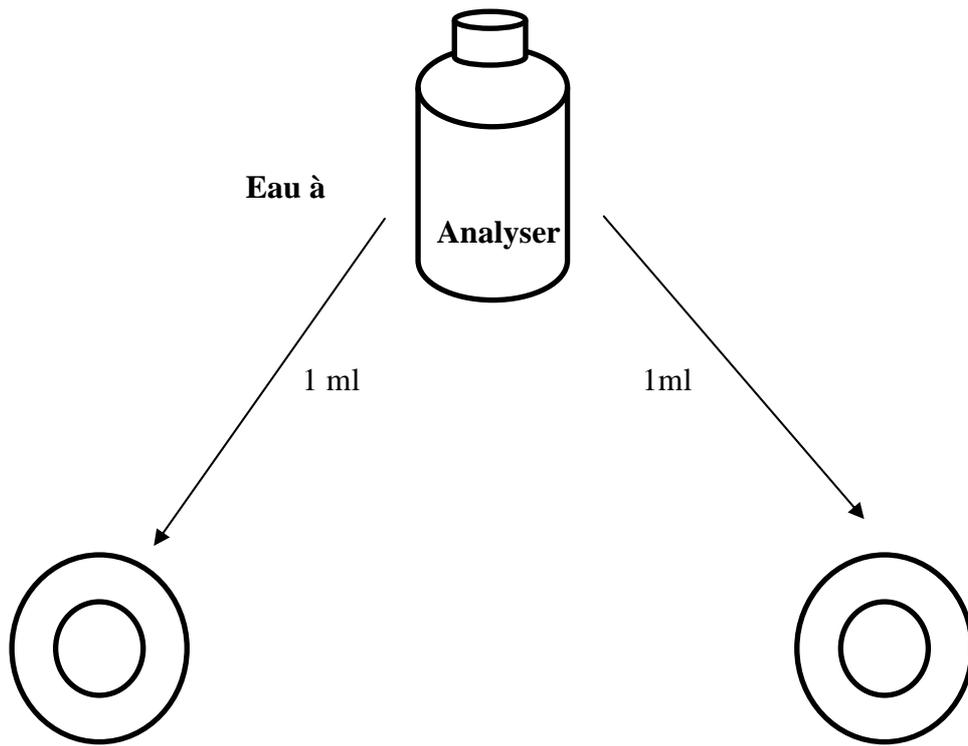
Calculer ensuite la valeur du nombre **N** de microorganismes revivifiables à  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  à part et celle du nombre **N** de microorganismes revivifiables à  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum c}{1.1 \times d} \quad \text{où}$$

**$\Sigma c$**  : est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

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

Le résultat final de microorganismes est noté par un nombre compris entre 1.0 et 9.9 multiplié par  $10^x$  où X est la puissance appropriée de 10.



Ajouter environ 20 ml de gélose TGEA  
Laisser solidifier sur paille, ajouter une double couche (5ml)  
puis incuber à :

37°C pendant 48 h

Dénombrer les colonies lenticulaires ayant poussé en masse dans chacune des  
boites

**Fig. 2.2.** Recherche et dénombrement des germes totaux

## **6.2. Recherche et dénombrement des germes témoignant d'une pollution fécale:**

### **6.2.1. La méthode du nombre le plus probable :**

Elle représente l'une des plus anciennes applications des statistiques à la microbiologie (Phelps, 1908, Mc Crady, 1915). Cette méthode de dénombrement est basée sur la loi de poisson, en estimant le nombre des micro-organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire.

L'utilisation de cette technique a des avantages par rapport à la technique de dénombrement sur plaque :

- Elle permet d'analyser des quantités importantes d'eau.
- Elle est plus favorable à la multiplication des microorganismes fragiles que la culture sur support solide.
- Leur nutrition est mieux assurée au sein du liquide, qu'à travers les pores des membranes. (Rejsek, 2002)

#### **✓ Principe:**

Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide. En cas de présence, l'ensemble du milieu liquide inoculé vire à la positivité (trouble ou virage de l'indicateur). Un jugement quantitatif est possible en jouant sur les volumes de prise d'essai.

#### **✓ Lecture :**

Après incubation, on compte les tubes positifs (apparition d'un trouble, virage de colorant et dégagement des gaz) dans les dilutions successives et on retient le nombre caractéristique constitué par trois chiffres écrit dans l'ordre des dilutions croissantes en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs.

#### **✓ Expression des résultats :**

Ce nombre caractéristique obtenu correspond d'après la table de Mac Crady au nombre des bactéries présentes (NPP) dans le prélèvement correspondant à la plus faible

dilution prise en compte. Le calcul de concentration cellulaire dans la suspension initiale se fait en tenant compte les dilutions effectuées.

### **6.2.2. Recherche et dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo tolérants avec identification d'*Escherichia coli* : (fig.2.3)**

Sous le terme des coliformes sont regroupées certaines espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobactériaceae (Rejsek, 2002, Coulibaly, 2005).

Ce sont des bacilles à Gram négatifs, aérobie ou anaérobie facultatif, non sporulés, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence des sels biliaires et capable de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz en 24h à 48h à une température compris entre 36 et 37°C.

Les coliformes thermo-tolérants ou coliformes fécaux ont les mêmes propriétés que les coliformes mais à une température de  $42 \pm 2^\circ\text{C}$  (Labres et al, 2008). Les groupes de coliforme fécaux regroupent les espèces suivantes : *Citrobacter feundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* (sous genre III arizona), *Yersinia enterocolitica* (Rodier, 2005).

L'*Escherichia coli* sont des coliformes fécaux ont la particularité de produire de l'indole à partir de tryptophane présent dans le milieu à une température compris entre  $42 \pm 2^\circ\text{C}$ .

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

- **Le test de présomption** : réservé à la recherche des coliformes.
- **Le test de confirmation** : réservé à la recherche des coliformes thermo tolérants et *Escherichia coli*.

#### ➤ **Mode opératoire :**

##### **a. Test de présomption :**

Après homogénéisation de l'échantillon pour obtenir une répartition homogène des microorganismes, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives

( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques.

- Nous prenons les tubes de BCPL (bouillon lactose au pourpre de bromocrésol, simple concentration) munis d'une cloche de Durham.
- Prélever 1ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la porte dans le premier tube de la série contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-1}$ .
- Nous prélevons 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-2}$  et ainsi de suite jusqu'à la dilution  $10^{-5}$ .
- Refera la technique pour deux autres séries pour obtenir trois séries. (Délarras, 2008)
- Chassez l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et mélanger bien le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 heures.

✓ **Lecture :**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (la fermentation du lactose se manifeste par la production d'acide entraînant le virage du bromocrésol pourpre au jaune).
- Le nombre de tubes positifs dans chaque série seront Noter et se reporter à la table de Mac Grady (Méthode 1.5.5) pour obtenir le nombre de coliformes totaux présents dans 100 ml d'eau à analyser.

**b. est confirmatif :**

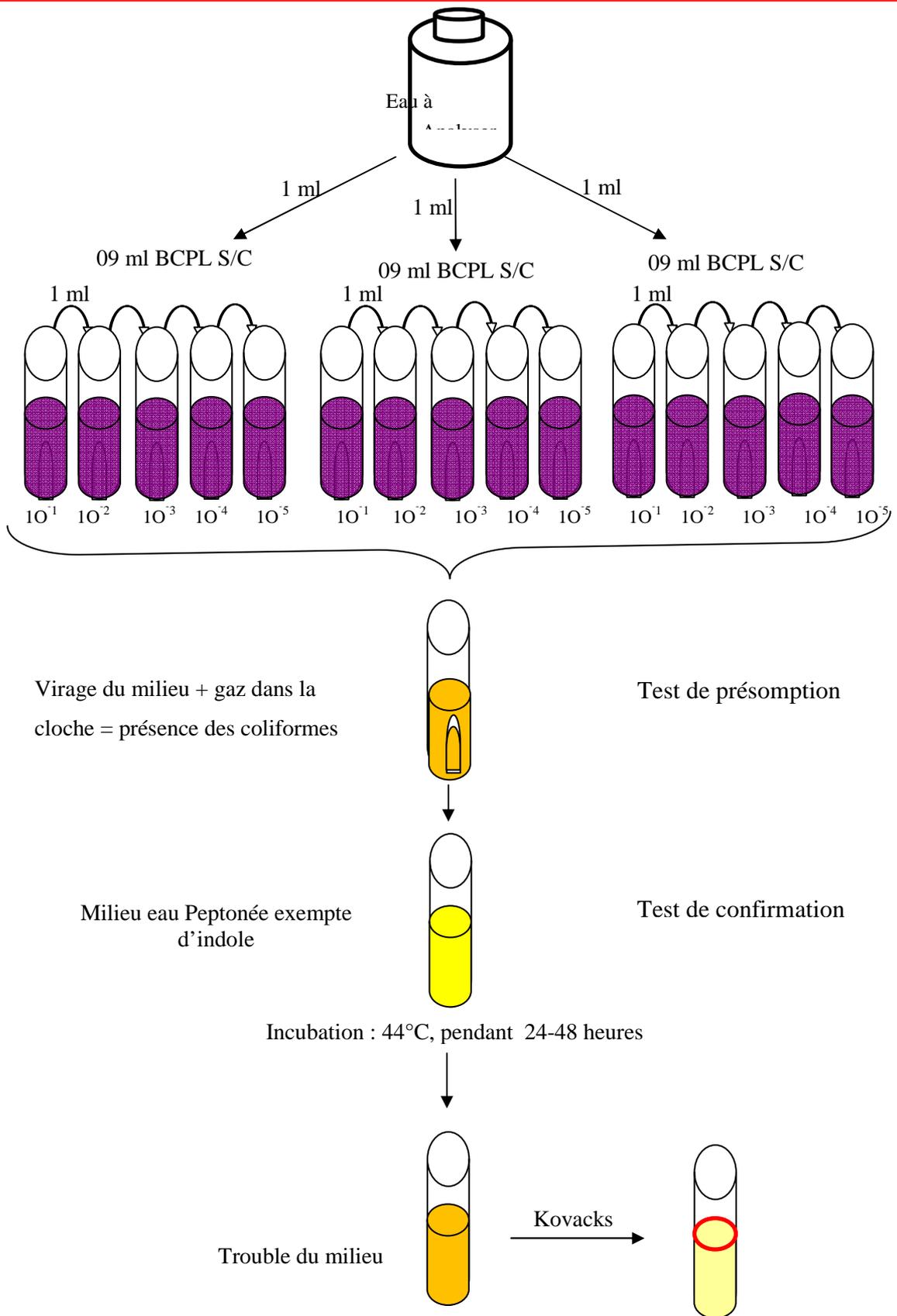
Le test de confirmation est basé sur la recherche de coliformes thermo tolérant parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

A partir de chaque tube de BCPL positif, ensemercer deux ou trois gouttes dans un tube contenant le milieu Eau Peptonée Exempte d'Indole.

L'incubation se fait à  $44^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  pendant 24 - 48 h.

✓ **Lecture :**

L'addition de 1ml de réactif Kovacks donne naissance à un anneau rouge et la lecture se fait selon les prescriptions de la table du NPP.



**Fig. 2.3** : recherche et dénombrement du coliforme thermo-tolérant

### 6.2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux : (fig.2.4)

Les dénombrements des streptocoques fécaux sont rarement effectués indépendamment des dénombrements des coliformes et coliformes fécaux, les méthodes sont identiques seul les milieux sont différentes (Rodier, 1996).

Les streptocoques fécaux ou de groupe « D » sont des bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chainettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe « D » (Galaf, 2003). Ils sont capables de se développer en 24 à 48h à 37°C sur un milieu sélectif à l'azote de sodium (Labres, 2008).

Les Streptocoques fécaux sont dénombrés en milieu liquide à l'aide de deux bouillons de culture (milieu de Rothe et le milieu Eva Litsky) par la technique du NPP en passant par deux tests consécutifs:

- **Test de présomption** : réservé à la recherche des streptocoques en utilisant le milieu Rothe.
- **Test de confirmation** : réservé à la confirmation réelle des streptocoques du groupe (D) en utilisant le milieu Eva Litsky.

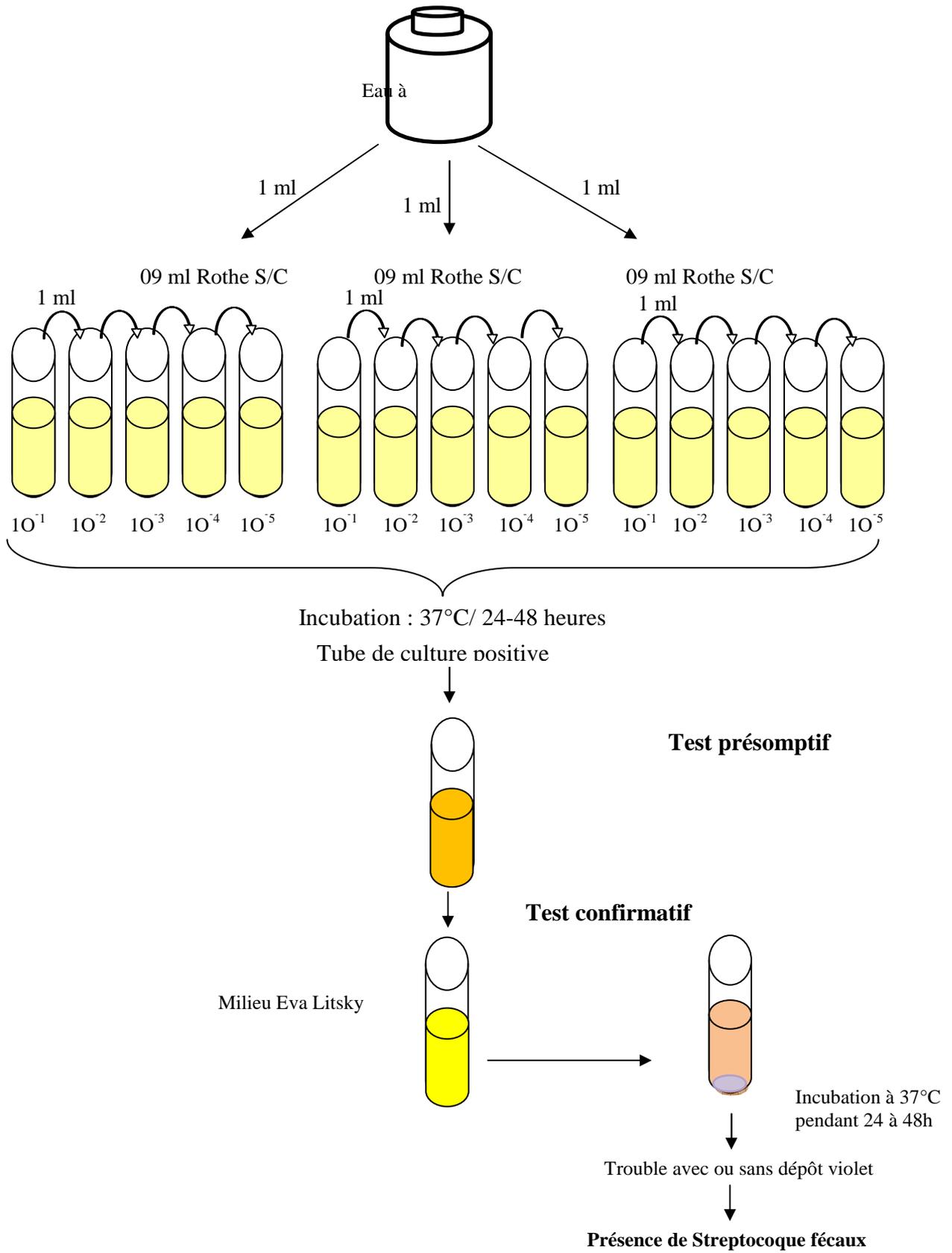
#### ➤ **Mode opératoire :**

##### **a. Test de présomption :**

- A partir de l'eau à analyser bien homogénéisé, porter aseptiquement 1ml dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution  $10^{-1}$ .
- Prélèvement 1ml de tube précédent  $10^{-1}$  et mettre dans le second tube Rothe pour avoir la dilution  $10^{-2}$ .
- Refaire la technique 5 fois pour avoir 5 tubes de Rothe, et refaire 2 autres séries.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

##### ✓ **Lecture :**

Les tubes présentant une tourbe microbienne pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test de confirmation.



**Fig. 2.4 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux**

**b. Test confirmatif :**

Dans le but de la confirmation des streptocoques du groupe (D) éventuellement présents dans le test de présomption le test de confirmation est réalisé.

Après agitation des tubes positifs, prélever sur chacun d'eux successivement quelques gouttes de pipette pasteur et les reporter dans des tubes contenant le milieu Eva litsky. Incubation pendant 24 à 48h dans une température de 37°C.

✓ **Lecture :**

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

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP.

**6.2.4. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs : (fig.2.5)**

Les bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram +, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose VF en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de  $\text{Fe}^{2+}$  donne  $\text{FeS}$  (sulfure de fer) de couleur noire. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (Labres, 2002).

➤ **Mode opératoire :**

Après l'avoir homogénéiser soigneusement, introduire 25 ml d'eau à analyser dans un tube stérile et placer celui-ci dans un bain d'eau à 80°C pendant 10 minutes dont le but de détruire toutes les formes végétatives des CSR éventuellement présentes.

Puis refroidir rapidement sous l'eau de robinet et répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes stériles, à raison de 5 ml par tube.

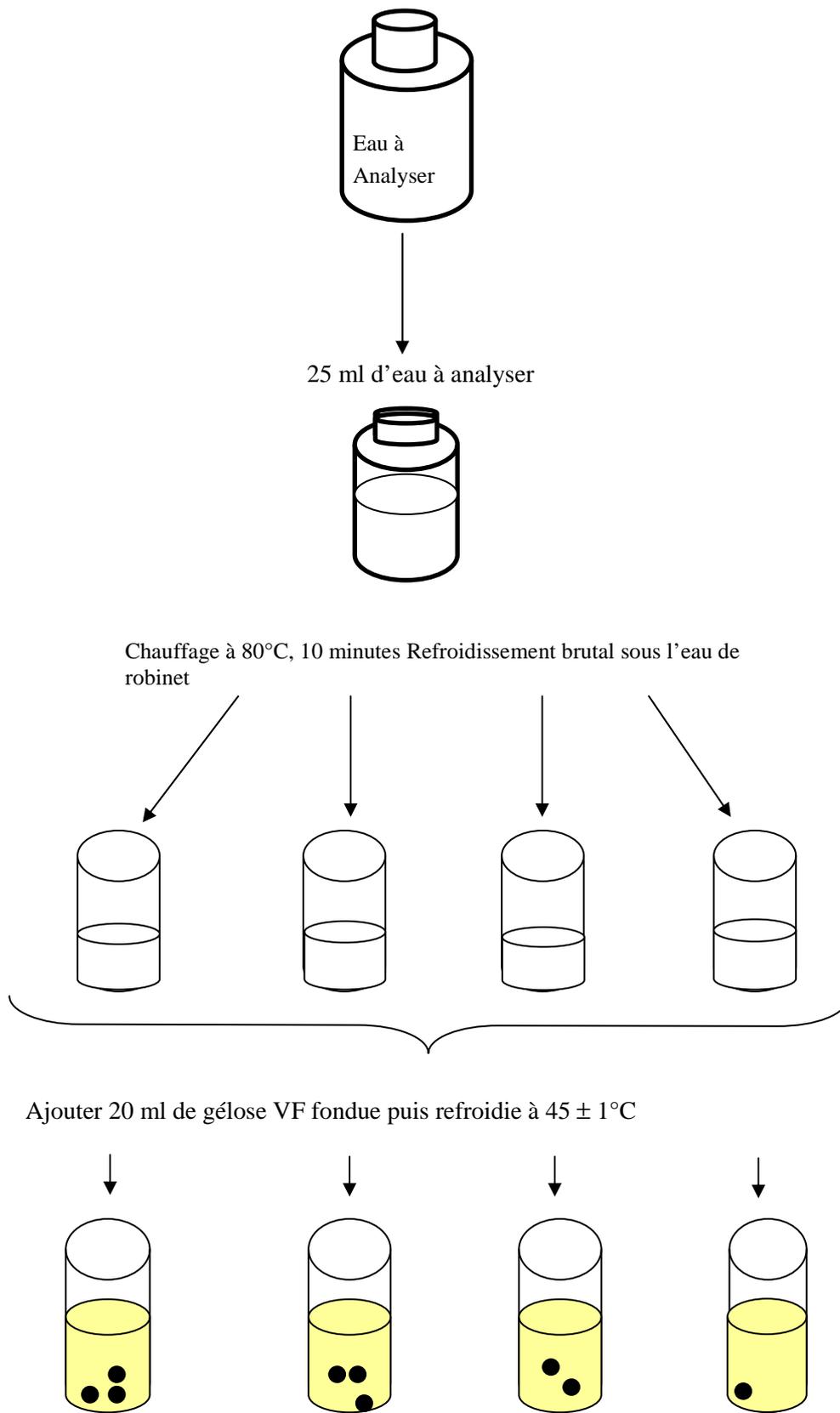
Ajouter environ 20 ml de gélose Viande Foie, fondue, puis additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium, a fin de refroidie à  $45\pm 1^\circ\text{C}$ .

Mélanger doucement sans incorporer de bulles d'air.

Laisser solidifier sur la pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C pendant 24 à 48 h.

✓ **Lecture :**

Considérer comme résultat d'une spore de bactérie (ASR) toute colonie noire entourée d'un halo noir. Exprimer le résultat en nombre de spore par 20 ml d'eau à analyser.



**Fig.2.5.** Recherche et dénombrement des ASR

### **6.3. Recherche bactérien et isolement des germes pathogènes :**

#### **6.3.1. Recherche bactériologique :**

##### **6.3.1.1. Méthode d'ensemencement sur gélose :**

Les milieux utilisés afin d'isoler les microorganismes sont : La gélose nutritive qui est un milieu ordinaire permettant à la culture de la majorité des bactéries, Mac Conkey, Hektoen, Salmonelles-Schigelles (SS) qui sont utilisés pour l'isolement des bactéries Gram (-) (les Entérobactéries) et le Chapman qui est un milieu sélectif pour les bactéries Gram (+) halophiles autrement dit les staphylocoques ou les microcoques et empêcher la croissance des germes Gram négatif.

##### **-Principe :**

On stérilement prélevé avec une anse de platine un inoculum de l'échantillon bien homogénéisé puis nous avons déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface. Les boîtes sont codées puis incubées à 37°C pendant 24-48 heures.

La non utilisation des glucides présents dans le milieu nous informe que le milieu contient des entérobactéries pathogènes.

##### **6.3.1.2. Isolement et purification des souches :**

Sur les géloses Mac Conkey, Hektoen, Chapman, gélose Nutritive, qui sont mises en culture, nous avons choisi les colonies suspects ou désirées et les repiqué dans des nouvelles boîtes gélosés afin de vérifier la pureté des souches. Ces milieux gélosés sont ensemencés sur la surface par stries et incubés à 37°C pendant 24 heures.

### **6.3.2. Isolement des germes pathogènes :**

#### **6.3.2.1. Recherche des *Salmonella*: (fig. 2.6)**

Les *Salmonella* sont des entérobactéries qui se présentent sous forme de bacilles Gram (-), ne fermentant pas le lactose mais du glucose avec production de gaz et de H<sub>2</sub>S.

➤ **Mode opératoire :**

L'isolement des *Salmonella* se réalisent en passant par deux étapes d'enrichissement.

• **Premier Enrichissement :**

Il s'effectue sur le milieu de Sélénite - Cystéiné D/C réparti à raison de 100 ml par flacon. Ce dernier sera doncensemencé à l'aide de 100 ml d'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

• **Deuxième enrichissement et Isolement :**

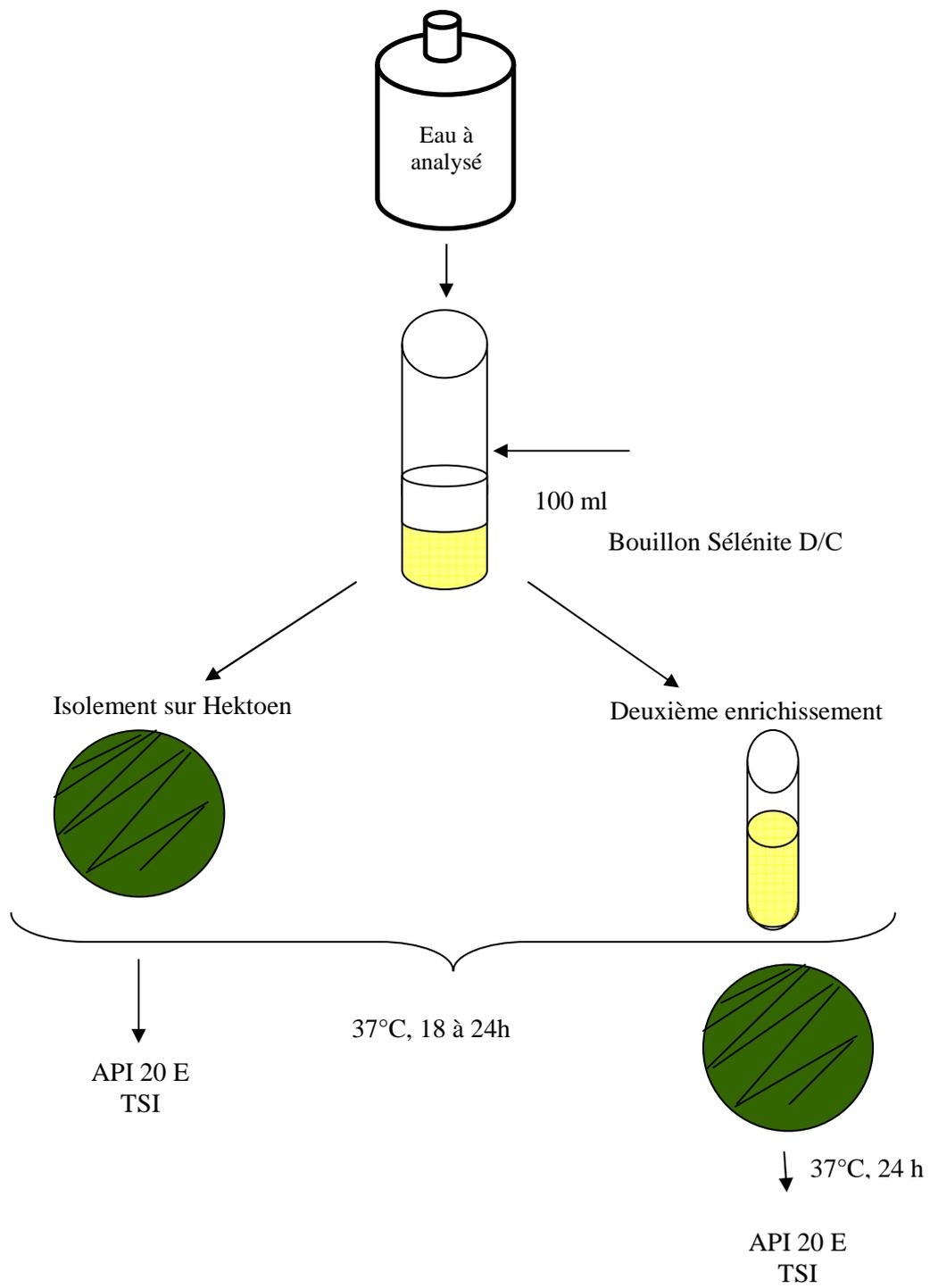
Ce flacon fera l'objet d'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu Sélénite en tubes à raison de 0,1 ml et d'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoén. L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 h.

➤ **Lecture des boites et Identification :**

Le tube de Sélénite fera l'objet d'un isolement, alors que, la boite de gélose Hektoén subira une lecture en tenant compte que les *Salmonella* se présentent sous forme de colonies de couleur gris bleu à centre noir.

Ces colonies de *Salmonella* obtenu seront subir une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

- Ensemencement d'un tube de Kligler-Hajne ou TSI qui sera incubé à 37°C, 24h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H<sub>2</sub>S).
- Identification biochimique par l'API20E.



**Fig. 2.6.** Recherche des *Salmonella*

### 6.3.2.2. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

#### ◆ Isolement :

Sur milieu sélectif King A et King B, on réalise l'isolement directe des *Pseudomonas aeruginosa* qui seront coulés dans des boîtes de Pétri stérilisés. Nous ensemençons une anse de platine d'eau à analyser par stries à la surface de la gélose.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

#### ◆ Confirmation :

- **Recherche de la pyocyanine** : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.
- **Recherche de la pyoverdine** : présente une teinte vert fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B.
- 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.

### 6.3.2.3. Recherche des *Staphylocoques* :

Les *Staphylocoques* sont des cocci à Gram (+), très répandus dans la nature (air, eau, sol) vivent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux.

Le genre *Staphylococcus* est constitué de plusieurs espèces dont :

- *Staphylococcus aureus*.
- *Staphylococcus epidermidis*.
- *Staphylococcus saprophyticus*. (Délarras, 2008)

#### ○ Isolement :

#### • Dégradation de mannitol

L'isolement des *Staphylococcus* se fait à l'aide du milieu Chapman, un milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles comme le genre *Staphylococcus*. Ce milieu contient un inhibiteur, fortes concentrations en chlorure de sodium (75g.l), ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* tolérant les fortes concentrations en NaCl. (Joffin et Leyrol, 2001).

Nous avons ensemencé chaque tube du milieu mannitol par piqûre centrale à partir du milieu d'isolement Chapman. La lecture après 24 heures d'incubation.

▪ **Résultat :**

Les colonies mannitol<sup>+</sup> sont entourées d'une auréole jaune.

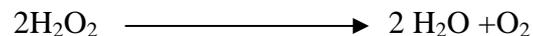
Le milieu Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus* donc des testes de confirmation sont obligatoire.

○ **Les teste de confirmation :**

▪ **Recherche de catalase :**

La recherche du catalase est un test important pour différencier les staphylocoques des streptocoques. Les staphylocoques donnent des réactions positives alors que les autres donnent des réactions négatives.

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygène en eau et oxygène libre et se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



• **Mode opératoire :**

Sur une lame, on dépose une quantité suffisante de culture, prélevé à partir d'un milieu solide et aérobie, et mis en suspension dans une goutte d'eau oxygénée.

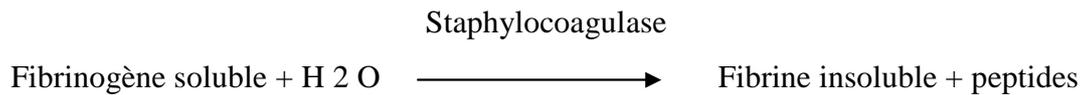
▪ **Résultat :**

Si un dégagement de bille de gaz (oxygène) apparait, le test est dite positif.

▪ **Recherche de la Staphylocoagulase :**

Ce test a pour but de mettre en évidence la pathogénécité d'un staphylocoque. Les staphylocoques pathogènes secrètent une enzyme dite "la staphylocoagulase" qui a la propriété de coaguler le plasma. (Leminor, 1982).

La staphylocoagulase est une enzyme qui permet de catalyser la transformation du fibrinogène (soluble) en fibrine (insoluble) selon la réaction suivante:



Les souches *Staphylococcus aureus* et autre des espèces de staphylocoques animale (*S. intermedius*) provoquent, en 24 heures, la coagulation du plasma oxalaté de lapin, alors que les autres espèces d'origine animale et humaine sont à coagulase négative.

• **Mode opératoire :**

On ensemence un bouillon cœur cerveau à 37°C pendant 24h par des colonies de Chapman, puis en prend 0,1 ml de bouillon cœur cerveau est l'ajouté au plasma de lapin avant de l'incuber à 36±2°C.

Examiner les tubes 2 h, 6 h puis 24 h après.

▪ **Résultat :**

Les résultats du teste est de voir que le coagulum occupe plus de  $\frac{3}{4}$  du volume du liquide initial

#### 6.4. Recherche des levures et des champignons: (fig. 2.7)

Le dénombrement des levures se réalise avec n'importe quel milieu de culture glucosé. Alors que leur isolement peut être pratiqué sur la gélose Sabouraud qui constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des Fungi (levures et moisissures) saprophytes ou pathogènes. Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud avec l'addition du chloramphénicol.

Une grande partie des bactéries est inhibé avec l'addition du chloramphénicol à 0,5 g/L ou de gentamicine à 0,04 g/L, en sélectionnant les levures et les 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.

L'identification des levures est effectuée par une coloration simple entre lame et lamelle sur les cultures en milieu solide, en permettant l'observer des caractères cultureux, la forme (sphérique, ovoïde, allongée) et la taille des colonies.

○ **Isolement :**

• **Technique :**

Étaler 0,5 ml d'eau, en surface du milieu. Incuber à 37°C pendant 24 à 48h, ensuite prolonger l'incubation à la température ambiante du laboratoire.

• **Lecture :**

La lecture se fait au bout de 48 heures, et peut aller jusqu'à 7 jours. Les colonies de *Candida albicans* apparaissent bombées, crémeuses et blanchâtres. Elles sont lisses et peuvent se plisser en vieillissant.

○ **Identification :**

La technique d'identification classique repose sur la blastère : filamentation en sérum, exclusive à l'espèce *Candida albicans*.

• **Mode opératoire :**

Incuber 1 ml de suspension de la souche de levure suspecte avec 1 ml de sérum humain pendant 3 heures à 37°C.

• **Lecture :**

Examiner à l'état frais le mélange : certaines cellules (*Candida albicans*) peuvent présenter un tube de germination en doigt de gant caractéristique sans étranglement à la base, ni séparation, ni membrane visible.

## **7. Identification :**

### **7.1. Caractéristiques morphologiques :**

Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques (Singleton, 1999).

Nous avons noté pour chaque type des colonies distinctes les caractéristiques suivantes:

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

## 7.2. Examen microscopique après coloration de Gram:

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement de bactéries (Dégremont, 1978).

- **Principe :**

La coloration de Gram ou coloration différentielle s'effectue de la manière suivante :

- **Préparation d'un frottis bactérien**, on prélève une colonie bactérienne, à partir de chaque milieu d'isolement, et l'étalé sur une goutte d'eau physiologique déposée sur la lame qu'on a laissé sécher à l'air libre puis fixe par simple passage sur la flamme de bec Bunsen.
- **Coloration par le violet**, chaque frotti fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane, il est ensuite laver rapidement par l'eau courante.
- **Mordantage**, traité durant une minute par la solution de Lugol et laver à l'eau.
- **Décoloration**, en traitant avec l'alcool, C'est une étape critique, on fait couler le solvant sur frottis pendant une à trois secondes puis laver immédiatement à l'eau courante. À ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores, les cellules Gram positives restent violettes.
- **Recoloration**, on soumet le frottis durant trente secondes à une courte coloration par la fuchsine pour recolorer les cellules Gram négatives présentes puis rincer et sécher entre deux feuille de papier buvard propre.
- **Examiner le frottis**, à immersion×100.

- **Lecture:**

Les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet alors que les bactéries Gram négatif sont bien colorées en rose.

## 7.3. Identification biochimique:

### 7.3.1. Galeries biochimiques classiques pour les coliformes :

- **Test du mannitol- mobilité :**

Le milieu utilisé est celui du mannitol –mobilité, faiblement gélosé, utilisé pour les bactéries de fermentation, en fermentant mannitol qui entraînent l'acidification du milieu. Ce milieu permet d'établir la mobilité éventuelle des bactéries par leur diffusion autour de la pique centrale d'ensemencement du milieu.

**Principe:**

Ensemencer le milieu par pique centrale à l'aide d'une anse de platine et incube à 37°C pendant 24 heures.

### **Lecture:**

- Virage de milieu en jaune dit que mannitol <sup>+</sup>.
- Milieu rouge : mannitol - .

### ○ **L'utilisation de citrate de Simmons :**

Ce test permet d'établir l'utilisation du citrate comme une seule source de carbone pour les bactéries qui possèdent l'enzyme citrate perméase, en provoquant l'alcalinisation du milieu utilise.

Le milieu citrate de Simmons permet de mettre en évidence ce caractère, ainsi qu'il possède un indicateur de pH « le bleu de bromothymol » dont il vire vers la couleur verte (à pH acide) et en bleue (à pH alcalin).

À partir d'une suspension de la culture solide (gélose Mac Conkey ou gélose nutritive), on réalise l'ensemencement en ligne centrale sur le milieu de Simmons et incubé à 37°C.

Le virage de l'indicateur de pH au milieu traduit qu'il y a eu une alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons<sup>+</sup>.

### ○ **Test au rouge de méthyle (RM) :**

C'est un test qualitatif a pour but de distinguer les Entérobactéries fortement productrices d'acides (RM+) et celle qui sont faiblement productrices (RM-), par l'acidification finale d'un milieu peptone tamponné au phosphate après fermentation du lactose.

Après une addition de deux à trois gouttes du rouge de méthyle, la lecture est instantanée et le « RM+ » si la teinte rouge ou « RM- » si la teinte jaune.

### ○ **Recherche de l'acétone**

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

### ○ **Le test de Voges-Prauskaer (VP) :**

Ce test détecte la capacité de synthèse de l'acétoïne par un microorganisme, (acétyl méthyle carbino) qui est un métabolite spécifique intermédiaire de la fermentation butandiolique (VP+) caractéristique de certaines Entérobactéries.

L'acétoïne réagit avec le réactif VPI (soude ou potasse) pour former le diacétyle qui va réagir avec le groupe guanidine de l'arginine, après addition du VP11, pour former un complexe coloré en rose.

### **Principe et lecture:**

Après qu'on ajoute 10 gouttes de  $\alpha$  naphthol et le même volume de soude concentré (ou de potasse), on doit incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation.

Au bout de 30 minutes, l'apparition du couleur rouge traduit une réaction dite le VP<sup>+</sup>, alors que le couleur jaune traduit une réaction dite le VP<sup>-</sup>.

### o **Etude de la dégradation du glucose, saccharose et lactose en milieu TSI :**

Le milieu triple Sagar iron (TSI) est utilisé pour l'identification rapide des entérobactéries, et permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, du lactose, du saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et la production de gaz (CO<sub>2</sub>) (Bugnicourt, 1983).

### **Principe:**

L'ensemencement de milieu s'effectue par stries au surface tout le long de la pente, puis par piqure centrale au niveau de culot. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

### **Lecture:**

Si les bactéries utilisent le glucose, le culot se colore en jaune, alors que si elles utilisent le saccharose et le lactose c'est la pente qui se colore en jaune. La production du gaz se traduit par la formation de bulles de gaz ou soulèvement de la gélose alors que la production d'H<sub>2</sub>S se traduit par un noircissement du milieu.

### o **Le test de l'uréase :**

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO en dioxyde de carbone et ammoniac qui se lient entre eux pour donner composé alcalin c'est le complexe du carbonate d'ammonium.

La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation d'un contenant de l'urée en utilisant le milieu urée indole.

### **Principe:**

À partir d'une culture Hektoen, une suspension dense des bactéries a été réalisée pour étudier dans 0.5ml de milieu urée-indole. On incube à 37°C durant 12 à 18h.

**Lecture:**

**Uréase positive :** virage de l'inducteur du jaune au rouge violacé en raison de l'alcalinisation du milieu ce qui indique que les bactéries ont utilisé l'urée.

**o Le test de l'indole :**

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seules les bactéries indologues permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole. Ce dernier va réagir avec le réactif de Kowacs (acide nitrique nitreux) pour former un anneau rouge surnageant (nitrosé indole).

**Principe:**

Nous avonsensemencé un tube d'eau Peptonée d'indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif Kowacs en assurant une légère agitation des tubes.

**o Le test de réduction du nitrate :**

En pratiquant ce test pour détecter le nitrate réductase, dans un organisme, qui est une enzyme capable de réduire le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ).

**Principe:**

Nous avonsensemencé le bouillon nitraté et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation nous ajoutons deux gouttes du réactif nitrate réductase I (solution naphthol a 6% dans l'alcool a 60%).

**Lecture:**

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

Si le milieu reste incolore, on a deux éventualités :

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

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

**o La recherche de l'enzyme tryptophane désaminase (TDA) :**

L'enzyme TDA agit sur l'acide amine tryptophane en formant l'acide indole pyruvique qui va donner une coloration brun rouge après l'addition du perchlorure de fer.

**Principe:**

On ensemence le milieu urée –indole avec une suspension épaisse des bactéries. Après 02h d'incubation à 37°C. Nous avons ajouté deux gouttes du réactif TDA (perchlorure de fer).

**Lecture:**

- **TDA<sup>+</sup>** : coloration brune-rouge avec présence d'un précipité.
- **TDA<sup>-</sup>** : coloration jaune orangé.

**o La recherche de l'enzyme B –galactosidase (test de l'ONPG) :**

La recherche de B-galactosidase ou test ONPG permet de détecter l'enzyme B-galactosidase capable de scinder la molécule du lactose positive après leur pénétration dans la cellule bactérienne en glucose et galactose.

À l'aide d'un analogue structural du lactose, l'ONPG (orthonitrophenyl B-D-galactoside), la présence de B-galactosidase est mise en évidence. Cette analogue diffuse librement à l'intérieur des bactéries et sera dégradé par B -galactosidase en galactose et en orthonitrophénol. Ce dernier donne une couleur en jaune citron lors de sa libération dans le milieu (réaction positive).

**Principe:**

On prépare une suspension dense d'une culture de bactérie prélevée sur un milieu Hektoen puis on ajoute un disque ONPG. L'incubation durant 24h à 37°C.

**Lecture:**

Si la coloration est jaune la réaction dite ONPG+ alors que c'est une réaction ONPG- si pas de coloration.

**o La recherche de l'oxydase :**

Ce test met en évidence l'existence du cytochrome oxydase qui est un enzyme caractéristique d'un métabolisme respiratoire aérobie spécifique de la réduction de l'oxygène moléculaire. En réalisant cette recherche l'aide d'un disque oxydase constitué de l'oxalate de diméthyle puruphenylene diamine. À l'état réduit, ce disque est incolore alors qu'il est en couleur rouge à l'état oxyde.

**Principe:**

Sur une lame, on dépose un disque oxydase imbibé d'eau physiologie puis on ajoute la colonie de bactérie à étudier.

**Lecture:**

Les bactéries oxydases positives donnent une coloration violette au disque en quelques minutes.

**7.3.2. Galeries d'API 20 E :**

La galerie API 20 E est un système pour l'identification des Enterobactériaceae et d'autres bacilles Gram (-), utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, 8 tests conventionnels et 12 d'assimilation.

**➤ Principe:**

C'est une galerie multi-tests, formée de 20 de cupules contenant un milieu de culture spécifique déshydraté, correspondant à l'identification d'un caractère métabolique. Il permet en totalité d'étudier ces caractères biochimiques avec plus de fidélité.

Avec cette galerie plus performante, l'identification est considérée comme acceptable au de la d'un degré de probabilité de 80% et une signification statistique d'autant plus grande que l'on se rapproche des 100%.

**➤ Mode opératoire:**

L'opération s'effectuée 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 crée une atmosphère humide.
- Remplir tubes et cupules des tests : |CIT|, |VP|, |GEL|, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur, cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 18-24 heures.

**➤ Lecture:**

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

- **Le test VP** : la lecture se fait 10mn après de l'addition d'une goutte de reactifs VP1 et VP2.
- **Le test TDA** : la lecture se fait immédiatement après l'ajout de réactif TDA.
- **Le test IND** : la lecture se fait 2mn après de l'addition d'une goutte de réactif de Kowacs. Le non formation d'anneau rouge indique une réaction négative.

Imprimez la fiche de lecture API 20 E, traduisez les résultats de chaque caractère par (+ ou -), les réunir en un profil numérique de 07 chiffres qui sera ensuite identifié à l'aide du catalogue API20E.

### **8. Les analyses statistiques:**

Les données pour toutes les résultats obtenus sur les germes totaux et les germes témoins d'une contamination fécales ont été regroupés dans des matrices pour effectuer les analyses statistiques afin de conclure l'effet de la saison sur les effectifs obtenus lors du dénombrement des germes totaux, coliformes fécaux et les streptocoques fécaux.

En première partie des analyses statistiques, la relation entre les effectifs des groupes bactériennes dénombrées et les saisons a été étudiée en utilisant une analyse de la variance à un seul critère de classification où l'effectif est considéré comme facteur fixe selon les saisons qui sont des covariables. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel biostat 2008

En deuxième partie des analyses, par l'utilisation du logiciel ADE 4 (Chessel et Doledec, 1992) nous avons réalisé des analyses factorielles des correspondances sur les données concernant les dénombrements de l'année des coliformes totaux, coliformes fécaux et les streptocoques fécaux

# *Chapitre III*

Dans les milieux aquatiques, l'étude biologique des eaux est importante car les micro-organismes ont un rôle essentiel dans l'évolution et la structure des zones humides.

Après une série des analyses bactériologiques sur les échantillons d'eau prélevée, nous avons obtenu des résultats qui sont exprimés par des tableaux et des graphes présentant les différentes variations des paramètres indicatrices de la pollution, soit:

- Les germes totaux
- Les germes fécaux
- Les streptocoques fécaux
- Les anaérobies sulfite-réducteurs

### 1. Résultats des dénombrements des micro-organismes dans l'eau :

Les résultats des dénombrements de germes totaux (GT), des coliformes totaux (CT), des coliformes fécaux (CF), des streptocoques fécaux (SF) et des Bactéries anaérobies sulfite-réductrices dans l'Oued Messida représentés pour les quatre points de prélèvement sont exprimés comme suit :

#### 1.1. Les germes totaux :

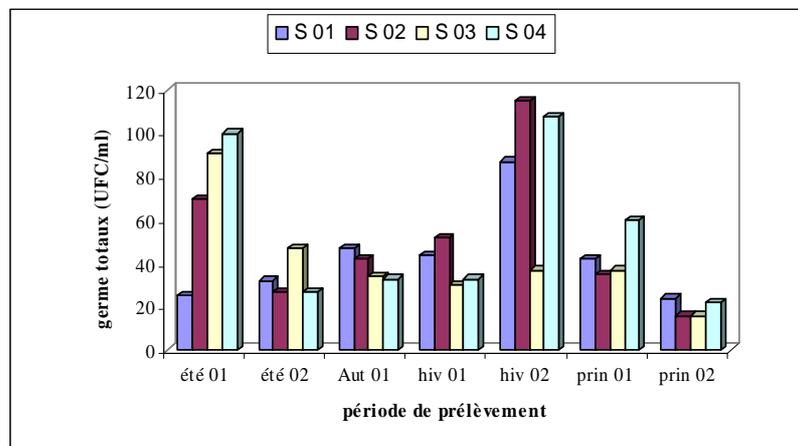
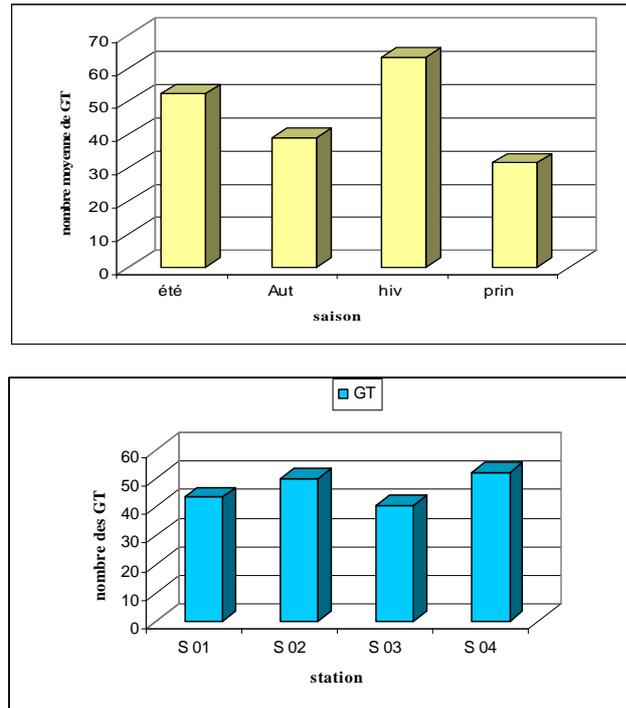


Fig.3.1 : Évolution du nombre des germes totaux (37°C)

Les résultats des dénombrements des germes totaux durant notre période d'étude (Fig.3.1) nous montrent un nombre important de la flore totale isolée dans les quatre points de prélèvement, avec un maximum enregistré dans les stations (S 02 et S 04) qui avoisine 120UFC/ml, et le minimum a été noté au niveau des stations (S 02 et S03) avec un nombre de 16UFC/ml.



**Fig.3.2** : Variation du nombre des germes totaux

Durant une année d'étude, avons noté une variation importante du nombre moyen des germes totaux en fonction des différentes saisons. La comparaison entre le nombre moyen des germes totaux, illustré dans la figure (Fig.3.2) montre dans l'ensemble ; que le canal Messida relève une contamination biologique pendant toute l'année avec des concentrations qui diffèrent d'une saison à une autre.

On note que le taux le plus bas a été enregistré durant le Printemps. Cette diminution du nombre peut être due à l'abaissement du niveau de l'eau durant cette période ce qui diminue les apports venant du Lac Tonga vers la Méditerranée et augmente l'entrés de l'eau à partir de la mer vers le lac. Le taux le plus élevé a été noté durant l'Hiver. Pendant cette période le niveau de l'eau était élevé après la chute de pluie ce qui augmente les apports venant du lac.

De point de vue nombre des bactéries, la station S 04, la plus proche du Lac Tonga renferme le nombre le plus élevé.

## 1.2. Recherche et dénombrement des germes témoins d'une contamination fécale :

### 1.2.1. Les coliformes totaux :

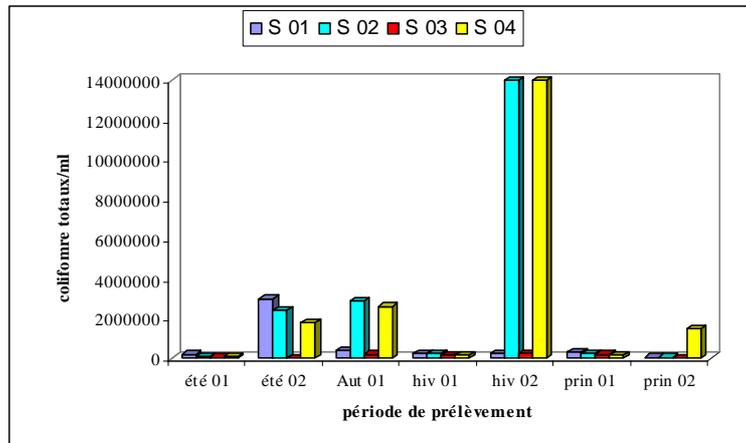


Fig. 3.3 : Évolution du nombre des coliformes totaux

La recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait constituent des indicateurs de première importance (Duffour, 1977).

Les résultats de dénombrement des coliformes totaux représenté par le graphique, nous montre que la teneur en coliformes totaux varie d'une station à l'autre et d'une saison à l'autre. Les valeurs obtenues sont supérieures à la valeur indiquée pour les eaux potables qui est 10 CT/100ml (OMS, 1994). Le taux le plus élevé est cependant noté pendant la fin de l'hiver (hiv 02), avec un nombre maximum enregistré de  $(140 \cdot 10^5 \text{ UFC/ml})$ . Le taux le plus faible a été enregistré pendant le printemps (prin 02), dont le nombre est de  $(45 \cdot 10^2 \text{ UFC/ml})$ .

Ces résultats sont aussi différents d'une station à l'autre. Les stations (S 02 et S04) sont caractérisées par une forte concentration de coliformes totaux. Le taux le plus bas  $(4.5 \cdot 10^3 \text{ UFC/ml})$  a été enregistré au niveau de la station (S 03).

### 1.2.2. Les coliformes fécaux :

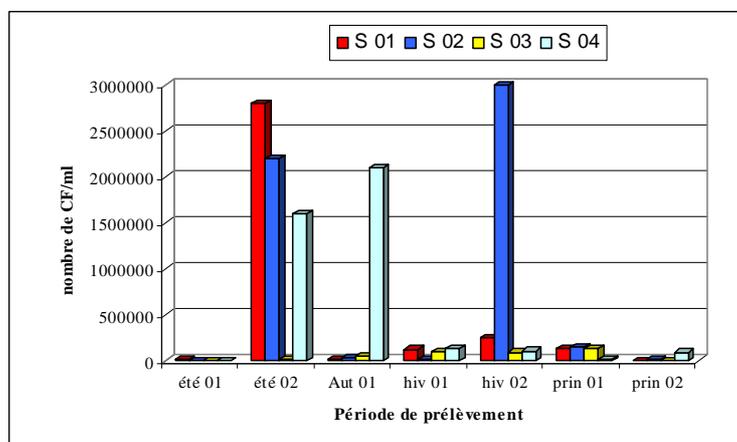
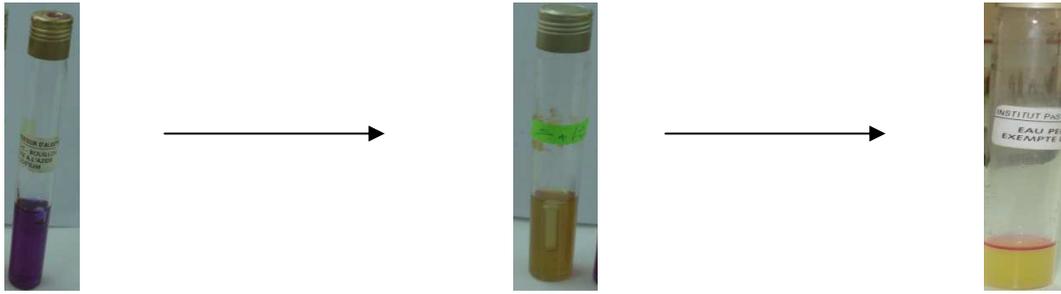


Fig. 3.4 : Évolution du nombre des coliformes fécaux

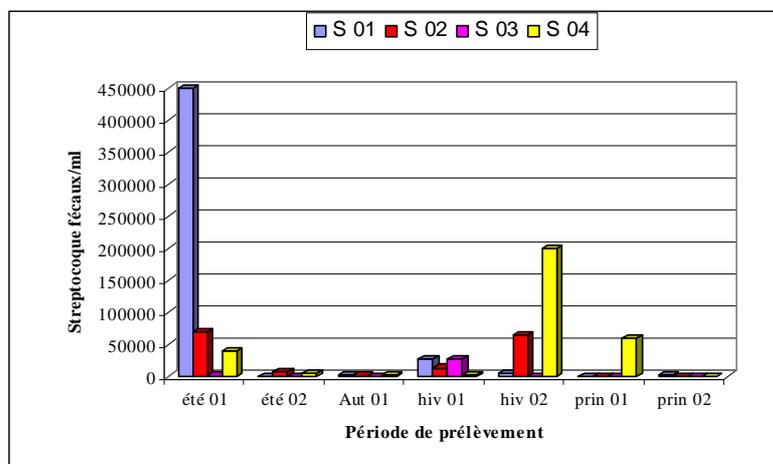


**Fig. 3.5 :** Résultat de la recherche des coliformes totaux dans les eaux d'Oued Messida.

Le taux de coliformes fécaux dépasse les normes de l'OMS (0/100ml). Les résultats obtenus nous montrent que la teneur est maximale durant l'hiver (hiver 02), principalement dans la station (S 02) avec un nombre près à  $(30.10^5$  UFC/ml). Le taux le plus bas a été enregistré dans la station (S 02) pendant l'été (été 01) avec un nombre de  $(15.10^2$  UFC/ml).

Cette présence des coliformes d'origine fécale dans notre site d'étude et observé avec des valeurs qui dépassent les normes et confirme la présence d'une contamination fécale et d'une pollution biologique de l'écosystème étudié.

### 1.2.3. Les streptocoques fécaux :



**Fig. 3.6 :** Évolution du nombre des streptocoques fécaux



**Fig.3.7 :** Résultat de la recherche des streptocoques fécaux.

Les streptocoques fécaux sont des excellents indicateurs d'une contamination fécale récente par la matière fécale des animaux (Rodier, 1996). Les valeurs obtenues pour les quatre stations sont supérieures à celles citées pour les eaux potables et pour l'irrigation (1000SF/100ml).

La concentration maximale en Streptocoques fécaux a été enregistrée au niveau du point de prélèvement (S 01) durant l'été avec un nombre qui avoisine à  $(45.10^4$  UFC/ml). Tandis que les valeurs les plus faibles ( $0.2.10^3$  UFC/ml) ont été notées pendant l'automne et de l'été dans la station (S 03).

#### 1.2.4. Les Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) :

Les spores Anaérobies sulfito-réducteurs sont considérées comme des indices d'une contamination ancienne. Ils sont plus résistants que les formes végétatives des coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, en permettant de déclarer une contamination fécale.

Les résultats négatifs obtenus pendant notre période d'étude déduisent l'absence de genre sulfito-réducteur *Clostridium sp.* responsables de botulisme et de tétanos.

Tab.3.1 : Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).

	Eté	Automne	Hiver	Printemps
S 01	-	-	-	-
S 02	-	-	-	-
S 03	-	-	-	-
S 04	-	-	-	-

#### 1.2.5. La variation saisonnière du nombre des germes témoins d'une contamination fécale :

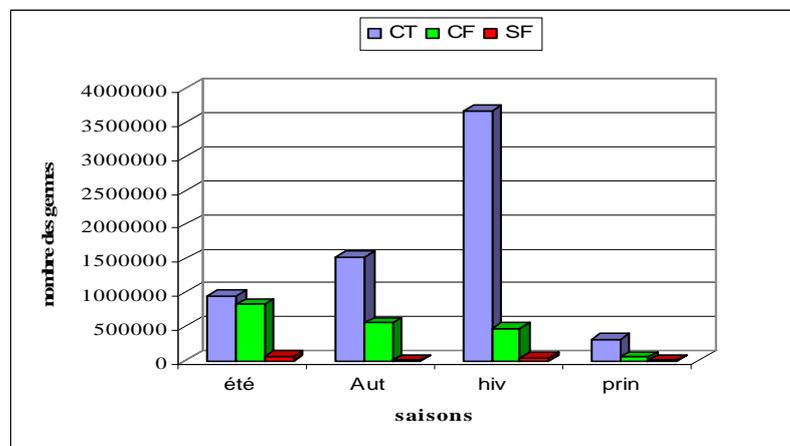


Fig. 3.8 : Variation saisonnière des germes témoins d'une contamination fécale

La comparaison des résultats du nombre moyen des germes témoins d'une contamination fécale, illustré dans la figure (Fig.3.8), sur la base du contenu en coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoque fécaux montre que la charge bactérienne varie de manière importante selon les saisons. La charge la plus élevée a été notée pendant la saison la plus froide (hiver), alors que la charge la plus basse a été enregistrée durant le printemps. Ces résultats peuvent être dus au mouvement du courant au niveau du canal. Pendant l'hiver et en raison de la pluviométrie élevée l'eau coule du lac vers la mer ce qui augmente les apports en microorganismes vers le canal Messida à partir du Lac Tonga qui héberge un effectif élevé d'espèces animales. Le site est aussi alimenté par des différents Oueds liés à des installations septiques des différentes communes localisées dans le bassin versant du lac. Pendant le printemps la diminution des précipitations et l'abaissement du niveau d'eau dans l'Oued s'affaiblissent les apports en microorganismes.

La concentration en Streptocoques fécaux est toujours est plus faible que celle des coliformes totaux et des coliformes fécaux vérifiant les résultats trouvées sur d'autres sites lotiques (Fernandez-Alvarez et al., (1991); Chahlaoui, (1996), Hunter et al., 1999 ; Charchar, 2009).

### 1.2.6. Le rapport CF/SF:

Selon la classification adoptée par Borrego et Roméro 1982, ( Amor Abda, 2010) :

**Tab. 3.2:** Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale

<b>Rapport CF/SF</b>	<b>Observation</b>
$r < 0.70$	entièrement d'origine animale
$0.7 < r < 1$	mixte à prédominance animale
$1 < r < 2$	d'origine incertaine
$2 < r < 4$	mixte à prédominance humaine
$r > 4$	source exclusivement humaine

**Tab. 3.3 :** Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale

<b>Station</b>	<b>Rapport CF/SF</b>	<b>Observation</b>
S 01	0.15	entièrement d'origine animale
S 02	0.03	entièrement d'origine animale
S 03	0.1	entièrement d'origine animale
S 04	0.08	entièrement d'origine animale

Le rapport CF/SF trouvé pour le canal de Messida nous montre que la contamination est surtout d'origine animale.

### 1.2.7. Indice de qualité microbiologique (IQM) :

Comme pour toutes analyses, il est possible de calculer, pour les cours d'eau, un indice de qualité bactériologique à partir du dénombrement de différents germes associés à la pollution organique dont les principaux sont les germes témoins d'une contamination fécale.

#### 1.2.7.1. Calcul de l'indice de qualité microbiologique :

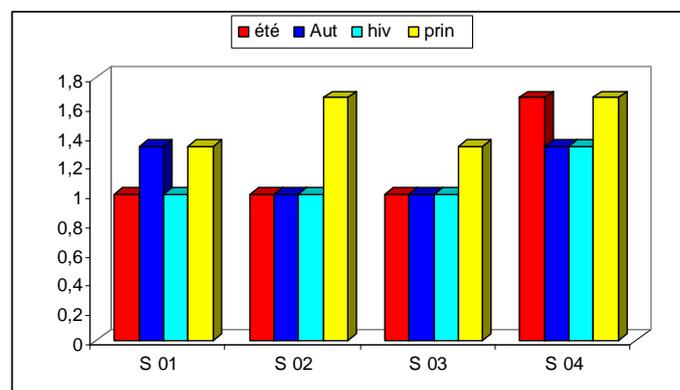
En 1980, les chercheurs Bovesse et Depelchin ont établi les limites des classes dans les tableaux qui suivent :

**Tab. 3.4 :** répartition des classes de l'IQM

La classe	CT/ml	CF/ml	SF/ml
5	<2000	<100	<5
4	2000-9000	100-500	5-10
3	9000-45000	500-2500	10-50
2	45000-360000	2500-20000	50-500
1	>360000	>20000	>500

**Tab. 3.5:** Calcul de l'IQM

IQM	Contamination fécale
4,3-5,0	nulle
3,5-4,2	faible
2,7-3,4	modérée
1,9-2,6	très forte
1,0-1,8	très accentuée



**Fig. 3.9:** Variation saisonnière de l'indice de qualité microbiologique

L'indice de la qualité microbiologique calculé pour les quatre points de prélèvement donne une moyenne annuelle de 1.22, avec un maximum de 1.66, noté durant le printemps et l'été, et un minimum de 1 marquant l'automne et l'hiver. Ainsi la station (S 04) est la plus contaminée. Mais d'une manière générale, les résultats obtenus traduisent une pollution très accentuée du canal Messida.

## **2. Résultats de l'identification des souches :**

### **2.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram :**

Dans le but de purifier les différentes bactéries isolées sur les milieux préférentiels et identifier leurs caractères morphologiques nous avons réalisé des repiquages successifs des souches.

Le tableau (3.6) résume les résultats obtenus après examen morphologique et cytologique qui nous ont montré que les bâtonnets Gram négatif sont plus représentatifs que les cocci Gram positive.

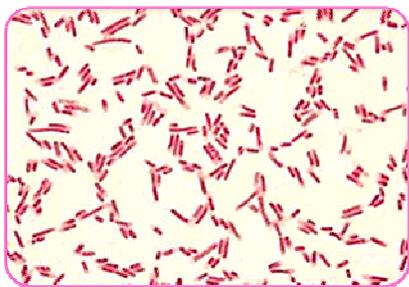


Fig. 3.10 : Bâtonnets gram négatif

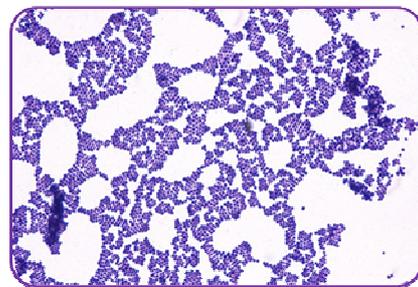


Fig.3.11: cocci gram positive

**Tab. 3.6 :** Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées de l'eau d'Oued Messida

<b>Gélose</b>	<b>Observation macroscopique</b>	<b>Observation microscopique</b>
<b>Gélose nutritive (GN)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Circulaire, lisse, plate, brillante transparente, de 1 à 2 mm de diamètre.</li> <li>- Irrégulière, lisse, plate, jaune 1 mm de diamètre.</li> <li>- Bambée, lisse, brillante, à contour régulier, de couleur jaune.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles isolés, regroupe ou en chaînettes, Gram négatif.</li> </ul>
<b>Milieu Chapman</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche.</li> <li>- Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les couloires au jaune brillant.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cocci groupés en amas, en paires, Gram positif.</li> </ul>
<b>Gélose Hektoen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vertes ou bleuâtres, circulaire, ondulés, bossue, rigoureuse, transparente légèrement blanchâtre.</li> <li>- jaune saumon, bambée, lisse, 1 mm de diamètre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles isolés, Gram négatif.</li> </ul>
<b>Gélose Mac Conkey</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Circulaire, ondulés, bossue, rigoureuse, transparente légèrement blanchâtre.</li> <li>- Rose clair, bambée, lisse, brillante circulaire, 1 mm de diamètre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles isolés, Gram négatif.</li> </ul>
<b>Gélose SS</b>	<b>Négatif</b>	<b>Négatif</b>

## **2.2. Résultats de l'identification biochimique :**

L'étude biochimique par utilisation de l'API20E et la galerie biochimique classique nous a permis d'identifier 21 espèces appartenant à 05 familles. La famille des Enterobactériaceae est la plus représentée avec 13 espèces, suivie par les familles des Micrococcaceae et des Pseudomonadaceae (03 espèces pour chacune) et les familles des Vibrionaceae et des Streptococcaceae avec 01 espèce pour chacune. La présence de ces bactéries avec des teneurs assez importantes est la signification d'un risque sanitaire potentiel notamment les maladies gastro-intestinales.

Les résultats de l'identification sont comme suit :

### **2.2.1. La famille des Enterobactériaceae :**

La famille des Enterobactériaceae est composée généralement de bacilles ou de Coccobacilles fermentatifs (fermentation des sucres), à Gram -, partageant un certain nombre de caractères constants:

- Si mobiles, ils possèdent un arrangement péritriches ou flagelle
- Aérobie et anaérobies facultatifs
- Oxydase négative
- Se cultivent sur des milieux ordinaires à base d'extrait de viande, le bleu de méthylène, MacConkey pour les spécimens souillés (crachat, résidus)
- Fermentent le glucose, mais ont des caractéristiques biochimiques différentes
- Non sporulés
- Réduisent les nitrates en nitrite grâce à une nitrate réductase ; (exception rares les mutants).
- Possèdent une catalase, excepté les souches *S. Dysenteriae* du sérotype 1. (Chouder, 2006)

Le tableau (3.7) et les figures (3.14, 3.15, 3.16 et 3.17) présentent les différentes espèces trouvées appartenant à cette famille :

**Tab. 3.7:** Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Enterobactériaceae

Station	Espèce
S 01	<p> <i>Escherichia coli</i>  <i>Escherichia cloacae</i>  <i>Klebsiella oxytoca</i>  <i>Serratia liquefaciens</i>  <i>Serratia marcescens</i>  <i>Proteus mirabilis</i>  <i>Proteus morganii</i>  <i>Acinetobacter baumannii</i>  <i>Enterobacter agglomerans</i>  <i>Edwardsiella sp.</i>  <i>Hafnia sp.</i>  <i>Providencia sp</i>  <i>Morganella sp</i> </p>
S 02	<p> <i>Escherichia coli</i>  <i>Serratia marcescens</i>  <i>Klebsiella oxytoca</i>  <i>Providencia sp</i> </p>
S 03	<p> <i>Escherichia coli</i>  <i>Proteus mirabilis</i>  <i>Serratia marcescens</i>  <i>Edwardsiella sp.</i>  <i>Morganella sp</i> </p>
S 04	<p> <i>Escherichia coli</i>  <i>Serratia marcescens</i>  <i>Enterobacter agglomerans</i>  <i>Providencia sp</i> </p>



Fig. 3.12 : Résultat de la galerie classique pour *E. coli*



Fig. 3.13: Résultat de la galerie classique pour *Klebsiella oxytoca*



Fig. 3.14 : Profil biochimique de la souche *Acinetobacter baumannii*



Fig. 3.15 : Profil biochimique de la souche *Proteus mirabilis*

### 2.2.2. La famille des Micrococcaceae:

La famille des Micrococcaceae de forme sphérique de 0.5 à 3µm de diamètre sont Gram positif, caractérisée par :

- Immobile ou mobile
- Aérobie ou anaérobie facultatifs.
- Toutes les souches poussent sur des milieux contenant du chlorure de sodium
- Non sporulés
- Possèdent un métabolisme respiratoire ou fermentatif et acidifient le glucose sans production de gaz
- Contient du catalase (Le Minor, 1984)

#### 2.2.2.1. Résultats du profil biochimique de *Staphylococcus* :

Les résultats des différents tests effectués sur les staphylocoques sont représenté dans le tableau suivant :

**Tab. 3.8 :** Résultats de profil biochimique des *staphylococcus* :

	Catalase	Coagulase	Mannitol
<i>S. aureus</i>	+	+	+ avec fermentation en anaérobiose
<i>S. epidermidis</i>	+	-	- en anaérobiose
<i>S. saprophyticus</i>	+	-	+ avec oxydation en aérobiose

**Tab. 3.9 :** Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Enterococcaceae :

Station	Espèce
S 01	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>
S 02	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>
S 03	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>
S 04	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>

### 2.2.3. La famille des Pseudomonadaceae:

La famille des Pseudomonadaceae est composée de bactérie de forme des bacilles, Gram négatif, partageant des caractères communs :

- Mobile grâce à des flagelles polaires
- Aérobie strict
- Oxydase négative
- Ne fermentent pas le glucose
- Incapable de fixer l'azote atmosphérique (Le Minor, 1984)

**Tab. 3.10 :** Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Pseudomonadaceae:

Station	Espèce
S 01	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas sp.</i>
S 02	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>
S 03	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S 04	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>



**Fig. 3.16:** profil biochimique de *Pseudomonas fluorescens*.



**Fig. 3.17:** profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 2.2.4. La famille des Vibrionaceae:

La famille des Vibrionaceae est une création bactériologique récente. Elle se compose des bacilles à Gram négatif. Les espèces de cette famille se caractérisent par :

- Mobile avec des ciliature polaire ou mixte ou bien immobile
- Aéro-anaérobie facultatif
- Pousent sur un milieu ordinaire sans exigences particulières
- Oxydase positive
- Réduire les nitrates en nitrites
- Dégrade le glucose par métabolisme fermentatif (Le Minor, 1984)

**Tab. 3.11** : Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Vibrionaceae

Station	Espèce
S 01	/
S 02	/
S 03	/
S 04	<i>Alteromonas sp.</i>

#### 2.2.5. La famille des Streptococcaceae:

La famille des Streptococcaceae est formé de bactéries en forme cocci à Gram négatif, avec des cellules ovoïdes, sphériques ou rarement allongées ou bâtonnets, se divisant dans un seul plan pour former des paires ou plus des chainettes. Cette famille se caractérise par :

- Absence du cytochrome et du catalase
- La fermentation des glucides est homofermentative sans formation de gaz
- Exige les vitamines, les acides aminés, les purines et les pyrimidiques

**Tab. 3.12** : Résultats de l'identification biochimique des espèces de la famille des Streptococcaceae:

Station	Espèce
S 01	<i>Streptococcus sp.</i>
S 02	<i>Streptococcus sp.</i>
S 03	<i>Streptococcus sp.</i>
S 04	<i>Streptococcus sp.</i>

## 2.3. Identification des levures et des champignons :

### 2.3.1. Isolement des levures :

Une seule souche de levure a été isolée par l'utilisation du test de filamentation. L'étude du pouvoir pathogène de l'espèce isolée (*Candida*) s'est avérée négative pour tous les échantillons ce qui implique que les souches isolées ne sont pas pathogènes. Le tableau (3.13) présente les résultats obtenus après le test de filamentation :

Tab. 3.13 : Résultats des tests d'identification des *Candida*

Espèce identifiée	Test filamentation	Gram
<i>Candida</i>	-	Cellules ovalaires ou rondes Gram (+)

### 2.3.2. Isolement des champignons :

Les différentes souches de champignons qui ont été identifiées après une étude macroscopique des deux faces (la face et le revers) des colonies isolées. Cette méthode d'identification reste approximative et nécessite un examen de la vitesse de croissance et une vue microscopique des colonies.

Le tableau (3.14) et les figures (3.20, 3.21 et 3.22) récapitulent les différents caractères macroscopiques des espèces isolées durant notre période d'étude.

Tab. 3.14: Aspect macroscopique des espèces fongiques isolées (Leyral et Joffin, 1998).

Espèces	Aspect macroscopique recto des colonies	Aspect macroscopique verso des colonies
<i>Microsporium canis</i>	Grandes colonies étoilées de couleur blanc puis chamois au centre, aspect soyeux et brillant, rayons fins et longs.	Jaune orangé vif
<i>Aspergillus flavus</i>	Poudreux irrégulier vert-jaune à bronze-vert olive	Incolore à jaunâtre puis brun à rouge foncé.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Velouté, tapis régulier, cotonneux, vert franc puis grisâtre avec l'âge. Quelques souches blanches.	Incolore à jaune puis rouge foncé (en fait très variable).



**Vue de recto**



**Vue de face**

**Fig. 3.18 : *Microsporium canis***



**Vue d**



**Fig.3.19 : *Aspergillus flavus***



**Vue de recto**



**Vue de face**

**Fig. 3.20 : *Aspergillus fumigatus***

### 3. Les analyses statistiques :

#### 3.1. Les analyses de la variance à un critère de classification (ANOVA-1-) :

Dans le but de bien expliqué nos résultats, nous avons réalisé le test de l'analyse de variance à un seul critère de classification (ANOVA -1-) sur les dénombrements des germes totaux et les germes témoins d'une contamination fécale dont on a testé l'effet du facteur de la saison sur le nombre de germes totaux, de coliformes fécaux et de streptocoques fécaux.

Les résultats de l'ANOVA -1- (avec un intervalle de confiance 0.95 et un seuil de signification 0.05) de l'effet du facteur saison sur l'effectif moyen des germes totaux, des coliformes fécaux et les streptocoques fécaux sont présentées dans le tableau (3.15).

**Tab. 3.15** : les résultats de l'ANOVA -1- : effet de la saison sur le nombre des germes totaux, des coliformes fécaux et les streptocoques fécaux.

Source de variation	Df	SS	MS	F calculé	seuil de signification	F
Intergroupes (facteur saison)	3	16 137 672 416 875	5 379 224 138 958,333	2,9125	0.05	3.49
Intra-groupes (effectif GT)	12	22 163 050 667 500	1 846 920 888 958,3333			
total	15	38 300 723 084 375				
Intergroupes (facteur saison)	3	1 241 269 486 250	413 756 495 416,6667	0,8689	0.05	3.49
Intra-groupes (effectif CF)	12	5 714 139 263 750	476 178 271 979,1667			
total	15	6 955 408 750 000				
Intergroupes (facteur saison)	3	11 224 749 218,75	3 741 583 072,9167	1,1231	0.05	3.49
Intra-groupes (effectif SF)	12	39 979 010 625	3 331 584 218,75			
total	15	51 203 759 843,75				

Les analyses de l'ANOVA -1- réalisé sur la relation entre le facteur saison et le nombre des germes totaux trouvé dans le canal Messida, présenté dans le tableau (3.15),

montre que la saison n'a pas d'effet direct sur le nombre de germes totaux dont on a noté que le F calculé est inférieur à celui observé ( $2.9125 < 3.49$ ) ce qui rend l'hypothèse  $H_0$  « la saison n'a pas un effet sur les effectifs des germes totaux » acceptable.

En ce qui concerne les analyses de la variance appliquées sur l'effet de la saison sur l'effectif obtenu après dénombrement des coliformes fécaux, on observe les mêmes résultats trouvés pour le test appliqué sur le nombre des germes totaux. Avec F calculé est toujours inférieur à celui observé dans le table de Fisher-Snedecor ( $0.8689 < 3.49$ ) donc l'hypothèse  $H_0$  « la saison n'a pas un effet sur les effectifs des coliformes fécaux » est acceptable.

De même pour les streptocoques fécaux, les résultats obtenus et présentés dans le tableau (3.15) montre que F calculé est inférieur à celui observé dans le table de Fisher-Snedecor ( $1.1231 < 3.49$ ) donc la saison n'a aucun effet direct sur les dénombrements des SF et l'hypothèse  $H_0$  « la saison n'a pas un effet sur les effectifs des streptocoques fécaux » est acceptable.

### **3.2. L'analyse factorielle de correspondance (AFC) :**

L'analyse statistique multivariée par le biais de l'AFC représenté par le plan factoriel  $1 \times 2$  qui détient 64% de l'inertie (Fig.4.23) nous expose une véritable distribution temporelle de l'occupation du site d'étude par les germes isolés.

Ainsi pendant le début de l'étude, soit le mois de juillet nous observons que les streptocoques fécaux dominant.

Puis à partir du mois d'aout jusqu'à la fin de l'étude, c'est les coliformes totaux et les coliformes fécaux qui sont notées en grand nombre.

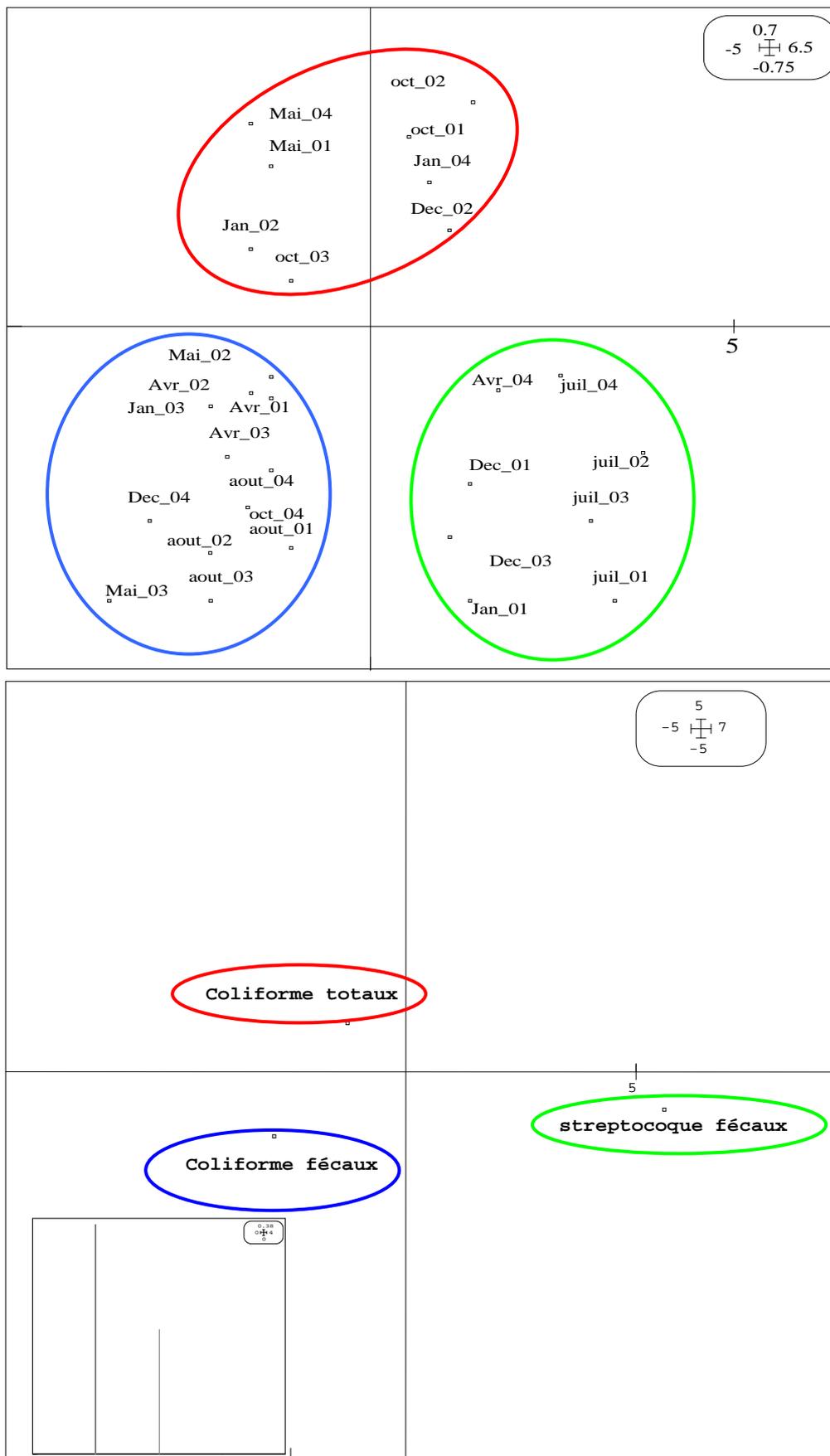


Fig.3.21 : plan factoriel 1x2 de l'AFC

*Conclusion*

La bonne qualité des eaux est un facteur important pour le bon fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Soumise au développement industriel et urbain et à l'utilisation massive de produits chimiques comme les pesticides, les engrais ou les détergents, les qualités naturelles de l'eau sont dégradées et l'intégrité des écosystèmes aquatiques se trouvent perturbés, on parle de pollution de l'eau. Il existe plusieurs sortes de pollutions, très différentes les unes des autres par leurs origines et par leurs conséquences.

Depuis quelques années, la pollution biologique des eaux est considérée comme la plus grave, il s'agit d'une pollution due au rejet des eaux d'égouts ou des eaux riches en déchets provenant de l'industrie. Ces matières organiques sont décomposées par les bactéries présentes dans l'eau et qui pour cela consomment beaucoup d'oxygène. Cela peut entraîner la mort de nombreux animaux par asphyxie. De plus, les eaux d'égouts sont riches en microbes susceptibles de provoquer des maladies (pollution microbienne).

Dans le but de déterminer la qualité microbiologique de l'eau d'une zone humide lotique (Oued Messida, Willaya d'El Tarf, Nord-Est de l'Algérie) nous avons réalisé cette étude.

Le site situé dans le Nord-Est Algérien et au niveau du Parc National d'El-Kala. Il fait partie du bassin versant du Lac Tonga. Cette région est dominée par un climat méditerranéen subhumide, à hiver chaud, caractérisé par deux saisons différentes, l'une sèche chaude et l'autre pluvieuse froide. Durant la période froide la température moyenne avoisine 6.49°C. Alors que, pendant la saison sèche la température moyenne est de 31.84°C. Les précipitations sont de 1300 mm/année

Le site d'étude est un canal d'eau douce qui relie le Lac Tonga avec la méditerranéen. Il a la spécificité de couler dans les deux sens selon le niveau d'eau du lac : en hiver l'oued coule du lac vers la mer et en été avec la diminution du niveau d'eau du lac l'oued coule de la Méditerranéen vers le lac.

Les analyses réalisées lors de notre étude qui s'étale du mois de juillet 2010 au mois de Mai 2011, ont portées sur le dénombrement des bactéries indicatrices d'une contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les germes Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR), et le germes non spécifiques d'une contamination fécale qui sont les germes totaux. Ces dénombrements de bactérie est suivis d'une recherche de toutes les espèces microbiennes susceptibles de vivre dans l'eau de ce canal.

Les tests d'identification des souches isolées sur les différents milieux de culture ont permis d'identifier 21 espèces appartenant à aux 05 familles bactériennes : les

Enterobactériaceae (13 espèces), les Micrococcaceae (03 espèces), les Pseudomonadaceae (03 espèces), les Vibrionaceae (01 espèce) et les Streptococcaceae (01 espèce).

De point de vue statistique, les résultats obtenus de l'ANOVA -1- ont montré que la saison n'a aucun effet sur la présence et sur les dénombrements microbiens.

Les résultats dénombrement microbien, ont montré que les eaux de ce canal renferment un taux élevé des bactéries surtout en période hivernale ce qui nous a amené à les classé comme impropre à la consommation humain ainsi que à l'irrigation.

# *Références bibliographiques*

**Abbaci H, 1999.** *Ecologie du lac Tonga : cartographie de la végétation, palynothèque et utilisation spatio-temporelle de l'espace lacustre par l'avifaune aquatique.* Thèse de Magister, université Badji Mokhtar, Annaba. P 5, 18, 19 et 24.

**Amor Abda W, 2010.** *Etude physico-chimique et bactériologique des eaux d'un lac artificiel : cas du barrage de Zit-Emba (Willaya de Skikda).* Mémoire de Magister, Université 08 mai 1945, Guelma.89p.

**Anonyme, 1996.** *La wilaya d'el Tarf vous invite à découvrir ses sites merveilleux : Direction de tourisme et de l'artisanat de la wilaya d'el-Tarf.* 10 p.

**Atoussi S, 2008.** *Ecologie des canrads plongeurs dans la Garaet Hadj Tahar (Ben Azouz, Skikda).* Mémoire de Magister, Université 08 mai 1945.

**Aucouturier Thomas, 2008.** *Indicateurs biologiques et qualité du milieu aquatique dulçaquicole français.* Thèse de Doctorat, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 108p.

**Bagnouls et Gaussen, 1957.** *Les climats biologiques et leurs classifications.* Ann. Géogr. Fr. N° 355 :193-220.

**Barnaud G, 1991.** « *Qu'est ce qu'une zones humides ?* ». *Compte rendu des avis d'experts, définition scientifique et juridique*, MNHN-ESNM, France. 10p.

**Benslama M, 1993.** *Couverture éco-pédologique et rôle de la matière organique dans la différenciation des sols en milieu humide sous couvert forestier.* Thèse de Magister INA El Harrach, 152p.

**B.N.E.F. 1985.** *Étude du parc national d'El Kala. Schéma directeur d'aménagement.* 86 p.

**B.N.E.F 1985.** Phase II. *Recensement et analyse des potentialités du milieu naturel et humain dans le Parc National d'El Kala.* 176 p.

**Borrego et Roméro 1982.** *Study of the microbiological pollution of a Malaga littoral area II. Relationship between fecal coliforms and fecal streptococci.* VI<sup>ème</sup> journée Etude. Pollutions. Cannes. p (561-569).

**Boumezbeur A, 2001.** *Contribution à la connaissance des Anatidés nicheurs en Algérie (cas du lac Tonga et lac des Oiseaux) Est algérienne.* Mémoire DEA USTL. Montpellier. 101p.

**Bovesse et Depelchin 1980.** *Cartographie de la pollution des cours d'eau de la province de Namur: analyses bactériologiques.* 25 p.

**Bugnicourt M. (1983).** *Dictionnaire de microbiologie générale, la vie racontée par les bacteries.* Edition Ellipses. 699p.

- Chabbi Y et Benyacoub S, 2000.** Diagnose écologique de l'avifaune de PNEK, composition – statut – répartition. *Synthèse, revue des sciences et technologie*. N° 7, Juin 200, 98p.
- Chahlaoui A.** (1996): *Etude Hydrobiologique de l'oued Boufekrane (Meknès), Impact sur l'environnement et la santé*. Thèse d'Etat, Fac. Sci. Meknès. 234 p.
- Charchar N, 2009.** *Contribution à l'étude de la pollution d'Oued Seybouse(Guelma) par les tensioactifs anionique(LAS)*. Mémoire de Magister, Université 08 mai 1945, Guelma.98p.
- Chessel D et Doledéc S, 1992.** ADE software. *Multivariate analysis and graphical display for environmental data (version 4)*. Université de Lyon.
- Chouder N, 2006.** *Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionelssains*. Thèse de magister en médecine vétérinaire. Université Mentouri, Constantine. 114p.
- Coulibaly K. (2005).** *Etude De La Qualité Physico-chimique Et Bactériologique De L'eau Des Puits De Certains Quartiers Du District De Bamako*. Thèse de Doctorat, Université de Bamako. 69p.
- Cowardin, L. M., V. Carter, F. C. Golet et E. T. LaRoe. 1979.** *Classification of Wetlands and Deepwater Habitats of the United States*. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, D.C. 79 p.
- De Belair G, 1990.** *Structure, fonctionnement et perspectives de gestion de quatre écosystèmes lacustre et marécageux (El-Kala Est Algérien)*. Thèse de doctorat. Univ Montpellier II
- Dégrément . 1978.** *Mémento technique de l'eau*. 8 eme édition Tec et Doc, Paris. 986p.
- Délaras C, 2008.** *Surveillance sanitaire Et Microbiologique des eaux : Règlementation-Prélèvements-Analyses*.TEC & DOC.269p.
- Duffour A-P. (1977).** *E.coli: The Faecal Coliform*. 4 8–58. In Hoadely A.W. and B.J.Dukta (eds). Durand, 1952
- Durand, J.-H. 1954. *Les sols du bassin versant du lac Tonga (Algérie)*. Direction du service de la colonisation et de l'Hydraulique. Gouvernement Général de l'Algérie. 254 p.
- Fernandez-Alvarez R.M.; Carballo-Cuervo S.; De la Rosa-Jorge M.C. et Rodriguez-De Lecea J, 1991:** The influence of agricultural run-off on bacterial populations in a river. *J. Appl. Bacteriol.* 70, 437-442.

**Gaëlle Triffault – Bouchet, 2004.** *Effets sur les écosystèmes aquatiques lentiques des émissions de polluants provenant de différents modes de valorisation/élimination de déchets - Application à des mâchefers d'UIOM et à des boues de dragage de canaux.* Thèse de Docteur de l'Université de Savoie. 307p.

**Galaf F. Ghannam S. (2003).** *Contribution à l'élaboration d'un manuel et d'un site web sur la pollution du milieu marin. Ing. Agronomie. Halieutique.* Institut agronome et vétérinaire Hassen II. Rabat.

**Halassi I, 2010.** *Degré de contamination du Lac des Oiseaux et contribution à l'étude du pouvoir auto-épurateur de l'eau : Isolement et étude de *Bdellovibrio bacteriovorus*.* Mémoire de Magister, Université 08 mai 1945, Guelma. 122p.

**Houhamdi M, 2002.** *Ecologie des peuplements aviens du lac des Oiseaux.* Thèse de Doctorat d'état. Université d'Annaba.

**Hunter C.; Perkins J.; Tranter J. et Gunn J. 1999:** *Agricultural land-use effects on the indicator bacterial quality of an upland stream in the Derbyshire peak district in the U.K.* *Water Res.* 33 (17): 3577-3586.

**Joffin J J-N et Leyrol G. (2001).** *Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques.* 3<sup>ème</sup> éditions. CRDP d'Aquitaine. 320p

**Kadid Y. (1989).** *Contribution à l'étude de la végétation aquatique du lac Tonga.* Mémoire d'Ingénieur d'état en agronomie .INA El Harrach. 80p.

**Karr J.R. & Chu E.W., 2000.** *Sustaining living rivers.* *Hydrobiologia*, 422/423, 1-14.

**Kéléké S, Hanus J, Koléla A L, Raber W, Tchibida-Pemo G, Sita S, Mabilia P et Diazenza J B, 2004.** *Evolution de la salubrité de l'eau des puits dans la ville de pointe noire : étude bactériologique et chimique, recherche des techniques d'assainissement.* Centre IRD de Pointe Noire. (15). 1-25.

**Kolkwitz R. & Marsson M., 1902.** *Grundsätze für die biologische Beurtheilung des Wassers nach seiner Flora und Fauna.* Mitt. Königl. Prüfungsanstalt Wasser Abwasser 1:3–72

**Kolkwitz R. & Marsson M., 1909.** *Okologie der tierischen Saprobien.* Int. Rev.Gesamten. *Hydrobiol.*, 2, 126–52

**Labres E. Azizi D. Hamza A. Taleb F, Taouchichet B. (2002).** *Manuel de travaux pratiques des eaux: microbiologie des eaux et des boissons et de produit de la mer.* Institut pasteur d'Algérie. 34p.

**Labres, 2005.** *Manuel des travaux pratique : analyse des eaux.* Institut pasteur d'Algérie. 60p.

**Labres et Mouffok F, 2008.** *Les cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel du traveaux pratiques des eaux.* Institut pasteur d'Algérie. 53p.

**Leminor L et Touhami N, 1982:** *Bactériologie médicale ; Flam.* Paris, 93p.

**Leminor L, 1984:** *Bactériologie médicale ; Flammarion, Médecine Sciences.,* Paris, 767p.

**Leyral, G. et Joffin J-N. 1998.** *Microbiologie Technique.* Centre régional de documentation pédagogique (CRPD) d'Aquitaine, 2emeédition. 249-297.

**Louis-Vincent Lemelin, 2008.** *Les milieux humides du parc national du Canada de la Mauricie: cartographie en vue d'une surveillance de l'intégrité écologique*

**Metallaoui S et Houhamdi M 2008.** Données préliminaires sur l'avifaune aquatique de la Garaet Hadj Tahar (Skikda nord est Algérien). *Bull ABC (15) 71-76.*

**Metallaoui, 2010.** *Ecologie de l'avifaune aquatique hivernante dans Garaet Hadj-Tahar (Numidie occidentale, Nord-Est de l'Algérie).* Thèse de Doctorat. Université d'Annaba.

**Meybeck M., 1995.** *Les lacs et leur bassin in Limnologie générale,* Masson, Paris, 6-59.

**Mc Crady M. (1915).** *The numerical interpretation of fermentation tube results.* J infect. Dis.212p.

**Ottoson J, Hansen A, Björlenius B, Norder H, Stenström TA, 2006.** Removal of viruses, parasitic protozoa and microbial indicators in conventional and membrane processes in a wastewater pilot plant. *Water Research;*40:1449-1457.

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

**Phelps E. (1908).** *A method for calculating the number of E coli from the results of dillution tests.* Edition pub hyg.145p.

**Raachi M, 2007.** *Étude préalable pour une gestion intégrée des ressources du bassin versant du lac Tonga au Nord-Est Algérien.* Mémoire présenté comme exigence partielle de la maitrise en géographie. UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL. 154p.

**Ramade F, 1994.** *Eléments d'écologie - Ecologie fondamentale*, 2ème édition, Ediscience internationale, Paris, 488-492.

**Rejsek F. 2002.** *Analyse des eaux ; aspects règlementaires Et techniques*. Sceran. Paris.360p.

**Rodier J. 1996.** *L'analyse de l'eau ; Eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux de Mer*. 8<sup>ième</sup> édition. Dunod.1365p.

**Rodier J. 2005.** *L'analyse De L'eau ; Eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux De Mer*. 8ème édition. Dunod. 1383 p.

**SAMRAOUI B. et DE BELAIR G. 1997.** The Guerbes-Sanhadja wetlands: Part I. *Overview. Ecologie 28: 233-250.*

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

**Sarri. 2002.** *Etude de la végétation du PNEK foret domaniale du djebel El Ghorra (Algérie)*. Mémoire de Magister, FSN, Sétif, 119p.

**Sayad L. (2008).** *Qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux*. Mémoire due Magister. Université d'Annaba. 118p.

**Seltzer P, 1946.** *Le climat de l'Algerie*. Imp. La typo litho et J. Carbonel, algiers.

**Singleton, 1999.** *Bactériologie*. 4 ème éditions. Dunod. 542p.

**Touati L. (2008).** *Distribution spatio-temporelle des genres Daphnia et Simocephalus des mares temporaire de la Numidie*. Mémoire de Magistère. univ de Guelma.70p.

**Warner, B. G. et C. D. A. Rubec, 1997.** *The Canadian Wetland Classification System*. Wetlands Research Centre, University of Waterloo, Waterloo, Ontario.